

Наследуемость признака «объем экстраэмбриональной жидкости» в линии кур СП 8 кросса СП-789

Долгорукова А.М., кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник

Зотов А.А., кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник, зав. отделом инкубации
ФГБНУ Федеральный научный центр «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства»
РАН (ФНЦ «ВНИТИП» РАН)

Аншаков Д.В., кандидат сельскохозяйственных наук, директор

Золотухина Е.А., младший научный сотрудник

Гусева О.И., младший научный сотрудник

Шаброва И.А., младший научный сотрудник

СГЦ «Загорское ЭПХ» - филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН

Аннотация: Производство вакцин для человека и сельскохозяйственных животных, основанное на использовании в качестве субстрата развивающихся куриных эмбрионов, на сегодняшний день остается наиболее эффективным и доступным методом. Для эффективного производства вакцин требуются большое количество вирусодержащей жидкости в расчете на яйцо и высокий титр вируса в ней, поэтому одной из задач отбора куриных эмбрионов для биологической промышленности является получение максимального количества экстраэмбриональной жидкости. Целью данного исследования являлось изучение наследуемости этого признака в линии кур СП 8 материнской родительской формы кросса СП-789 породы белый леггорн. Было обнаружено, что у потомков матерей, имеющих высокий объем выхода экстраэмбриональной жидкости, масса эмбрионов на 12-й день инкубации была выше на 4% по сравнению с эмбрионами, полученными от потомков матерей с низким выходом жидкости ($p \leq 0,05$). Коэффициент наследуемости для признака «выход экстраэмбриональной жидкости» составил 0,37; по признаку «масса эмбриона на 12-й день инкубации» - 0,30. Сделан вывод, что селекция кур на высокий выход экстраэмбриональной жидкости не приведет к снижению основных хозяйственно-полезных признаков - яйценоскости и массы яйца, а также может привести к более интенсивному эмбриональному развитию потомков.

Ключевые слова: куриные эмбрионы, экстраэмбриональная жидкость, наследуемость, инкубация.

Введение. Вакцинация - одно из наиболее успешных и рентабельных достижений в области общественного здравоохранения. Благодаря ей была устранена оспа, заболеваемость полиомиелитом снизилась на 99%, резко сократились такие заболевания, как корь, дифтерия, коклюш, столбняк и гепатит В [1].

Производство вакцин против гриппа, основанное на использовании в качестве субстрата развивающихся куриных эмбрионов, на сегодняшний день остается наиболее эффективным и доступным методом [2]. Большинство вакцин,

применяемых в птицеводстве, таких как вакцины против болезни Ньюкасла, инфекционной бурсальной болезни, инфекционного бронхита кур, пневмовирусной инфекции и т.д. также относятся к авинизированным (эмбриональным) вакцинам [3,4].

Яйца птиц постоянно подвергаются воздействию микроорганизмов. Они заражаются большим количеством потенциально патогенных агентов от кур-несушек во время снесения яиц, через воздух и подстилку, а также во время инкубации. Несмотря на это воздействие, большинство

эмбрионов остаются жизнеспособными до вывода благодаря высокоэффективной ранней врожденной иммунной системе яйца. У птиц существует 2 основных типа иммунной защиты: неспецифическая, которая действует на патогены нецелелевым образом (физические и химические барьеры и компоненты врожденного иммунитета, включая антибактериальные вещества и клеточные механизмы, гетерофилы и макрофаги); и специфическая, воздействующая на конкретные патогены (антитела и лимфоциты). Врожденный иммунный





ответ может напрямую контролировать репликацию или распространение патогенов путем индукции фагоцитоза или биосинтеза антибактериальных соединений. Однако врожденная защита, изначально присутствующая в яйце, постепенно ослабевает во время инкубации; поэтому для предотвращения проникновения и роста бактерий во время эмбрионального развития у эмбрионов формируются новые системы защиты [5]. Эти биологические особенности развивающихся птичьих эмбрионов используют для производства вакцин.

Во время эмбриогенеза развиваются также внеэмбриональные оболочки. Это мембрана желточного мешка (окружающая желток), амниотический мешок (содержащий амнион и амниотическую жидкость) и аллантаисный мешок (содержащий аллантаис и аллантаисную жидкость). Помимо поддержания жизненно важных функций эмбриона, таких как кровообращение, пищеварение и дыхание, эти внеэмбриональные структуры играют роль в становлении иммунной защиты эмбриона [6].

