



МОРФОЛОГИЯ И ОНТОГЕНЕЗ ЖИВОТНЫХ

DOI: 10.22363/2312-797X-2017-12-3-237-242

ВЛИЯНИЕ ТРАНСГЕНЕЗА НА ИНКУБАЦИОННЫЕ КАЧЕСТВА ЯИЦ КУР

А.Н. Ветох^{1,2}, А.А. Никишов², Н.А. Волкова¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт животноводства им. Л.К. Эрнста
п. Дубровицы, Московская обл., Россия, 142132

²Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 6, Москва, Россия, 117198

Целью данной работы было изучение влияния интеграции и экспрессии рекомбинантной ДНК на морфометрические характеристики и инкубационные качества яиц трансгенных кур, полученных с использованием лентивирусного вектора, обеспечивающих конститутивную экспрессию рекомбинантного продукта в клетках белковой части яйцевода. Трансгенные куры были созданы на основе кросса Хайсекс Уайт. Для более точных данных в исследовании отбирались яйца, срок хранения которых не превышал двух дней с момента яйцекладки. Для оценки морфометрических показателей были изучены: индекс формы яйца, общая масса яйца и массы его составных частей — желтка и плотного белка, толщина скорлупы, большой и малый диаметр плотного белка, диаметр желтка, а также высота белка и желтка. Для оценки качества белка и желтка были использованы расчетные формулы для получения данных по единицам Хау, индексу белка и индексу желтка. Установлено достоверное увеличение диаметра и массы желтка яиц трансгенных кур по сравнению с контролем на 13,6 и 28,9% соответственно, что может быть связано с изменением состава яиц, обусловленного экспрессией дополнительного (рекомбинантного) белка в яйцо. Был изучен показатель оплодотворяемости яиц трансгенных кур в сравнении с контролем. Наблюдалось снижение оплодотворяемости яиц, полученных от трансгенных кур, на 12% по сравнению с контролем, что может быть связано с влиянием интегрированных генов на развитие эмбрионов. Также отмечались различия в гибели эмбрионов в период инкубации, у трансгенных кур она происходила на более ранних, критических для развития эмбриона, стадиях.

Ключевые слова: трансгенная птица, инкубация, морфология яйца, желток, белок

Яйцо птицы представляет собой высокодифференцированную яйцеклетку, окруженную желтком и белком, которые выполняют определенные функции, направленные на поддержание жизненных процессов эмбриона. Яйцеклетка защищена оболочками и скорлупой. Наиболее важной частью яйца является желток, обладающий большим запасом биологической энергии за счет высокого содержания липидов (32—36%). Он обеспечивает питание бластодермы, из которой развивается птичий эмбрион. Морфометрические (размер, масса) и качественные (химический состав) показатели яйца зависят от генетических особенностей птицы (вида, породы, линии, кросса), возраста, условий содержания и кормления [2; 3].

Генетическая модификация сельскохозяйственной птицы, направленная на получение дополнительных рекомбинантных продуктов с белком яйца, также может оказывать влияние на качество яиц, снижая результативность получения потомства от трансгенных особей. Данная проблема является недостаточно изученной.

Цель исследований — изучить влияние интеграции рекомбинантной ДНК на инкубационные качества яиц трансгенных кур с конститутивной экспрессией рекомбинантного белка в клетках яйцевода.

Материал и методы исследований. Материалом для исследований служили яйца, полученные от трансгенных и нетрансгенных кур кросса Хайсекс Уайт. Трансгенные куры были получены с использованием лентивирусного вектора, обеспечивающего конститутивную экспрессию рекомбинантного белка.

Отбор яиц от кур опытных и контрольной групп проводили с учетом общепринятых требований к инкубационным яйцам [1]. Срок хранения отобранных яиц составлял не более 2 дней с момента снесения.

Были оценены инкубационные качества яиц трансгенных кур в сравнении с контролем.

Массу яйца и его составных частей определяли на весах Ohaus PA413C с точностью 0,001 г, большой и малый диаметры, а также индекс формы яйца — с помощью индексомера ИМ-1.

