

Е. С. Федорова, О. И. Станишевская

Адаптационные способности к пониженным температурам выращивания в период раннего онтогенеза у русской белой породы кур, гомозиготной по гену sw^+

Аннотация. Сохранение генофонда сельскохозяйственной птицы, в том числе кур, является в настоящее время одной из актуальных задач в мировом птицеводстве, поскольку генофондные породы представляют собой резервуар ценных генов и аллелей. Одной из таких пород является русская белая, разводимая в «Генетической коллекции редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ, отличающаяся терморезистентностью молодняка в условиях пониженных температур выращивания, а также повышенной устойчивостью к ряду неопластических заболеваний, таким как болезнь Марека, лейкоз, карциномы кур. В результате такой селекции на терморезистентность появились генотипы с белоснежным пухом суточных цыплят, примерно 25% от общего числа цыплят на выводе. В настоящее время путем отбора в 4 поколениях создана линия «белоснежек», гомозиготная по гену sw^+ . Анализ ее адаптационных способностей в условиях пониженных температур (однократного охлаждения инкубируемых яиц на 6-е сутки до $+20^\circ\text{C}$ в течение 6 часов) выявил внутripородные различия в степени реакции на данный стрессирующий фактор (опыт I). Реакцией на стресс считали изменение объема аллантоисно-амниотической жидкости эмбрионов. При общепринятом режиме инкубации эмбрионы исходной гетерозиготной популяции F_0 от кур с желтой окраской пуха и от «белоснежек» не отличались друг от друга по абсолютному и относительному объему аллантоисно-амниотической жидкости. В ответ на охлаждение обе группы увеличили объем экстраэмбриональной жидкости, но у «белоснежек» это увеличение было в 2 раза больше. В F_4 эмбрионы кур — «белоснежек» в результате охлаждения увеличили объем аллантоисно-амниотической жидкости на 6%, в то время как у эмбрионов второй группы количество жидкости не изменилось. Термоустойчивость неонатальных цыплят русской белой оценивали в сравнении с цыплятами амрокс, поскольку птица данной породы также имеет яичное направление продуктивности и не была подвержена какому-либо отбору по терморезистентности в условиях гипотермического стресса (опыт II). Установлено, что цыплята «белоснежки» более эффективно поддерживают температуру тела в условиях часовой выдержки при температуре $+16^\circ\text{C}$ (диапазон температур тела цыплят $32,6\text{--}21,1^\circ\text{C}$) по сравнению с цыплятами амрокс (диапазон температур тела цыплят $31,0\text{--}18,4^\circ\text{C}$), сохраняют активность и не впадают в оцепенение. Мы считаем, что цыплята русской белой породы, гомозиготные по гену sw^+ в результате отбора по данному признаку на протяжении 4 поколений, обладают более совершенными механизмами терморегуляции, лучше адаптированы к условиям пониженных температур в эмбриональный и ранний постнатальный период.

Ключевые слова: гипотермический стресс, эмбрионы кур, неонатальные цыплята, экстраэмбриональная жидкость, ген sw^+ .

Авторы:

Федорова Елена Сергеевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных птиц; e-mail: fedorova816@mail.ru;

Станишевская Ольга Игоревна — доктор биологических наук, зав. отделом генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц; e-mail: olgastan@list.ru.

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал ФГБНУ «ФНЦ животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», 196601, Россия, Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, 55а.

Сохранение генофонда сельскохозяйственной птицы, в том числе кур, является в настоящее время одной из актуальных задач в мировом птицеводстве, поскольку генофондные породы являются резервуаром ценных генов и аллелей (устойчивость к заболеваниям, приспособленность к мест-

водстве, поскольку генофондные породы являются резервуаром ценных генов и аллелей (устойчивость к заболеваниям, приспособленность к мест-

ным климатическим и кормовым условиям, возможность сексирования цыплят в суточном возрасте по окраске пуха), а также обладают повышенной питательной ценностью яиц и мяса в сравнении с птицей промышленных кроссов [1, 2]. Однако интеграция в селекционные программы признаков повышенной резистентности к заболеваниям и неблагоприятным условиям среды ограничена рядом факторов, включающих в себя низкую наследуемость данных свойств, трудность их оценки, а также антагонистичность этих признаков с показателями продуктивности.