Для производства вакцин куриные эмбрионы 9-12-дневного возраста обычно заражаются вирусами в аллантаисную либо амниотическую полость. При заражении их различными вирусами развивается вирусная инфекция, при этом размножение вируса происходит в течение 3-4 дней, когда иммунитет еще не успевает сформироваться. Удобство использования куриных эмбрионов при изготовлении вакцин заключается в том, что вирус при размножении выделяется в аллантаисную и амниотическую жидкость, накапливаясь в них в огромных количествах (до нескольких миллиардов вирионов в 1 мл). В дальнейшем вирус осаждают в центрифуге,

а также подвергают дополнительной очистке [7,8].

Для эффективного производства вакцин требуются большое количество вирусосодержащей жидкости на яйцо и высокий титр вируса в ней [9], поэтому одной из задач отбора куриных эмбрионов для биологической промышленности является получение максимального количества экстраэмбриональной (аллантаисной и амниотической) жидкости. Согласно нашим предыдущим исследованиям, объем экстраэмбриональной жидкости (ЭЭЖ) имеет достоверную положительную корреляцию с массой яйца и диаметром сосудистого поля через 63-64 ч инкубации [10].

Увеличение выхода ЭЭЖ в расчете на одно яйцо позволит существенно сократить количество эмбрионов, используемых для получения вирусосодержащего материала, что, приведет к удешевлению вакцин и повышению их конкурентоспособности. В настоящее время в России не существует специализированных линий кур для производства яиц, целенаправленно использующихся биологической промышленностью, хотя работы в данном направлении уже проводятся [11]. Для осуществления данной задачи нами было проведено исследование наследуемости признака «объем ЭЭЖ» в линии кур СП 8 кросса СП-789.

Материал и методика исследований. Исследования были проведены в СГЦ «Загорское ЭПХ» - филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН, на курах породы белый леггорн линии СП 8 материнской родительской формы кросса СП-789. В период воспроизводства исходных линий были скомплектованы селекционные гнезда из потомков кур, оцененных по признаку «выход ЭЭЖ» на 12-й день

инкубации. Дополнительными признаками отбора кур были результаты оценки собственной продуктивности: время половой зрелости, яйценоскость за 35 недель жизни, масса яйца. Были сформированы 3 группы кур, матери которых имели различный выход ЭЭЖ. В группу матерей со средним объемом ЭЭЖ вошли особи, у которых этот показатель не превышал среднее арифметическое значение в целом по стаду на 0,5 пунктов стандартного отклонения ($M \pm 0,5\sigma$); в группы матерей с низким и высоким объемом ЭЭЖ вошли особи, у которых этот признак был меньше либо больше среднего значения по стаду на 0,5 пункта стандартного отклонения ($M - 0,5\sigma$ и $M + 0,5\sigma$) соответственно.

Яйца от экспериментальных групп кур 14-месячного возраста были заложены на инкубацию. На 12-е сутки инкубации яйца с живыми эмбрионами были вскрыты, измерен объем ЭЭЖ (аллантаисной и амниотической), эмбрионы обсушены с помощью фильтровальной бумаги и взвешены. Объем ЭЭЖ измерялся индивидуально, с помощью мерного цилиндра с ценой деления 0,2 мл.

Обработка полученных данных проводилась методами вариационной статистики с помощью программы Microsoft Excel, достоверность разности средних величин определялась по таблице Стьюдента. Коэффициент наследуемости был рассчитан по удвоенному коэффициенту корреляции.

Результаты исследований и их обсуждение. Наряду с установлением наследуемости основного селекционируемого признака - объема ЭЭЖ, немаловажной целью данного этапа исследований являлась оценка влияния этого признака на хозяйственно-



Таблица 1. Продуктивные качества дочерей (F₁) по группам матерей (F₀) по объему ЭЭЖ

Показатели дочерей (F ₁)	Группы матерей (F ₀) по объему ЭЭЖ		
	1 (низкий)	2 (средний)	3 (высокий)
Количество, гол.	55	74	67
Живая масса, кг	1,21±0,01	1,22±0,01	1,19±0,01
Яйценоскость за 35 нед. жизни, шт.	124,3±0,54	124,9±0,51	123,8±0,45
Масса яйца в 35 нед., г	59,8±1,04	60,3±0,16	60,8±0,25
Объем ЭЭЖ на 12-й день инкубации, мл	14,14±0,19	14,30±0,42	14,50±0,24
Масса эмбриона на 12-й день инкубации, г	4,81±0,05	4,91±0,06	5,00±0,07*

Различия с группой 1 достоверны при *p≤0,05.

полезные качества кур.

