

II Всероссийская Школа-конференция «Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных» ВНИИГРЖ 26-27.06.2023 г.



Мастер-класс:

«Воспроизводство и сохранение генетических ресурсов ex situ в птицеводстве»



*Докладчик - Плешанов Н. В.
н.с. лаборатории генетики, разведения и
сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц
ВНИИГРЖ.*

Исследование выполнено в рамках ГЗ № 121052600357-8

Санкт-Петербург – Пушкин 2023

Сохранение генетических ресурсов *ex situ*

ex situ in vivo



ex situ in vitro



Сохранение *ex situ in vivo*

Сохранение и разведение различных пород и популяций с-х птиц в живом виде. (в генофондных хозяйствах, коллекционных фермах и коллекционариях.)

В отличие от направления *ex situ in vitro* позволяет сохранять и поддерживать максимально возможный спектр генетического разнообразия.

В состав биоресурсной коллекции ВНИИГРЖ входит 40 пород и популяций кур различного направления продуктивности:

- Ячного;
- Комбинированного (яично-мясного, мясо-яичного);
- Декоративного.

Мечение птицы

Для учета происхождения и идентификации особей используют специальные метки – **а)** крылометки (мечение суточных цыплят); **б)** ногометки или ножные кольца (мечение взрослой птицы).

Обычно крылометки имеет букву, обозначающую линию или породу и шесть цифр. Первые две цифры соответствуют номеру отца, следующие две — номеру матери и последние — номеру выведенного молодняка.

Является важным инструментом для формирования гнезд и составления родительских пар (избежание, снижение уровня инбридинга).



а.

б.

При разведении *ex situ in vivo* помимо естественного спаривания (в генофондных гнездах) также применяется искусственное осеменение.

Данное направление воспроизводства позволяет составлять комбинации родительских сочетаний с учетом происхождения. Что дает возможность в дальнейшем идентифицировать полученный молодняк и снижать уровень инбридинга.

Получение спермы

Техника взятия спермы методом абдоминального массажа (Burrows W. H., and Quinn J. P. 1937).



Фиксация петуха



Обработка области вокруг клоаки тампоном смоченным в растворе фурацилина (0,02%)

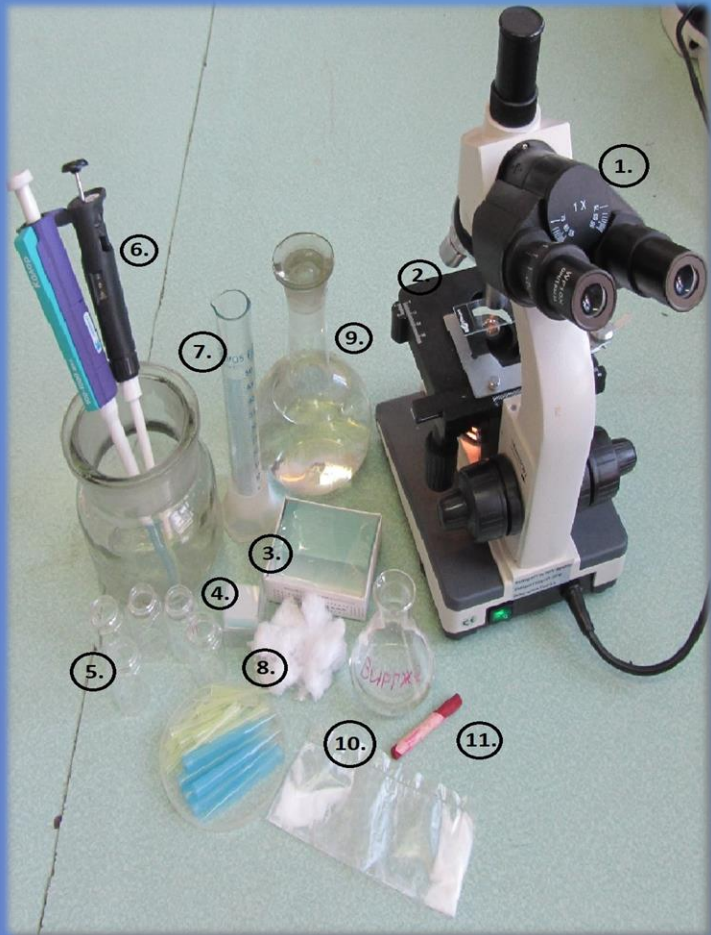


Абдоминальный массаж



Получение спермы во флакон

Базовое оборудование и материалы необходимые для оценки качественных показателей нативной спермы.



- 1) Микроскоп биологический
- 2) Столик с обогревом к микроскопу (42° C)
- 3) Стекла предметные
- 4) Стекла покровные
- 5) Флаконы пенициллиновые
- 6) Пипетки автоматические с наконечниками
- 7) Мензурки измерительные
- 8) Вата
- 9) Флакон с дистиллированной водой
- 10) Разбавитель
- 11) Мелок восковой или маркер.

Искусственное осеменение кур



Сперма с внесенным разбавителем (1:1)



Фиксация курицы



Выворачивание яйцевода



Осеменение

Дозу спермы для осеменения рекомендуется рассчитывать, исходя из необходимости введения в яйцевод не менее 70-80 млн. активных, поступательно движущихся спермиев. Приблизительно это составляет $0,025 \text{ см}^3$ разбавленной спермы (при концентрации спермиев в среднем $2,5 \text{ млрд/см}^3$ и их активности – 85%).

Сохранение *ex situ in vitro*

Криоконсервация мужских половых клеток является вторым, но не менее важным методом сохранения генофонда сельскохозяйственных птиц.

Данный метод позволяет долговременно хранить семя самцов и использовать его в дальнейшем для искусственного осеменения, восстановления пород и популяций, а также генетических исследований.

При составлении криобанка важно учитывать качественные показатели генетического материала, закладываемого на низкотемпературную консервацию. Поэтому процесс криоконсервации осуществляется под контролем качества замороженно-оттаяного семени в связи с наличием индивидуальной и межпородной изменчивости петухов по криоустойчивости их эякулятов.

В качестве единиц хранения могут быть использованы спермодозы, как от индивидуальных, так и от смешанных эякулятов.

Определение качественных показателей нативной спермы

- Измерение объема эякулята (градуированные пипетки) – не менее 0,1 мл
- Оценка общей подвижности сперматозоидов (световой микроскоп) – не менее 75%
- Измерение концентрации сперматозоидов в эякуляте (фотометр Acuread, IMV Technologies, камера Горяева и др.)- не менее 1 млрд/мл.



Использование системы автоматического анализа спермы (CASA):

- Определение количества спермиев с прогрессивным движением (прямолинейно-поступательным) не менее 60%;
- Определение количества паталогических форм сперматозоидов в эякуляте.



Криоконсервация спермы петухов методом прямого накапывания в жидкий азот “в виде мелких гранул” (авт. свидетельство № 1343587)

- Среда для разбавления и криоконсервации - ЛКС-1 (1:1).
- Криопротектор – N,N-диметилацетамид в конечной концентрации 6%.
- При помощи капиллярной пипетки семя накапывается в жидкий азот с расстояния 7,5 см от поверхности (- 41,4 °С). Контроль положения пипетки осуществлялся с помощью термопары (Temperature measuring instrument THERM 2420, ANLBORN). Скорость раскапывания составляет ~ 1,4 гранулы в секунду.
- Оттаивание спермы осуществляется при температуре 60 °С.



Сперма самцов с активностью сперматозоидов после размораживания ниже **20%**, как правило, не закладывается в криобанк.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!!!