IMPROVING MEASURES OF PREVENTION AND ELIMINATION INFERTILITY IN COWS OF NNVAK LNAU "KOLOS"

Kot V, Kot O., Lugansk NAU

This work is dedicated studies the possible causes, prediction and prevention of childbirth diseases and postpartum period in cows. Sanitation of the vagina during the insemination using mixture of products containing propolis, alcohol, dimethyl sulfoxide and glycerol reduces the number of complications during childbirth and the postpartum period in cows by 2.2 times. Based on symptom of vestibulitis-vulvovaginitis can predict the pathology of childbirth and postnatal period and the consequent of symptomatic infertility.

Key words: insemination, vaginal sanitation, prevention, infertility.

УДК 575.16: 591.162

ПОЛНЫЙ МЕЙОТИЧЕСКИЙ ПАРТЕНОГЕНЕЗ В ИЗУЧЕНИИ ОВОГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ТУТОВОГО ШЕЛКОПРЯДА BOMBYX MORI L.

Лысенко Н.Г., асп., Лян Хаоюань, асп., Клименко В.В., д. б. н.
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина

Путем гибридизации с клоном Р29 получен партеноклон, обладающий способностью к полному мейотическому партеногенезу, что дает возможность использования в селекции тутового шелкопряда абсолютно гомозиготных самцов для очищения материала от летальных генов. С помощью трех различных подходов, основанных на разных вариантах мейотического партеногенеза, показано отсутствие эквипотенциальности развития яиц вдоль овариолы и тем самым подтверждено наличие овогенетической изменчивости в клонах, получаемых астауровским методом.

Ключевые слова: **партеногенез, клонирование, внутриклональная изменчивость, гомозиготность, леталь, селекция, тутовый шелкопряд.**

Тутовый шелкопряд является единственным животным, на котором проблема клонирования решена уже более трех четвертей века назад, то есть намного раньше овечки Долли и даже раньше клонирования амфибий в 50-х годах. За этим открытием последовали другие: решение проблемы регуляции пола и первое в истории создание искусственного тетраплоидного вида тутового шелкопряда, который просуществовал около 20 лет [4, 5]. Достижения экспериментальной генетики имели общебиологическое значение, но всегда были нацелены и на использование в селекции.

Постепенно выявлялись препятствия на пути внедрения партеноклонов тутового шелкопряда в промышленное шелководство. Хотя была установлена положительная корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности самки и способностью ее к партеноклонированию [1], промышленные гибриды не стали источником перманентных клонов в виду их хорошей, но все-таки недостаточной способности к искусственному клонированию. Тем не менее, оценивая гибридные комбинации между селектируемыми линиями и породами по их способности к клонированию путем термического партеногенеза, можно определять направления отбора, ведущие к созданию наиболее гетерозисных промышленных гибри-

дов [10]. Подобные оценки постоянно показывали также невозможность переведения в клоны как самих линий, так и полученных на их основе мутаций. Клон, не уступающий по эффективности искусственной репродукции нормальному обоеполому размножению, был получен Б.Л. Астауровым в результате многолетней селекции на базе богатейшего генофонда тутового шелкопряда, накопленного в Союзе [6]; этим было показано, что создание клонов промышленного значения является реальной задачей. Выведенный клон Р29 обнаружил одну важнейшую особенность: с помощью мейотического варианта партеногенеза от него оказалось возможным получать партеногенетических сыновей с частотой 2-3%; эти самцы не содержат леталей в своем диплоидном наборе, образовавшемся в результате слияния дочерних ядер разделившегося митотически женского пронуклеуса, чем и объясняется их полная гомозиготность и исключительная редкость. Ценность генотипа этих самцов для селекции состоит не только в их безлетальности, но и в том, что они передают способность к клонированию, получаемому через ауткросс потомству [11].

Несколько лет назад мы неожиданно обнаружили, что клон Р29 и несколько его дочерних клонов утратили способность производить абсолютно гомозиготных самцов; очевидно, в этих клонах в одной из групп сцепления образовалась пара леталей в транс-положении, что исключает появление жизнеспособного дигаплоида [8]. Немедленно была поставлена задача скрининга в лабораторном материале клонируемых генотипов, способных производить абсолютно гомозиготных партеногенетических сыновей. В 2012 году требуемый для селекции клон был получен; в работе приведены его исходные характеристики и показана возможность его использования в изучении выявленной в клонах овогенетической изменчивости [14].

