



# Генетика, селекція, біотехнологія

УДК 636.5.082.474:612

© 2015

*О.Б. Артеменко,*

*Н.В. Шоміна,*

*кандидати  
сільсько-  
господарських  
наук*

*Державна  
дослідна станція  
птахівництва НААН*

## **МОРФОЛОГІЧНА ЦІЛІСНІСТЬ КЛІТИН БЛАСТОДЕРМИ ЯК ПАРАМЕТР ОЦІНКИ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЕМБРІОНА**

**Мета.** Розробити спосіб оцінки життєздатності клітин зародкового диска перед закладанням яєць на інкубацію, встановити зв'язок між кількістю життєздатних клітин бластодерми та виводимістю яєць. **Методи.** Для оцінки життєздатності зародкового диска було застосовано методику визначення цілісності клітинних мембран. **Результати.** Установлено достовірне зниження кількості життєздатних клітин бластодерми з 95 до 60% за збільшення терміну зберігання яєць до 3-х тижнів, кореляція між кількістю життєздатних клітин бластодерми та виводимістю яєць —  $r=0,99$ . **Висновки.** Цю методику можна використати під час біологічного контролю якості яєць до інкубації.

**Ключові слова:** бластодермальні клітини, зародковий диск, життєздатність, цілісність мембран, клітинна суспензія, виводимість яєць.

**Вступ.** Оцінка якості яєць до інкубації дає змогу не тільки передбачити її результати, а й своєчасно отримати інформацію про зміни, що відбуваються в яйцях, та вжити певних заходів для поліпшення їх характеристик. Попередньо оцінюють якість інкубаційних яєць за їх зовнішнім виглядом, під час просвічування на овоскопі та розтину вибіркової проби. Слід зауважити, що кожна із зовнішніх характеристик яєць мало пов'язана з їх виводимістю. Тільки аналіз кількох ознак у комплексі дає змогу вірогідніше оцінити біологічну повноцінність яєць.

Зазвичай оцінка якості яєць після їх розтину обмежується вивченням характеристик шкаралупи, білка та жовтка. Проте нині є методики, завдяки яким можна оцінити і стан клітин ембріона. Хоча ці методики і мають свої недоліки, вони краще за інші дають змогу встановити якість яйця, оскільки оцінюють його головний компонент — зародковий диск.

Одразу після знесення яйця курячий ембріон — це багат шарова бластодерма, яка складається з 60 000–80 000 клітин. Під час зберігання яєць відбувається зменшення загальної кількості бластодермальних клітин, спричинене апоптозом і некрозом [3, 4, 9, 10]. Під час досліджень кількості апоптотичних клітин бластодерми курячих ембріонів було встановлено, що відразу після знесення яйця їх кількість становила 3,1%, а після 2-тижневого зберігання яєць за температури 12°C — збільшилася до 13,9%. Автори припустили, що смертність бластодермальних клітин під час зберігання надалі може впливати на життєздатність ембріона [6, 8, 12]. Отже, зміни у бластодермі протягом зберігання яєць можуть зумовлювати зниження виводу та якості молодняку. Вважаємо, що загальна кількість життєздатних клітин бластодерми може бути показником життєздатності ембріона. Наявність інформації про кількість живих клітин

зародкового диска перед закладанням яєць на інкубацію дасть змогу прогнозувати рівень виводу молодняку.

Існує кілька способів визначення життєздатних клітин зародкового диска: проведення імуно-гістологічного забарвлення бластодермальних клітин, проточна цитометрія, забарвлення ядер клітин спеціальними маркерами та ін. [5, 7, 11]. Ці методики складні у виконанні, потребують наявності спеціального обладнання та висококваліфікованих фахівців.

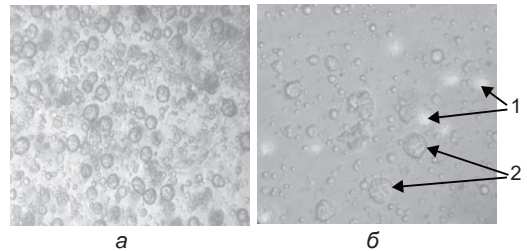
**Мета роботи** — розробити доступний та достовірний спосіб оцінки життєздатності клітин зародкового диска перед закладанням яєць на інкубацію, встановити зв'язок між кількістю життєздатних клітин бластодерми та виводимістю яєць.