Как видно из данных табл. 1, продуктивные показатели дочерей, полученных от матерей с различным объемом ЭЭЖ, не имели достоверных отличий. Следовательно, отбор кур по этому признаку не приведет к снижению основных показателей продуктивности кур - яйценоскости и массы яиц.

Известно, что интенсивность эмбрионального развития оказывает влияние на многие показатели взрослых особей, так как именно в этот период происходит становление основных биохимических и физиологических механизмов, которые определяют дальнейший уровень продуктивности и жизнеспособности птицы [12]. Так, у мясных цыплят скорость рос-

та эмбрионов, интенсивность усвоения ими питательных веществ яйца положительно связана с постнатальной скоростью роста [13]. На предыдущем этапе исследования нами было установлено, что объем ЭЭЖ был достоверно выше (на 9,6%) в группе кур с интенсивным эмбриональным развитием по сравнению с группой с медленным развитием [10]. В настоящем исследовании было обнаружено, что у потомков матерей, имеющих высокий объем ЭЭЖ, масса эмбрионов на 12-й день инкубации была достоверно выше на 4% по сравнению с эмбрионами, полученными от потомков матерей с низким объемом ЭЭЖ (p≤0,05).

Однако по объему ЭЭЖ на 12-й день инкубации у дочерей между

группами матерей не было достоверной разности; поэтому для более детальной характеристики распределения данного признака у потомков внутри каждой группы матерей был проведен анализ по схеме «матери-дочери». В каждой группе матерей потомки были распределены на группы по признаку объема ЭЭЖ. Данные приведены в табл. 2.

Характер распределения потомков по объему ЭЭЖ был различным по группам матерей. Так, максимальный разброс значений данного показателя был у потомков матерей со средним объемом ЭЭЖ, что отразилось и на значении коэффициента вариации: он составил 16,5% в среднем по группе, с максимальным значением в группе потомков с низким объемом ЭЭЖ. В группе потомков матерей с низким объемом ЭЭЖ варибельность этого признака была наименьшей. Следовательно, можно предположить, что отбор особей по данному признаку в сторону увеличения будет возможен.

Нами были рассчитаны коэффициенты наследуемости признаков «объем ЭЭЖ» и «масса эмбриона на 12-е сутки инкубации». Коэффициент h² для признака «объем ЭЭЖ» составил 0,37; по признаку «масса эмбриона на 12-е сутки инкубации» - 0,30.

Заключение. Таким образом, на основании анализа продуктивных качеств потомков кур линии СП 8 с различным выходом ЭЭЖ для нужд биологической промышленности и наследуемости этого признака можно сделать вывод, что селекция кур на больший выход ЭЭЖ не приведет к снижению основных хозяйственно-полезных признаков - яйценоскости и массы яйца, а также может привести к более интенсивному эмбриональному развитию

Таблица 2. Выход ЭЭЖ и масса эмбрионов у потомков относительно матерей

Группы матерей (F ₀) по объему ЭЭЖ	Группы дочерей (F ₁) по объему ЭЭЖ	Объем ЭЭЖ, мл		Масса эмбрионов, г	
		M±m	CV, %	M±m	CV, %
1 (низкий)	низкий	12,71±0,22	4,25	4,80±0,12	6,36
	средний	14,12±0,08	1,66	4,85±0,06	3,80
	высокий	15,07±0,09	1,90	4,78±0,09	6,19
	В среднем	14,14±0,19	7,05	4,81±0,05	5,32
2 (средний)	низкий	11,41±0,62	16,32	4,84±0,12	7,30
	средний	14,49±0,14	2,68	4,83±0,10	6,12
	высокий	16,29±0,16	3,42	5,02±0,08	5,52
	В среднем	14,26±0,42	16,50	4,91±0,06	6,35
3 (высокий)	низкий	13,05±0,17	3,98	5,06±0,12	7,14
	средний	14,31±0,14	3,02	4,89±0,15	9,38
	высокий	15,84±0,32	6,76	5,04±0,12	8,17
	В среднем	14,48±0,24	9,45	5,00±0,07*	8,17
В среднем по всем группам		14,30±0,18	11,76	4,91±0,04	6,92

CV - коэффициент вариации. Различия с 1 группой матерей достоверны при *p≤0,05.



потомков, что позитивно отразится на их жизнеспособности.