После вскрытия яйца определяли качественные показатели, такие как:

— толщина скорлупы с использованием микрометра часового типа;

— высота белка и желтка — с помощью микрометра типа «паук» и нивелирного столика;

— диаметр белка и желтка — штангенциркулем, с точностью измерения 0,1 мм.

С использованием формул [4] определяли:

1) качество белка:

а) в единицах Хау (по формуле Хау [Hough]):

$$\text{ед. Хау} = 100 \log (H - 1,7 W^{0.37} + 7.57),$$

где H — высота плотного белка, мм; W — масса яйца, г;

б) расчетом показателя «индекс белка» по формуле:

$$I_b = \frac{H}{D},$$

где H — высота плотного белка, мм; D — диаметр плотного белка, мм;

2) качество желтка — расчетом показателя «индекс желтка» по формуле:

$$I_j = \frac{h}{d},$$

где h — высота плотного желтка, мм; d — диаметр плотного желтка, мм.

Инкубацию яиц проводили в инкубаторе Brinsea OVA-Easy 190 Advance EX Series II (Great Britain).

Все материалы были обработаны методами вариационной статистики в MS Excel.

Результаты исследований. Результаты оценки метрических и качественных показателей яиц, полученных от трансгенных кур и их нетрансгенных аналогов, представлены в табл. 1.

Таблица 1

Морфометрические и качественные показатели яиц, полученных от трансгенных кур и их нетрансгенных аналогов

Показатели	Группа		Нормативы по ОСТ
	контроль	опыт	
Исследовано яиц, шт.	52	56	—
Масса яйца, г	61,37 ± 0,83	70,69 ± 0,87*	50—75
Индекс формы яйца, %	79,82 ± 0,66	75,18 ± 0,29*	70—80
Толщина скорлупы, мм	0,43 ± 0,01	0,36 ± 0,01*	не менее 0,33
Единицы Хау	96,29 ± 1,68	87,42 ± 1,24	—
Индекс белка	0,13 ± 0,005	0,10 ± 0,024	—
Индекс желтка	0,52 ± 0,007	0,44 ± 0,033	—

*Достоверная разность по отношению к контрольной группе.

Морфометрические показатели и инкубационные качества куриных яиц в обеих экспериментальных группах соответствовали нормативным требованиям, предъявляемым к инкубационным яйцам. Однако были установлены некоторые различия между экспериментальными группами по массе яйца, индексу формы и толщине скорлупы. Яйца, полученные от трансгенных кур, имели достоверно большую массу по сравнению с контролем на 15,2%. При этом по индексу формы и толщине скорлупы яиц трансгенные особи, наоборот, уступали своим нетрансгенным аналогам на 5,8% и 16,3% соответственно, что, возможно, связано с физиологическими изменениями в репродуктивной системе кур под влиянием трансгенеза.

Между экспериментальными группами также были выявлены различия по показателям качества белка и желтка яиц. Яйца, полученные от кур контрольной группы, имели больший по сравнению с опытной группой индекс желтка, индекс белка и показатель единицы Хау: различия между экспериментальными группами по данным показателям составили 9%, 23% и 2% соответственно. Однако данные различия были недостоверны.

Достоверные различия между контрольной и опытной группами были установлены по отдельным показателям составных частей яйца — большого и малого диаметра белка, диаметра желтка и массы желтка (табл. 2).

Таблица 2

Отдельные показатели составных частей куриных яиц

Группа	Малый диаметр плотного белка	Большой диаметр плотного белка	Диаметр желтка	Масса белка	Масса желтка
Опыт	70,57 ± 0,67	97,40 ± 0,73	42,44 ± 0,29	33,05 ± 0,62	17,88 ± 0,23
Контроль	62,82 ± 0,80	80,55 ± 1,14	37,34 ± 0,32	33,55 ± 0,96	13,77 ± 0,20*

*Достоверная разность по отношению к контрольной группе.

