

ОСОБЛИВОСТІ ПРЕІМПЛАНТАЦІЙНОГО ЕМБРІОГЕНЕЗУ ПЕСЦІВ

Дослідження спрямовані на вивчення особливостей раннього ембріогенезу песців. Вперше метод хірургічного вивільнення ембріонів використано для прижиттєвого одержання передімплантаційних зародків цих хутрових звірів. Встановлено, що на 11-й день після коїтусу ембріони песців перебувають у положенні третього мітотичного дроблення, стадії 6—8-ми бластомерної морули. Описано морфологію раних ембріонів песців. На забійному матеріалі досліджено динаміку змін, що відбуваються у репродуктивних шляхах самиць песців протягом періоду статевого полювання і раннього ембріогенезу.

Незважаючи на те, що відтворювальні шляхи самиць забезпечують відповідне фізіологічне оточуюче середовище для розгортання генетичної програми зиготи й зазнають низки запрограмованих змін, ембріону не завжди вдається досягти відповідних пропорцій і перетворитися на повноцінний плід. З'ясування причин припинення ембріогенезу ссавців *in vivo* та подолання блоку дроблення ембріонів *in vitro* дало б змогу зберегти цінний ембріональний матеріал та підвищити потенціал плідності самиць, привнести нові відомості про вивчення закономірностей та видових особливостей раннього ембріогенезу ссавців.

До вивчення фізіологічних особливостей розмноження та патологоанатомічних досліджень репродуктивних органів лисиць та песців останнім часом додаються дослідження з вивчення впливу летальних генів на плодючість і ембріональну смертність лисиць, розробка маркерів для визначення груп крові норок та песців, штучного запліднення песців свіжоодержаним та розмороженим сім'ям, детекторів тички лисиць та песців, які базуються на вимірі електричного струму піхви протягом естрального циклу.

Огляд літератури з питань репродуктивної біотехнології хутрових тварин кліткового утримання не дає змоги скласти повну уяву про видові особливості раннього ембріонального роз-

© А.В. Мадіч, 2000

витку пещів. Так, причини їх високої ембріональної смертності на початкових етапах преімплантаційного розвитку залишаються до кінця нез'ясовані, а дані про розробку методу прижиттєвого одержання ранніх ембріонів і оцінки їх морфологічної якості відсутні.

Для заповнення інформативного пробілу були проведені дослідження по розробці методу одержання ембріонів від живих пещів-донорів на початкових етапах ембріонального розвитку та вивченню їх морфологічних видових особливостей.

Матеріали і методи. Дослідження проводили на поголів'ї самиць і самок вуалевої (Veil) породи пещів звірогосподарства "Бартатівський" Львівської області. Очікуваний у пещів наприкінці січня — в лютому гін відбувся дещо пізніше, що свідчило про недостатню підготовку тварин до періоду розмноження. Про настання гону судили по змінах статевої петлі самиць [1], надійним показником результативного покриття самиць вважали знаходження звірів "у замку".

Враховуючи короткочасність основного періоду гону пещів (3—5 днів), спонтанність овуляції, пари самиця — самець формували вранці, увечері і вранці наступного дня. Самиць покривали перевіреними по минулорічному гону й одержаному згодом приплоду самцями з нормальною статевою активністю при навантаженні не більше двох паруваль на день.

Щоб забезпечити одержання по можливості більшої кількості ембріонів, терміни вимивання статевих органів самиць призначали на 7—11-й день (день першого покриття приймали за 0). Для розробки методу вимивання ембріонів з живих пещів-донорів його попередньо відпрацьовували на забійному матеріалі. Після препаратії репродуктивних органів знімали їх виміри, яєчники аналізували на наявність жовтих тіл, підраховували кількість фолікулів. Яйцепроводи та матку промивали поживним середовищем і переглядали змиви під мікроскопом.

Якщо донора залишали живим, то використовували хірургічний метод вимивання ембріонів способом лапаротомії [2]. Самицю фіксували на спеціальному столику, на операційному полі вистригали хутро, шкіру змащували 5%-м розчином йоду, обособлювали стерильними серветками. Загальну анестезію самиць проводили внутрим'язево, комбінованим наркозом, вико-

ристовуючи каліпсол (1,0 мл) і рометар (1,0 мл). Дози анестетиків відпрацьовували на тваринах, що призначалися на забій у період дозрівання хутра.

Органи живих донорів промивали на 7-й, 8-й, 11-й дні після покриття самцем. Розтин робили між другою і третьою парами сосків, по білій лінії живота, розміром 2 — 3 см. Обачливими рухами відсували у бік кишківник і підтягували яечник та яйцепровід. Обстежували яечник на наявність жовтих тіл. Фосфатно-сольовий буфер Дюльбеко (ФСБ) з 4%-м бичим сироватковим альбуміном (БСА) та гентаміцином використовували як вимивне середовище.