В «Генетической коллекции редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ имеется популяция русских белых кур, представляющих особый интерес для исследований в области использования и сохранения генофонда птицы, поскольку была создана отбором на устойчивость к пониженным температурам в первые дни жизни ($+15...+22^{\circ}\text{C}$ в первые 5 дней жизни с постепенным снижением до $14-11^{\circ}\text{C}$ к 21–30-дневному возрасту и содержанием взрослых кур зимой при температуре ниже 0°C). В результате селекции в условиях сублетальных пониженных температур появились генотипы, отличающиеся не только терморезистентностью молодняка, но и повышенной устойчивостью к ряду неопластических заболеваний, таких как болезнь Марекка, лейкоз (подтверждено при экспериментальном заражении), карциномы [3, 4]. Селекция на терморезистентность в условиях гипотермического стресса также привела к появлению генотипов с белоснежным эмбриональным пухом (так называемых «белоснежек»), количество которых составило примерно 25% от общего числа цыплят на выводе. Остальные цыплята имели преимущественно обычную желтую окраску пуха, за исключением небольшого количества особей с промежуточным типом окраски. Предположительно, отбор неонатальных цыплят по степени реактивности на такой фактор, как холодовой стресс, повлиял на механизм нейроэндокринной регуляции процесса меланогенеза, который контролируется гормонами гипофиза, щитовидной железы и др., в результате чего и возникла мутация в окраске пуха цыплят [5, 6]. Это предположение подтверждается исследованиями В. Б. Дмитриева [7, 8], согласно которым концентрация кортикостерона в крови 10-недельных цыплят «белоснежек» в ответ на введение АКТГ в 1,5–3,5 раза выше, чем у других генофондных пород. Вероятно, в результате адаптации организма установочная точка (set point) в центрах терморегуляции гипоталамуса сдвинулась в сторону уменьшения уже на генетическом уровне. Куры популяции русская белая также на протяжении 5 поколений отбора селекционировались на увеличение выхода экс-

траэмбриональной жидкости — сырья для производства вирусных вакцин, поскольку изначально, в сравнении с другими генофондными породами, обладали более высоким выходом аллантоисно-амниотической жидкости у эмбрионов и титром вакцинного вируса в ней [9].

В настоящее время на базе ВНИИГРЖ создана экспериментальная популяция русских белых кур, гомозиготная по гену sw^+ (snow white down), в которой все неонатальные цыплята имеют белоснежную окраску пуха [10]. Мы считаем, что данная популяция представляет интерес и как селекционное достижение, и как модель для изучения генетических и физиологических механизмов, обуславливающих процессы терморегуляции у кур в эмбриональном и раннем постнатальном периодах онтогенеза.

Цель исследований: оценить адаптационные способности кур экспериментальной популяции русской белой породы, гомозиготной по гену sw^+ (F_4), в сравнении с исходной популяцией (F_0) в условиях гипотермического стресса в эмбриональном и раннем постнатальном периоде онтогенеза.

Материалы и методы. Исследования проводились на эмбрионах (опыт I) и неонатальных цыплятах русской белой породы кур, а также на цыплятах породы амрокс (опыт II), разводимых в «Генетической коллекции редких и исчезающих пород кур» ВНИИГРЖ. Яйца были получены от кур в возрасте 49–50 недель жизни. Яйца, а также эмбрионы и цыплят взвешивали на электронных весах HL-400 EX. Инкубацию яиц проводили в лабораторных условиях при общепринятом режиме инкубации для кур генофондного стада в инкубаторе и выводном шкафу «Рэмил-Ц». Исследована норма реакции 12,5-суточных эмбрионов в ответ на однократное охлаждение инкубируемых яиц (на 6-е сутки при $+20^{\circ}\text{C}$ в течение 6 часов) по изменению уровня выхода экстраэмбриональной жидкости. Оценивали кур, имевших в суточном возрасте обычную желтую окраску пуха (группа 1) с «белоснежками» (группа 2). Объём экстраэмбриональной жидкости (аллантоисной и амниотической, мл) оценивали в возрасте эмбрионов 12,5 суток по достижении им максимального значения, с помощью мерного цилиндра. Поскольку данный объём зависит от массы яйца, то рассчитывали его относительный выход в мл/г массы яйца.