Яйца, полученные от трансгенных кур, имели достоверно больший диаметр плотного белка по сравнению с контролем ($p \geq 0,99$). Разница по данному показателю составила 12,3—20,9%.

Куры опытной группы также достоверно превосходили своих контрольных аналогов по диаметру и массе желтка яиц соответственно на 13,6% и 29,8% ($p \geq 0,99$).

Результаты работы инкубатория оценивают отношением количества здорового вылупившегося суточного молодняка в процентах к общему числу проинкубированных яиц (вывод) и числу оплодотворенных яиц (выводимость). Инкубация яиц проходила в течение 21 суток в дифференцированном режиме, при температурах от 37,8 до 37,2 °С. По окончании инкубации оставшиеся невыведенные яйца овоскопировали и вскрывали с целью оценки развития эмбрионов (рис. 1).

Результаты инкубации представлены в табл. 3.

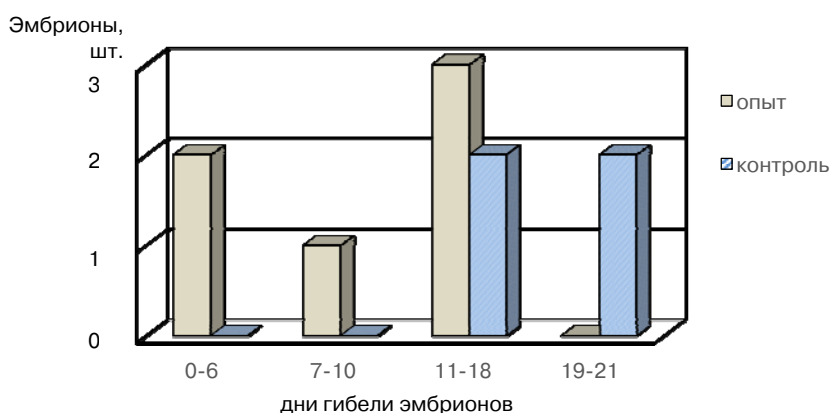


Рис. 1. Оценка развития и гибели эмбрионов

Таблица 3

Результаты инкубации куриных яиц

Показатель	Группа	
	опыт	контроль
Заложено на инкубацию, шт.	50	50
Неоплодотворенных яиц, шт. (%)	8 (16)	2 (4)
Оплодотворенных яиц, шт. (%)	42 (84)	48 (96)
Вывод цыплят, шт. (%)	36 (72)	44 (88)
Выводимость цыплят, %	85,7	91,6

Оплодотворяемость яиц в опытной группе была ниже по сравнению с контролем на 12%, выводимость цыплят — на 5,9%, что может быть связано с влиянием на развитие эмбрионов интеграции рекомбинантных генов в геном кур. В то же время можно отметить, что вылупившиеся цыплята в обеих группах по своим фенотипическим показателям ничем не отличались между собой.

Как видно из рис. 1, в яйцах, полученных от кур опытной группы, гибель эмбрионов наступала уже на ранних сроках инкубации. При вскрытии яиц визуально отмечали: кровавое кольцо, что соответствует гибели в 1—2 сутки инкубации, замершие эмбрионы, остановившиеся в развитии на 6 и 9 сутки инкубации.

Однако эмбрионы позднего отхода и эмбрионы-задохлики, погибшие на стадиях 17—21 день, наблюдались в обеих группах, что может быть обусловлено большим количеством белка и желтка, которые не успевали полностью втянуться с желточным мешком в эмбрион.

Таким образом, морфометрический анализ и оценка инкубационных качеств яиц трансгенных кур в сравнении с их нетрансгенными аналогами выявили достоверные различия по отдельным показателям между группами. У трансгенных кур по сравнению с контролем установлено достоверное увеличение массы яйца на 15,2% при снижении индекса формы и толщины скорлупы на 5,8% и 16,3%, соответственно, а также диаметра и массы желтка на 13,6—28,9%, что может быть связано с изменением состава яиц, обусловленного экспрессией дополнительного (рекомбинантного) белка в яйце.