У ліжку яйцепроводу або ділянку, що біля неї, вводили тонку вхідну голку, поєднану із шприцем, та накладали затиск таким чином, щоб кінець голки не менше 1 см вільно розміщався у трубі яйцепроводу. Коротку голку більшого діаметра вводили у зоні істмусу в матковий ріг і також накладали затиск, повністю фіксуючи всю верхівку рогу. Вимивне середовище, зібране у стерильний пеніциліновий флакон, самопливом витікало через вихідну голку. Труднощі, пов'язані з проходженням рідини у порожнині звивистих каналців яйцепроводів, усували обережним погладжуванням останніх пальцями або тонким пінцетом з ущільнюючими муфтами на кінцях. Залишки вимивної рідини відсмоктували шприцем.

Для промивання матки використовували аналогічну процедуру. Голку з ампульно-істмусової частини матки не виймали, ще одну коротку з більшим діаметром голку встромляли у матку в районі біфуркації, накладали затиск та промивали орган, поглажуючи ріг матки для усунення можливого розриву слизової оболонки й поступового спливання рідини. Таким способом досягали вільного витікання вимивного середовища з репродуктивних органів самиць. На вимивання кожного яйцепроводу використовували 2 мл рідини, на кожний матковий ріг — 10 мл. Зібрані змиви переносили у чашки Петрі для оцінки морфологічної якості ембріонів.

Результати та обговорення. Філогенетичною особливістю статевих органів самиць псесців виявилася наявність темних пігментних зон 2—4 мм ширини в ендометрії маткових рогів. У кожному матковому розі трьох забитих самиць нараховувалось по 4—6 зон імплантації, які, очевидно, свідчать про

ембріональну смертність ненародженого приплоду. Одержані дані якоюсь мірою можуть бути підтвердженням результатів досліджень інших авторів [3].

У репродуктивних органах забитих самоць, які перебували на різних стадіях еструсу, спостерігали динамічні зміни. В мета-еструсі визначали слабкий ріст примордіальних фолікулів ($d=$ до 1мм), яйцепроводи були тонкі, маткові роги видовжені.

У проеструсі незначний ріст фолікулів супроводжувався видимою проліферацією стінок яйцепроводів і посиленням у них кровоплину.

Інтенсивні проліферативні процеси у матковому міометрії, гіпертрофія стінки і збільшення загальної маси яйцепроводів, збагачений кровоплином ендометрій та наявність крупних фолікулів ($d=3-4$ мм) у яєчниках свідчили про функціональну готовність репродуктивних органів самоць до овуляції.

Поживне середовище з репродуктивних органів живих самоць-донорів, що були промиті на 7—8-й день після покриття, не містило ні зигот, ані ембріонів будь-якої стадії розвитку. У змивах з яйцепроводів песців-донорів на 11-й день після покриття було знайдено 8 ембріонів передкомпактної стадії розвитку (табл. 1).

1. Результати прижиттєвого вимивання ембріонів у песців-донорів

Номер самоці	День вимивання	Результати вимивання
732	7-й	Ембріонів не виявлено
736	8-й	Ембріонів не виявлено
738	8-й	Аспіровано 8 фолікулів, знайдено 6 ОКК
746	11-й	6-бластомерна та 8-бластомерна Мо
700	11-й	4-бластомерна Мо 4-бластомерна Мо 6-бластомерна Мо 8-бластомерна Мо 8-бластомерна Мо 8-бластомерна Мо

Примітка. Мо — морула; ОКК— ооциткумулюсний комплекс

Після промивання в чистому вимивному середовищі ембріони переносили в культуральне середовище DMEM і оцінювали за морфологією. Усі ембріони були доброї морфологічної якості, з прозорою блискучою оболонкою та чітко визначеними бластомерами. Цитоплазма бластомерів зерниста, темна через присутність збільшеної кількості ліпідного матеріалу, що характерно для хутрових звірів [4].

Усі передкомпактні морули відносилися до ембріонів із завершеним або незавершеним третім мітотичним циклом дроблення. Враховуючи те, що на 7-й день після покриття ооцити були готові до овуляції, а на 11-й день — це вже 8-бластомерні ембріони, то, очевидно, внутрішній годинник біологічного розвитку у песців становить близько 24 годин, враховуючи час на овуляцію і запліднення. У зв'язку з тим, що овуляція у песців спонтанна і розтягнута в часі на весь період статевого полювання, ймовірність вимити ембріони гомогенної генерації лишається невеликою. Отже, з метою синхронізації статевого циклу та одночасної овуляції декількох ооцитів у песців доцільно використовувати гонадотропіни, а для одержання компактних морул — проводити вимивання самиць пізніше — на 13—15-й день.

Розроблена і запропонована нами схема наочно відображає динаміку раннього ембріонального розвитку песців, що відбувається у часі (табл. 2).