У неонатальных цыплят измеряли наружную температуру тела в области головы и лап с помощью тепловизора Thermal Expert FL 13 mm f/1.0, а также ректальную — электронным термометром Microlife MT 3001 сразу при выемке из инкубатора, а также после выдержки их в течение часа при $+16^{\circ}\text{C}$. По способности адаптироваться к по-

ниженным температурам оценивали неонатальных цыплят русской белой («белоснежек») в сравнении с цыплятами породы амрокс яичного направления продуктивности (по 10 голов в каждой группе), поскольку в данной породе не проводилась селекционная работа на терморезистентность в условиях гипотермического стресса. Достоверность различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты исследований. При исследовании влияния холодового стресса на эмбрионы (однократного охлаждения инкубируемых яиц на 6-е сутки до $+20^{\circ}\text{C}$ в течение 6 часов, опыт I) были установлены внутривидовые различия в степени реакции на данный стрессирующий фактор (табл. 1). В качестве показателя, характеризующего реакцию организма эмбриона на охлаждение, использовали объем экстраэмбриональной жидкости, поскольку, согласно литературным данным, понижение температуры инкубации вызывает увеличение размера амниона в качестве защитной функции [11].

При общепринятом режиме инкубации эмбрионы F_0 обеих групп практически не отличались друг от друга по абсолютному и относительному объему аллантоисно-амниотической жидкости (необходимо отметить, что в F_0 особи «белоснежки» являлись гетерозиготными по гену sz^{+} , в F_4 — уже гомозиготными). На охлаждение обе группы отреагировали увеличением объема экстраэмбриональной жидкости, но в группе 2 это увеличение было более значительным: 13,0–14,0% против 6,4–6,7% в группе 1.

В F_4 эмбрионы группы 2 в результате охлаждения увеличили объем аллантоисно-амниотической жидкости на 6,3% в абсолютной и на 5,8%

в относительной величине, в то время как у эмбрионов группы 1 количество жидкости осталось на том же уровне, что и в контроле. Хотя в результате селекционной работы по данному показателю за 4 поколения отбора относительный выход экстраэмбриональной жидкости у эмбрионов при общепринятом режиме инкубации увеличился на 7,6%, норма реакции в ответ на воздействие стресс-фактора (охлаждение) в каждой группе и в нулевом, и в четвертом поколениях одинакова: 0,207–0,208 мл/г в группе 1 и 0,222–0,223 мл/г в группе «белоснежек». Таким образом, эмбрионы, гомозиготные по гену sz^{+} , имеют более широкую норму реакции и лучше адаптированы к холодовому температурному стрессу в эмбриональный период.

В наших исследованиях также были обнаружены межпородные различия в реакции неонатальных цыплят пород русская белая и амрокс на гипотермический стресс (опыт II). При выемке из инкубатора цыпленка «белоснежки», в сравнении с цыплятами амрокс, имели более низкую ректальную температуру (на $2,4^{\circ}\text{C}$, $P < 0,001$) и более высокую — в области головы (на $0,9^{\circ}\text{C}$), иных статистически достоверных различий по температуре тела или живой массе у цыплят не наблюдалось.

При выдержке цыплят в течение часа при 16°C межпородные различия становятся принципиальными: так, ректальная температура у цыплят амрокс, по сравнению с той, что была при выемке из инкубатора, снижается на 12,7% (или на $5,1^{\circ}\text{C}$, с $40,1 \pm 0,69$ до $35,0 \pm 0,39^{\circ}\text{C}$), в то время как у цыплят «белоснежек» — лишь на 3,7% (на $1,4^{\circ}\text{C}$, с $37,7 \pm 1,2$ до $36,3 \pm 0,42^{\circ}\text{C}$); потери тепла в области головы ($P < 0,001$) и ног ($P < 0,01$) у цыплят амрокс также значительно выше (19,8 и 50,3% соответственно против 15,6 и 43,1% у «белоснежек»).

Таблица 1. Сравнительная оценка реакции эмбрионов кур русской белой породы с желтой и белоснежной окраской пуха на охлаждение инкубационных яиц в различных поколениях отбора