**Матеріали та методи досліджень.** Дослідження проводили на яйцях, отриманих від курей породи червоний род-айленд у віці 44–46 тижнів. Зберігали яйця у холодильній камері за температури 11°C і відносної вологості 75–80%. За критерій оцінки життєздатності клітин бластодерми було обрано цілісність клітинних мембран.

Для визначення цілісності мембран бластодермальних клітин на 2-гу (контрольна група), 7-му, 14-ту, 21-шу добу після зберігання взяли по 10 яєць і виділили зародкові диски. Отриману суспензію клітин змішали у співвідношенні 1:1 з розчином етидіум броміду (1–10 мкМ) на фосфатно-сольовому буфері (ФСБ) та під мікроскопом МЛ-3 оцінили 200–300 клітин у кожному зразку (використовували збуджувальне світло з довжиною хвилі 365 нм, люмінесценцію спостерігали в області 500–700 нм). Клітини із забарвленими ядрами вважали пошкодженими, цілі (непошкоджені клітини) — життєздатними (рис. 1).

Для встановлення зв'язку між кількістю життєздатних клітин бластодерми та виводимістю яєць було проведено закладання їх на інкубацію на 2-гу (контрольна група), 7-му, 14-ту та 21-шу добу після зберігання. Усього проінкубовано близько 1100 шт. яєць. Інкубацію проводили згідно зі стандартними режимами [1]. Після завершення інкубації проводили розтин відходів інкубації та виявляли причини загибелі ембріонів [2].

**Результати досліджень.** Результати оцінки життєздатності бластодермальних клітин свідчать, що у разі збільшення терміну зберігання яєць відбувається достовірне зниження кількості життєздатних зародкових клітин. Так, оцінка, проведена через 2 доби після знесення

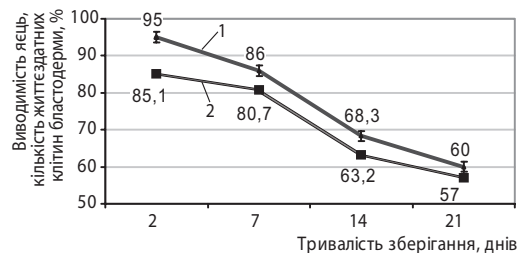


**Рис. 1. Бластодермальні клітини: а — до забарвлення; б — після забарвлення; 1 — пошкоджені; 2 — цілі, життєздатні**

яєць, свідчить, що кількість цілих клітин зародкового диска становила 95%, через тиждень зберігання вона зменшилася до 86%, через 2 тижні — до 68,3, а через 3 становила лише 60% ( $P \leq 0,001$ ) від загальної кількості клітин.

Зародковий диск у яйці розташований таким чином, що з одного боку він безпосередньо контактує із жовтком, а з іншого — торкається вітелінової мембрани, оточеної халазним шаром білка. Тому якість цих компонентів яйця має дуже велике значення для підтримання життєздатності бластодермальних клітин. Зміни у характеристиках внутрішнього вмісту яйця протягом зберігання негативно впливають на життєздатність клітин бластодерми.

Показники виводу молодняку та виводимості яєць у наших досліджах залежали від кількості життєздатних клітин бластодиска (коефіцієнт кореляції  $r=0,99$ ). Виводимість яєць значно погіршилася після 14 днів зберігання, що збігається зі зниженням рівня життєздатних бластодермальних клітин (рис. 2). Виводимість яєць знизилася на 21,9%, а кількість життєздатних клітин зародкового диска — на 26,7% порівняно з показниками яєць після 2-добового зберігання (контрольна група). Після 3-тижневого зберігання виводимість яєць становила 57%, кількість життєздатних клітин



**Рис. 2. Залежність виводимості яєць від кількості життєздатних клітин бластодерми та терміну зберігання яєць: 1 — кількість життєздатних клітин бластодерми; 2 — виводимість яєць**

бластодерми — 60, що відповідно на 28,1 та 45% менше, ніж на контролі.

Аналіз відходів інкубації свідчить, що показники виводимості яєць знизилися через підвищену смертність зародків на різних етапах ембріогенезу.