© А.Н. Ветох, А.А. Никишов, Н.А. Волкова, 2017

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- [1] ОСТ 10 321-2003 «Яйца куриные инкубационные. Технические условия» / Минсельхоз России, 2003.
- [2] Дядичкина Л.Ф. Качество яиц — залог успешной инкубации. Электронная статья на www.webpticerpom.ru.
- [3] Кочиш И.И., Петраш М.Г., Смирнов С.Б. Птицеводство. М.: Колос, 2004.
- [4] Куликов Л.В. Практикум по птицеводству. Изд. 2-е, доп. М.: Изд-во РУДН, 2002.

Сведения об авторах:

Ветох Анастасия Николаевна — младший научный сотрудник лаборатории клеточной инженерии Всероссийского научно-исследовательского института животноводства им. Л.К. Эрнста, учебный мастер департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института Российского университета дружбы народов; *e-mail*: vetokh_an@rudn.university, anastazuya@mail.ru.

Никишов Александр Алексеевич — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент департамента ветеринарной медицины аграрно-технологического института Российского университета дружбы народов; *e-mail*: nikishov_aa@rudn.university.

Волкова Наталья Александровна — доктор биологических наук, профессор РАН, заведующая лабораторией клеточной инженерии Всероссийского научно-исследовательского института животноводства им. Л.К. Эрнста; *e-mail*: natavolkova@inbox.ru.

DOI: 10.22363/2312-797X-2017-12-3-237-242

INFLUENCE OF TRANSGENESIS ON INCUBATION QUALITY OF CHICKEN EGGS

A.N. Vetokh^{1,2}, A.A. Nikishov², N.A. Volkova¹

¹L.K. Ernst Institute of animal husbandry
Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Region, 142132

²RUDN University (Peoples' Friendship University of Russia)
Miklukho-Maklaya st., 6, Moscow, Russia, 117198

Abstract. The aim of this work was to study effect of integration and expression of recombinant DNA on the morphometric characteristics and incubation qualities of transgenic chicken eggs. Hens were obtained using lentiviral vector, which ensures the constitutive expression of the recombinant product in the

cells of the oviduct protein part. Transgenic chickens have been created on the basis of Hisex White cross chickens. Eggs were selected in the study the shelf life of which did not exceed two days from the time of egg laying for more accurate data. The egg shape index, the total weight of the egg and the weight of its components — yolk and dense protein, the thickness of the shell, the large and small diameter of the dense protein, the diameter of the yolk, and the height of the protein and yolk were studied to assess the morphometric parameters of eggs. The calculation formulas for obtaining data by units of Hau, protein index and yolk index were used to assess the quality of protein and yolk. A veracious increase in the diameter and mass of yolk in egg from transgenic hens as compared to the control was established. It amounted to 13.6% and 28.9%, respectively. This may be due to a change in the composition of eggs, which is due to the expression of additional (recombinant) protein in the egg. The fertilization index of transgenic chickens eggs in comparison with the control was studied. Decrease in egg fertilization by 12% was observed in transgenic hens compared to control. This may be due to the influence of integrated genes on the development of embryos. Differences in the death of embryos during the incubation period were noted. In transgenic chickens, it occurred on earlier critical for the development of the embryo stages.

Key words: transgenic poultry, incubation, morphology of eggs, yolk and white

REFERENCES

- [1] OST 10 321-2003 «Yaytsa kurinyie inkubatsionnyie. Tehnicheskie usloviya». Minselhoz Rossii, 2003.
- [2] Dyadichkina L.F. Kachestvo yaits — zalog uspezhnoy inkubatsii. Elektronnaya statya na www.webpticeprom.ru.
- [3] Kochish I.I., Petrash M.G., Smirnov S.B. *Ptitsevodstvo*. M.: Kolos, 2004.
- [4] Kulikov L.V. *Praktikum po ptitsevodstvu (Izдание vtoroe, dopolnennoe)*. M., Izd-vo RUDN, 2002.