Показатель	F_0				F_4			
	Контроль		Охлаждение		Контроль		Охлаждение	
	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2	Группа 1	Группа 2
Количество кур*	70	20	70	20	30	30	30	30
Масса яйца, г	$52,5 \pm 0,2$	$52,9 \pm 0,3$	$51,9 \pm 0,2$	$52,0 \pm 0,2$	$57,3 \pm 0,7$	$56,4 \pm 0,2$	$58,2 \pm 0,5$	$56,4 \pm 0,6$
Усушка, %	$7,7 \pm 0,08$	$7,6 \pm 0,08$	$6,7 \pm 0,05$	$6,8 \pm 0,08$	$6,9 \pm 0,1$	$6,7 \pm 0,05$	$6,2 \pm 0,1$	$6,6 \pm 0,2$
Жидкость:								
— мл;	$10,2^a \pm 0,1$	$10,1^a \pm 0,3$	$10,9^b \pm 0,1$ (+6,4%)	$11,6^c \pm 0,2$ (+13,0%)	$12,1 \pm 0,3$	$11,8 \pm 0,2$	$12,1 \pm 0,2$ (0%)	$12,6 \pm 0,4$ (+6,3%)
— мл/г	$0,194^a \pm 0,002$	$0,191^a \pm 0,005$	$0,208^b \pm 0,002$ (+6,7%)	$0,222^d \pm 0,003$ (+14,0%)	$0,210 \pm 0,003$	$0,210^c \pm 0,003$	$0,207 \pm 0,002$	$0,223^f \pm 0,004$ (+5,8%)

* каждая курица оценена минимум по 3 яйцам; ef $P < 0,05$; bc $P < 0,01$; ab, ac, ad, bd $P < 0,001$.

В результате 2-часовой выдержки при 16°C у цыплят амрокс наблюдаются все поведенческие реакции, характерные для гипотермии: мышечная дрожь, сонливость, а впоследствии и состояние оцепенения. Цыплята русской белой реагируют на охлаждение проявлением мышечной дрожи, но при этом сохраняют активность и реакцию поиска корма.

Как видно на фото, полученном с помощью тепловизионной камеры (рис. 1), цыплята амрокс в условиях выдержки при низкой температуре более интенсивно теряют тепло всей поверхностью тела (диапазон температур тела цыплят 31,0–18,4°C) в сравнении с «белоснежками» (диапазон температур тела цыплят 32,6–21,1°C). Наибольшее снижение температуры тела у цыплят амрокс наблюдается в области ног, головы, спины и крыльев (синий цвет на фото). У «белоснежек» самая

низкая температура тела также зафиксирована в области ног, но в целом охлаждение тела происходит более равномерно и в меньшей степени, чем у молодняка амрокс, нельзя выделить области резко пониженных температур.

Таким образом, цыплята русской белой породы, гомозиготные по гену *sw*⁺ в результате отбора по данному признаку на протяжении 4 поколений, наряду с белоснежной окраской пуха в суточном возрасте, обладают более совершенными механизмами терморегуляции, лучше адаптированы к условиям пониженных температур в эмбриональный и ранний постнатальный период. Данная особенность может быть использована при дальнейшей селекционной работе с популяцией, а также при создании гибридной птицы с повышенными адаптационными способностями в условиях гипотермического стресса.