У групах яєць з терміном зберігання 14 та 21 день переважали такі категорії відходів, як «кров'яне кільце» та «задохлики» (див. таблицю). Так, кількість «кров'яного кільця» досягла 11,8 та 17,4%, «задохликів» — 20,5 та 22,2% відповідно у групах з 2- та 3-тижневим терміном зберігання. Підвищення смертності зародків на ранніх стадіях інкубації (категорія відходів «кров'яне кільце») може бути безпосередньо пов'язане із низькою кількістю життєздатних клітин бластодерми, порушен-

нями у формуванні або функціонуванні органів кровоносної системи на 3–5-ту добу інкубації, коли формується судинне поле жовткового мішка, з'являються формені елементи крові, розвиваються судини та серце в тілі ембріона. Смертність на пізніх стадіях ембріогенезу (категорія відходів «задохлики») можна пояснити кумулятивним ефектом усіх несприятливих чинників, які впливали на ембріон під час зберігання та інкубації яєць.

Вважаємо, цей спосіб оцінки життєздатності клітин зародкового диска може бути застосований під час проведення аналізу біологічної якості яєць перед закладанням їх на інкубацію. На основі отриманих даних можна досить точно спрогнозувати рівень виводу молодняку.

## Висновки

*Для встановлення життєздатності бластодермальних клітин застосовано методику визначення цілісності клітинних мембран. Застосована методика дала змогу встановити, що за збільшення терміну зберігання яєць відбувається достовірне зменшення кількості життєздатних зародкових клітин з 95% (2 доби після знесення) до 60% (21 доба*

*після зберігання). Виявлено кореляцію між кількістю життєздатних клітин бластодерми та виводимістю яєць ( $r=0,99$ ). Методику визначення морфологічної цілісності бластодермальних клітин як параметра оцінки життєздатності зародкового диска можна використати під час проведення біологічного контролю якості яєць до інкубації.*

## Бібліографія

1. *Инкубация яиц сельскохозяйственной птицы*/ М.Т. Тагиров, Н.В. Шомина, А.Б. Артеменко [и др.]. — Борки, 2009. — 131 с.
2. *Прокудина Н.А.* Методы биологического контроля в инкубации/Н.А. Прокудина, А.Б. Артеменко, Н.С. Огурцова/Институт птицеводства УААН. — Х., 2006. — С. 40–69.
3. *Arora K.L.* Changes in the gross morphological appearance of chicken and turkey blastoderms during pre-incubation storage/K.L. Arora, I.L. Kosin//Poultry Science. — 1966. — V. 45. — P. 819–825.
4. *Broiler egg storage induces cell death and influences embryo quality*/J.A. Hamidu, Z. Uddin, M. Li [et al.]//Poultry Science. — 2011. — V. 90. — P. 1749–1757.
5. *Cell death in the avian blastoderm: resistance to stress-induced apoptosis and expression of anti-apoptotic genes*/S.E. Bloom, D.E. Muscarella, M.Y. Lee [et al.]//Cell Death Differentiation. — 1998. — № 5. — P. 529–538.
6. *Comparison of blastoderm traits from 2 lines of broilers before and after egg storage and incubation*/M.R. Bakst, V. Akuffo, D. Nicholson [et al.]//Poultry Science. — 2012. — V. 91. — P. 2645–2648.
7. *Dissection of chicken blastoderm for examination of apoptosis and necrosis by flow cytometry*/J.A. Ha-

- midu, A.M. Rieger, G.M. Fasenko [et al.]//Poultry Science. — 2010. — V. 89. — P. 901–909.
8. *Field study on broilers first-week mortality*/H. Yassin, A.G.J. Velthuis, M. Boerjan [et al.]//Poultry Science. — 2009. — V. 88. — P. 798–804.
9. *Influence of egg storage time and preincubation warming profile on embryonic development, hatchability and chick quality*/I.A.M. Reijrink, D. Berghmans, R. Meijerhof [et al.]//World's Poultry Science Journal. — 2008. — V. 64. — P. 581–598.
10. *Influence of egg warming during storage and hypercapnic incubation on egg characteristics, embryo development, hatchability, and chick quality*/I.A.M. Reijrink, R. Meijerhof, B. Kemp [et al.]//Poultry Science. — 2010. — V. 89. — P. 2470–2483.
11. *Measurements of the number of chicken blastoderm cells during egg storage*/I.A.M. Reijrink, H.W.M. Van Straaten, R. Meijerhof [et al.]//Book of abstracts of the 23<sup>th</sup> World's Poultry Congress, 30 June — 4 July 2008, Brisbane, Queensland, Australia. — 2008. — P. 288.
12. *The chicken embryo and its micro environment during egg storage and early incubation*/I.A.M. Reijrink, R. Meijerhof, B. Kemp [et al.]//World's Poultry Science Journal. — 2008. — V. 64. — P. 581–598.

Надійшла 23.03.2015.