2. Взаємозв'язок між ембріональною стадією розвитку і біологічним віком ембріона у песців

		Mo1		Mo2		B11		B12									
		зигота		26л.		46л.		86л.		166л.		326л.					
Дні місяця		ооцит															
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13				
О в у л я ц і я								1-й		2-й		3-й		4-й		...	
1 покриття																	
2 покриття																запліднення	

Примітка. Mo1 — рання морула; Mo2 — компактна морула; B11 — рання бластоциста; B12 — пізня експандована бластоциста; 26л. — двобластомерний ембріон

У більшості ссавців однією з критичних стадій доімплантаційного ембріогенезу є стадія 4-бластомерної морули. Вважається, що це час, коли "вмикається" геном плоду. Таким чином, вимивання ембріонів у пізніші терміни не тільки забезпечить одержання життєздатного ембріонального матеріалу, а й дасть змогу позбутися копіткої процедури промивання яйцепроводів у тих випадках, коли одержання ембріонів передкомпактних стадій не обов'язкове. Відомо, що окремі яйцеклітини у песців можуть овулювати з яєчників протягом усього періоду статевого полювання. Вважається, що сперматозоїди песців зберігаються у репродуктивних шляхах самиць близько двох діб, а яйцеклітини можуть бути запліднені тільки через день після овуляції [5]. Враховуючи одержані експериментальні дані, можна припустити, що твердження про виживаність сперміїв песців у статевих шляхах самиць [1] потребує корекції. Можливо, життєздатність сперматозоїдів песців після покриття підтримується в менш активній формі, а складні гуморальні процеси, які супроводжують овуляцію яйцеклітини активізують чоловічі гамети настільки, що спермії здатні до запліднення після семи-восьмидобового перебування у статевих шляхах самиці. Однак ці припущення потребують додаткових досліджень.

Наступний етап роботи полягатиме у спробі здійснити хірургічну трансплантацію ембріонів песців донорів породи Veil самицям-реципієнтам породи Silver і навпаки, а також у відпрацюванні методу *in vitro* культивування раних ембріонів песців до трансферабельних стадій.

Подані результати експериментальних досліджень є прикладом того, коли метод вимивання ембріонів став засобом вивчення особливостей ембріогенезу, приладдям часної генетики видів.

1. Семенов С.С. Особенности размножения лисиц и песцов // Кролиководство и звероводство. — 1992. — № 5. — С. 27—28.

2. Козикова Л.В. Хирургическое извлечение эмбрионов у кроликов // Бюл. ВНИИРГЖ. — 1988. — Вып. 102. — С. 31—35.

64бл. 128бл.....

14	15	16	17	18

цикли мітотичного
дроблення

3. Железова А.И. Влияние гена S на плодовитость и эмбриональную смертность лисиц // Кролиководство и звероводство. — 1993. — № 3. — С. 5—6.

4. Wen X.H., Feng H.L., Sun Q.Y. In vitro maturation of follicular oocytes of the silver fox. // Theriogenology. — 1994. — 41, № 2. — P. 333.

5. Еремина Л.В. К вопросу об особенностях половой системы самцов // Кролиководство и звероводство. — 1993. — № 6. — С. 19.

Інститут землеробства і біології тварин УААН

УДК 636. 52 і. 58. 082. 4

В.В. Мовчан

ПІДВИЩЕННЯ ВІДТВОРНИХ ЯКОСТЕЙ БАТЬКІВСЬКИХ ФОРМ БРОЙЛЕРНИХ КРОСІВ ШЛЯХОМ ВИКОРИСТАННЯ СТАБІЛІЗУЮЧОГО ВІДБОРУ

Встановлено, що відбір яєць, який відноситься до модельних класів за масою та індексом форми, значно підвищує інкубаційні якості — відбір курчат збільшується на 3,3 %, що дає значний на-родногосподарський ефект.

Підвищення ефективності селекції в м'ясному птахівництві пов'язано з використанням нових методологічних підходів, з розробкою об'єктивних методів оцінки та добором високоцінних генотипів. У цьому аспекті актуальним є відпрацювання прийомів вирощування батьківських форм та ремонтного молодняку на основі використання принципів стабілізуючого добору з метою створення критеріїв для калібрування інкубаційних яєць. Добір інкубаційного матеріалу, тобто зародків живої істоти, якими, власне, і є яйця птиці, за ознаками фенотипу є виключною прерогативою такої галузі сільського господарства, як птахівництво.

Встановлено, що вирощування курчат м'ясних кросів у змішаних групах, неконсолідованих за ознакою живої маси, економічно не ефективно внаслідок включення механізмів ієрархічних взаємовідносин, що неминучі в дискретній спільності. Психологічний дискомфорт та стресовість контактів,

© В.В. Мовчан, 2000

Розведення і генетика тварин. 2000. Вип. 33