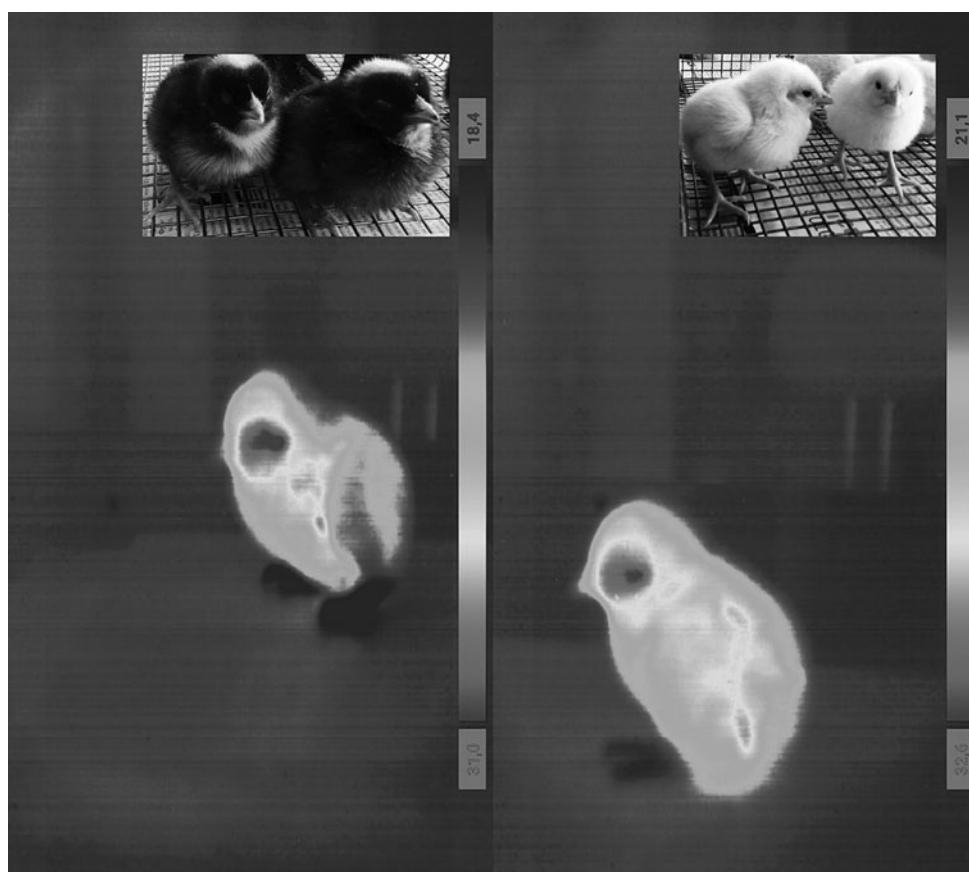


Рис. 1. Сравнение степени изменения температуры тела неонатальных цыплят русской белой породы (справа, диапазон температур тела цыплят 32,6–21,1 °C) и амрокс (слева, диапазон температур тела цыплят 31,0–18,4°C) после выдержки их в течение часа при 16°C

*Работа подготовлена в рамках выполнения государственного задания,
номер учета НИОКТР: № АААА-А18-118021590129-9*

Литература

1. Гальперн И. Л., Сегал Е. Л., Федоров И. В. Проблема сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственной птицы и возможные пути ее решения // Матер. XVIII междунар. конф. Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России. — Сергиев Посад. — 2015. — С. 45–48.
2. FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by B. D. Scherf & D. Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome (available at <http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>).
3. Соколова А. Н. Генетико-селекционные методы создания популяции кур с повышенной устойчивостью к неоплазмам: Автореф. дис. — СПб. — 1999. — 56 с.
4. Соколова А. Н. Селекция кур по функции терморегуляции и продуктивности // Сб. тр. XIII Всемирного конгресса по птицеводству. — СССР. Киев. — 1966. — С.151–155.
5. Косимов Р. Б. Биохимические особенности ингибирования меланогенеза шерсти у овец: диссертация ... доктора биологических наук: 03.00.04 — Душанбе, 2009. — 268 с.: ил.
6. Дементьев Г. П. Исследования по окраске позвоночных животных / Г. П. Дементьев // Зоологический журнал. — Т. 23. — Вып. 5 (1948) — С.189–197.
7. Дмитриев В. Б. Функциональные эндокринные резервы в селекции сельскохозяйственных животных. — Санкт-Петербург, 2009. — 243 с.
8. Lu L., Dmitriev V. B., Stanishevskaya O. I. et.al. Destabilizing effect of selection in chicken: factors of variability // Proceedings of the XXV World Poultry Conference, 2016, China. — P. 345.
9. Лапа М. А. Критерии оценки и отбора птицы с целью повышения пищевых и биотехнологических качеств яиц: диссертация ... кандидата биологических наук: 06.02.07 — Санкт-Петербург-Пушкин, 2015. — 133 с.: ил.
10. Kudinov A. A. Genome-wide association studies targeting the yield of extraembryonic fluid and production traits in Russian White chickens / A. A. Kudinov, N. V. Dementieva, O. V. Mitrofanova, O. I. Stanishevskaya, E. S. Fedorova // BMC Genomics. — 2019. — № 20. — P. 270. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5605-5>.
11. Рольник В. В. Биология эмбрионального развития птиц. — Л.: Наука, 1968. — 425 с.

Fedorova E., Stanishevskaya O.

