

УДК 636.52/.58:57.089.36

**КРИБАНКИ БИОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПТИЦЫ:
СОЗДАНИЕ, НАЗНАЧЕНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ**

Н.А. Волкова, Н.А. Зиновьева, В.А. Багиров

Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, Московская область, Россия

Сохранение генетического разнообразия сельскохозяйственной птицы является одной из приоритетных задач современной биологической науки. На сегодняшний день создано достаточно большое количество пород, многие из которых занимают прочные позиции благодаря определенным продуктивным и адаптационным качествам. Однако в последние годы в мировой практике отмечается тенденция к снижению общего количества пород. Одним из путей решения данной проблемы является консервация генетических ресурсов, которая может быть осуществлена *in situ* (разведение и поддержание в чистоте пород и линий) или *ex situ* (криобанки). Последнее направление является перспективным, т. к. позволяет значительно снизить материальные затраты на содержание и разведение птицы и избежать необратимых потерь пород и генов. Кроме того криобанки биологического материала могут быть использованы для воссоздания породы, а также для поддержания малых популяций и сохранения генетического разнообразия (генов, свойств, пород) в селекционных программах. Однако в отличие от сельскохозяйственных животных для сельскохозяйственной птицы на сегодняшний день не разработано эффективных методов криоконсервации половых клеток, что связано с ее биологическими особенностями. Вместе с тем, особенности биологии развития птицы, в частности, протекание эмбриогенеза вне организма самки и короткий генерационный интервал, позволяет значительно расширить спектр биологического материала, пригодного для воссоздания и сохранения генофонда сельскохозяйственной птицы.

Генетическим материалом для криоконсервации могут служить как мужские (спермии), так и женские (яйцеклетки) половые клетки. В качестве источника генетического материала для криоконсервации могут рассматриваться: (1) спермии; (2) малодифференцированные половые клетки самцов – сперматогонии; (3) первичные половые клетки (ПЗК) эмбрионов.

В настоящее время основным генетическим материалом, используемым для создания криобанков пород и линий сельскохозяйственной птицы, являются зрелые половые клетки самцов – спермии. Данные клетки могут быть использованы для реконструкции пород через поглотительные скрещивания, однако в полученном потомстве определенный процент генов сохранится от материнской родоначальной популяции. Так, для восстановления 95 % генома породы необходимо получение пяти генераций потомков путем поглотительного скрещивания.

Ускорить процесс восстановления породы позволяет использование зародышевых (ПЗК) и малодифференцированных (сперматогонии) половых клеток, являющихся предшественниками зрелых половых клеток. Данный подход предполагает введение донорских клеток в органы-мишени (гонады эмбрионов, семенники самцов) стерильных особей-реципиентов с последующим их использованием в качестве «биореактора» по производству половых клеток донорской породы, которые могут быть использованы для получения особей восстанавливаемой породы.

Использование в качестве генетического материала ПЗК эмбрионов предполагает получение химерных особей по линии как мужских, так и женских половых клеток. На сегодняшний день доказана тотипотентность примордиальных зародышевых клеток (ПЗК): при введении донорских ПЗК в эмбрионы-реципиенты дальнейшая их дифференцировка в зрелые мужские или женские половые клетки происходит в зависимости от пола эмбриона-реципиента. При инъекции ПЗК, выделенных от одной породы, в эмбрионы-реципиенты другой породы получают химерных особей по зародышевой линии клеток. Дальнейшее скрещивание данных особей между собой позволяет получить птицу исходной донорской породы.

Сперматогонии относят к стволовым клеткам семенников самцов. В случае трансплантации данного типа клеток в семенники самцов-реципиентов наблюдается колонизация донорских клеток в семенных канальцах, которые в последующем в процессе дифференцировки образуют популяцию половых клеток с внесенной донорской генетической информацией. Семя, полученное от таких самцов реципиентов, используют для осеменения самок с целью получения особей исходной донорской породы.

Вместе с тем, эффективность используемых на сегодняшний день методов по выделению и криоконсервации зародышевых и половых клеток сельскохозяйственной птицы является относительно низкой. Кроме того, учитывая то, что все работы в данном направлении ведутся, преимущественно, на курах и перепелах, для большинства видов сельскохозяйственной птицы данные методические подходы практически не отработаны.

В этой связи нами был проведен ряд экспериментов по отработке и оптимизации отдельных этапов технологической цепочки по выделению и криоконсервации зародышевых и малодифференцированных половых клеток разных видов сельскохозяйственной птицы, в частности, кур, перепелов, уток, гусей, индеек и цесарок. Установлено, что оптимальным возрастным периодом для получения культуры эмбриональных клеток, максимально обогащенной ПЗК, является возраст эмбрионов от 5 до 6 дней для кур, до 5 дней – для перепелов, от 6 до 7 дней – для цесарок, гусей и уток. Разделение клеток разных типов с учетом их различной способности к адгезии позволило получить культуру ПЗК, максимально очищенную от других типов клеток. Высокая жизнеспособность зародышевых клеток при их криоконсервации отмечалась при использовании криозащитной среды, включающей 90 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота и 10 % криопротектора ДМСО.

Гистологические исследования возрастных особенностей сперматогенеза у самцов разных видов сельскохозяйственной птицы показали, что оптимальным возрастом для получения культуры сперматогоний служит период от 1 до 3 недель для перепелов, от 1 до 8 недель – для цесарей и от 1 недели до 3 месяцев – для селезней, индюков и гусак. В данный возрастной период сперматогенные клетки в семенных канальцах семенников представлены, преимущественно, клетками Сертоли и сперматогониями. Высокая эффективность дезагрегации ткани семенников самцов сельскохозяйственной птицы с целью выделения сперматогенных клеток, в том числе сперматогоний, была установлена при последовательной механической и ферментативной обработке с использованием 0,25 % трипсина и 0,1 % раствора коллагеназы. Разделение клеток разных типов с учетом их различной способности к адгезии позволило получить культуру сперматогоний, максимально очищенную от других типов клеток (до 85 %). Было установлено, что оптимальной криозащитной средой для сперматогенных клеток сельскохозяйственной птицы является среда, включающая 70 % фетальной сыворотки крупного рогатого скота, 20 % среды ДМЕМ и 10 % криопротектора ДМСО.

Возможность криоконсервации зародышевых и половых клеток сельскохозяйственной птицы в условиях криобанков открывают широкие возможности для использования данных типов клеток в программах по сохранению биоресурсных коллекций пород сельскохозяйственной птицы.

Исследования выполнены при финансовой поддержке РНФ, проект № 16–16–04104.