Литература

1. The immunization programme that saved millions of lives // Bull. WHO. - 2014. - V. 92. - P. 314-315.
2. Soema P.C. Current and next generation influenza vaccines: Formulation and production strategies / P.C. Soema, R. Kompier, J.-P. Amorij, G.F.A. Kersten // Eur. J. Pharm. Biopharm. - 2015. - V. 94. - P. 251-263.
3. АО ППЗ «Свердловский» Эмбрионы как отдельное направление бизнеса для птицефабрик // Эффективное животноводство. - 2019. - №4. С. 41-43.
4. Ветеринарная вирусология / под ред. проф. Р.В. Белоусовой. - М.: КолосС, 2007. - 424 с.
5. Bornelöv S. Identification of chicken genes previously assumed to be evolutionarily lost / S. Bornelöv, E. Seroussi, S. Yosefi [et al.] // Genome Biol. - 2017. - V. 18, No 1. - P. 112-116.
6. Hincke M.T. Dynamics of structural barriers and innate immune components during incubation of the avian egg: Critical interplay between autonomous embryonic development and maternal anticipation / M.T. Hincke,

M. Da Silva, N. Guyot [et al.] // J. Innate Immun. - 2019. - V. 11, No 2. - P. 111-124.

7. Тимченко Л.Д. Экспериментальное обоснование выбора оптимальных сроков развития и путей повышения биологической активности тканей куриного эмбриона с целью использования при разработке биологически активных препаратов / Л.Д. Тимченко, И.В. Ржепаковский, А.П. Трунова [и др.] // Астраханский медицинский журнал (приложение): Мат. 6-й междунар. научно-практ. конф. «Достижения фундаментальных наук в решении актуальных проблем медицины» (г. Астрахань, 8-11 сентября 2008 г.). - 2008. - № 3. - С. 205-208.
8. Перетрухина А.Т., Блинова Е.И. Бактерийные и вирусные препараты. - М.: Академия Естествознания, 2010. - 241 с.
9. Brauer R. Influenza virus propagation in embryonated chicken eggs / R. Brauer, P. Chen // J. Vis. Exp. - 2015. - V. 97. - P. 52421.
10. Долгорукова А.М. Изменчивость признака «выход экстраэмбриональной жидкости в линии кур СП-8 кросса СП-789 / А.М. Долгорукова, Д.В. Аншаков, А.А. Зотов [и др.] // Птицево-

дство. - 2019. - №11-12. - С. 68-75.

11. Федорова Е.С. Эффективность селекции кур породы русская белая на повышение выхода вакцинного сырья / Е.С. Федорова, О.И. Станишевская, Ю.Л. Силукова // Генетика и разведение животных. - 2017. - №3. - С. 46-50.
12. Tzschentke B. Imprinting and critical periods in early development / B. Tzschentke, A. Plagemann // World's Poult. Sci. J. - 2006. - V. 62, No 4. - P. 626-637.
13. Журавлев И.В. Интенсивность развития органов эмбрионов и неонатальных цыплят в зависимости от морфологических признаков яиц мясных кур / И.В. Журавлев, А.М. Долгорукова, А.В. Саламатин, В.И. Фисинин // С.-х. биология. - 2006. - Т. 41, №6. - С. 43-48.

Для контакта с авторами:
Долгорукова Анна Михайловна
E-mail: anna.dolg@mail.ru
Зотов Александр Анатольевич
E-mail: inkub@vnitip.ru
Аншаков Дмитрий Вадимович
Золотухина Елена Александровна
Гусева Ольга Игоревна
Шаброва Ирина Алексеевна
E-mail: a89265594669@rambler.ru

The Heritability of the Volume of Extraembryonic Fluid in the Eggs of Preparental Line SP-8 of White Leghorn Cross SP-789

Dolgorukova A.M., Zotov A.A., Anshakov D.V., Zolotukhina E.A., Guseva O.I., Shabrova I.A.

Federal Scientific Center "All-Russian Research and Technological Institute of Poultry" of Russian Academy of Sciences

Summary: The production of vaccines for human and animals is still greatly based on the developing chicken embryos as a substrate. The effective vaccine production requires high volume of extraembryonic fluid (EEF) per egg with high virus titers; therefore, the selection of chicken embryos for higher EEF volume is an actual task for the biopharmaceutical industry. The study presented was aimed at the assessment of the heritability of this trait in preparental line SP-8 of maternal line of White Leghorn cross SP-789. It was found that daughters from mothers with high EEF volume featured significantly higher weight of embryo at day 12 of incubation (by 4.0%, $p < 0.05$) in compare to daughters from mothers with low EEF volume. The heritability coefficient (h^2) for EEF volume at day 12 of incubation was found to be 0.37 while h^2 for the weight of embryo at day 12 was 0.30. The conclusion was made that the targeted selection for higher EEF volume per embryo will not deteriorate the intensity of lay and egg weight in chicken and can enhance the embryonic growth rate in the progeny.

Key words: chicken embryos, extraembryonic fluid, heritability, incubation.