Adaptation abilities to low temperatures of growing during early ontogenesis in russian white breeds of hens, homosyptable by sw^+ gene

Abstract. Preserving the gene pool of poultry, including chickens, is currently one of the urgent tasks in the global poultry industry, since gene pool breeds are a reservoir of valuable genes and alleles. One of such breeds is the Russian White, bred in the Genetic Collection of Rare and Endangered Breeds of RRIFAGB, characterized by thermal resistance of young stock at low growing temperatures, as well as increased resistance to several diseases, such as Marek's disease, leukemia, chicken carcinoma. As a result of breeding for thermal resistance, genotypes with snow-white down of day-old chicks appeared. At present, a line of snow-white homozygous for the sw^+ gene has been created. Analysis of its adaptive abilities in low temperature conditions (single cooling of incubated eggs on the 6th day to $+20^\circ\text{C}$ for 6 hours) revealed intra-breed differences in the degree of reaction to this stress factor (exp. I). The response to stress was the change in the volume of the allantoic amniotic fluid of embryos. In the standard incubation mode, F_0 embryos did not differ from each other in absolute and relative volume of the allantoic-amniotic fluid both from chickens with yellow color of down and from «snow-whites». In response to the cooling, both groups increased the volume of extraembryonic fluid, but this increase was 2 times

larger for «snow-whites». In F_4 , the embryos of chickens «snow-white» as a result of cooling increased the volume of allantoic amniotic fluid by 6%, while in the second group of embryos the amount of fluid didn't change. The thermoresistance of neonatal Russian White chicks was evaluated in comparison with Amrox chicks (exp. II). It has been established that the chicks of «snow-white» more effectively maintain the body temperature under the conditions of hour exposure at a temperature of +16°C (the body temperature range of chicks is 32.6–21.1°C) compared with amrox chickens (the body temperature range of chickens is 31.0–18.4°C), remain active and don't become torpid. We suppose that chickens of the Russian white breed, homozygous for the *sw+* gene as a result of selection for this trait over 4 generations, have more advanced mechanisms of thermoregulation, better adapted to the conditions of low temperatures in the embryonic and early postnatal period.

Key words: hypothermic stress, chicken embryos, neonatal chicks, extraembryonic fluid, *SW+* gene.

Authors:

Fedorova E. — PhD (Biol. Sci.), Senior research scientist of the Department of poultry genetics, breeding and gene pool preservation; e-mail: fedorova816@mail.ru;

Stanishevskaya O. — Dr. Habil. (Biol. Sci.), Leading research scientist of the Department of poultry genetics, breeding and gene pool preservation; e-mail: olgastan@list.ru.

Russian research institute of farm animal genetics and breeding — branch of the L. K. Ernst Federal science center for animal husbandry; Russia, St. Petersburg, Pushkin, Moskovskoe shosse, 55a, 196601.

References

- Halpern I. L., Segal E. L., Fedorov I. V. The problem of conservation of the genetic resources of poultry and possible ways to solve it // Mater. XVIII international conf. Innovative provision of egg and meat poultry farming in Russia. — Sergiev Posad. — 2015. — P. 45–48.
- FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by B. D. Scherf & D. Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome (available at <http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>).
- Sokolova A. N. Genetic-selection methods for creating a chicken population with increased resistance to neoplasms: Abstract. dis. — SPb. — 1999. — 56 p.
- Sokolova A. N. Selection of chickens by the function of thermoregulation and productivity // Sat. Tr. XIII World Poultry Congress. — THE USSR. Kiev. — 1966. — P.151. — 155.
- Kosimov R. B. Biochemical features of the inhibition of wool melanogenesis in sheep: the dissertation ... Doctors of Biological Sciences: 03.00.04 — Dushanbe, 2009. — 268 pp., Ill.
- Dementiev G. P. Studies on the coloring of vertebrates / G. P. Dementiev // Zoological journal. — 1948. — Vol. 5 (1948). — P. 189-197.
- Dmitriev VB Functional endocrine reserves in the selection of farm animals. — St. Petersburg, 2009. — 243 p.
- Lu L., Dmitriev V. B., Stanishevskaya O. I. et.al. Destabilizing effect of selection in chicken: factors of variability // Proceedings of the XXV World Poultry Conference, 2016, China. — P. 345.
- Lapa M. A. Criteria for the assessment and selection of poultry in order to improve the nutritional and biotechnological qualities of eggs: the dissertation ... candidate of biological sciences: 02/06/07 — St. Petersburg-Pushkin, 2015. — 133 pp., Ill.
- Kudinov A. A. Genome-wide association studies targeting the yield of extraembryonic fluid and production traits in Russian White chickens / A. A. Kudinov, N. V. Dementieva, O. V. Mitrofanova, O. I. Stanishevskaya, E. S. Fedorova // BMC Genomics. — 2019. — № 20. — P. 270. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5605-5>.
- Rolnik V. V. Biology of embryonic development of birds. — L.: Nauka, 1968. — 425 p.