Материалы и методы исследования. Выкормку материала проводили в 2012 году на экспериментальной базе ХНУ имени В.Н.Каразина в соответствии с принятыми зоотехническими требованиями. Использовали клон тутового шелкопряда Р14, полученный в представленной ниже селекционной работе на основе партеноклона Р29 и линий коллекции. Клональную грену синхронизированных по выходу из кокона бабочек извлекали из целых или поделенных на части овариол и подвергали мейотической активации промораживанием при -11°С в течение 30 мин [12], амейотической термоактивации при 46°С в течение 18 мин [4]; часть яиц оставляли без воздействия для оценки их способности к спонтанному развитию. Для устранения диапаузы развиваюшиеся партеногенетически яйца обрабатывали на стадии начального порозовения соляной кислотой (уд. вес 1,120 при 30°С) при 30-35°С в течение 12-15 мин. После этого грену помещали на инкубацию (24°С, свет 16 ч, повышенная влажность). Эмбриональную жизнеспособность оценивали по выходу личинок («мурашей»); в каждой из проб подсчитывали количество черных и рыжих мурашей. Статистическую обработку результатов проводили с применением t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования. Партеноклон Р29 был выведен более сорока лет назад в результате длительной и достаточно сложной селекции, где в качестве исходного материала была использована наиболее гетерогенная часть генофонда тутового шелкопряда Советского Союза, прошедшая предварительную оценку на способность к термическому амейотическому партеногенезу [4, 6]. Был получен генотип, вобравший в себя из исходного генетического пула те гены, которые обеспечивают при воздействии тепловым шоком (вода при 46°С в течение 18 мин) 100% активацию неоплодотворенных яиц, подавление редукционного деления созревания (с одновременным сохранением функциональности эквационного

деления) и выживание начавшего развиваться зародыша в ооплазме, подвергнутой сублетальному прогреву. Гетерозиготность генотипа клона Р29 весьма высока [1]; ее составной частью являются локусы с леталями и полулеталями, прикрытые нормальными аллелями. Скрытая летальность выявляется при другом, мейотическом, типе партеногенеза, когда неоплодотворенную грену промораживают при -11°С в течение 30 мин [12]. В этом случае развитие доходит до вылупления личинки только тогда, когда гаплоидный набор хромосом женского пронуклеуса, образующегося в результате прошедшего мейоза, не содержит леталей, W-хромосомы и удваивается в самом начале дробления; вследствие этого выжившими оказываются гомозиготные безлетальные особи с удвоенной Z-хромосомой, то есть самцы.

Когда клон Р29 и его «старые» дочерние клоны перестали производить гомозиготных самцов, мы заложили несколько сотен новых дочерних клонов от самок F1, полученных скрещиванием Р29 с различными маркерными линиями, отбирая в последовательных поколениях генотипы с наилучшими показателями полного термопартеногенеза. От получаемых клонов на всех этапах селекции мы пытались, практически безуспешно, получить гомозиготных партеногенетических сыновей. К 2010 году у нас было более десятка клонов с высокими показателями, но только один из них, Р14, после осенней выкормки того же года дал после мейотической криоактивации заметное количество черных и рыжих (ch) личинок, которых, однако, на искусственном корме не удалось довести до имаго.

Осенью 2012 года для оценки клона Р14 как производителя гомозигот поставили отдельный опыт. Извлеченную из самок клона грену разделили на две части соответственно задаче одновременного воспроизводства клона (46°С, 18 мин) и получения из него мужского потомства (-11°С, 30 мин); в самом начале пигментации развивающиеся яйца в обоих вариантах обработали соляной кислотой для предотвращения диапаузы [13]. Вышедших мурашей выкормили осенним листом под тщательным постоянным наблюдением.

Способность Р14 к партеноклонированию на уровне клона Р29 была очевидной (98% вылупления после термоактивации по Астаурову). Выход мурашей в «самцовом» варианте учитывали на протяжении пяти дней (табл. 1).

Таблица 1

Выход личинок из неоплодотворенной грены клона Р14, стимулированной к развитию промораживанием при -11 °С в течение 30 мин

Дата вылупления	Фенотип личинок по вылуплении		
	***ch*$^+$ черные**	***ch* рыжие**	***ch*$^+$ – *ch***
15.09.2012	53	61	- 8
16.09.2012	89	116	- 27
17.09.2012	70	90	- 20
18.09.2012	7	2	+ 5
19.09.2012	0	2	- 2
Всего	219	271	- 52
По Менделю	245 (-26)	245 (+26)	0

Поскольку клон Р14 гетерозиготен по рецессивному маркеру ***ch***, выход рыжих мурашей четко свидетельствует о прохождении мейоза, или, в данном случае, о мейотическом партеногенезе. Однако если ранее во всех подобных случаях, включая астауровский клон Р29, наблюдалось некоторое постоянное преобладание черного фенотипа мурашей, то здесь в первом партеногенетическом поколении налицо преобладание рецессивного фенотипа, особенно в дни массового выхода (табл. 1). Отклонение от теоретического расщепления (1:1) в рассматриваемом локусе свидетельствует о том, что хромосома с диким аллелем после удвоения, очевидно, хуже совместима с эмбриональным развитием в гомозиготе, чем гомологичная хромосома с рецессивным маркером. Выход мурашей из криоактивированной грены составил 4,4 % (490 личинок из 11157 активированных яиц), тогда как в клоне Р29 он не превышал 3 %.

Выкормка гомозиготных самцов представляет известные трудности, в связи с тем, что в генетическом отношении каждый возникший эмбрион уникален, его генотип – это выборка по одной хромосоме из 28 пар хромосом материнского клона, вероятность ее возникновения составляет 2^{-28}, то есть повторение генотипа практически исключено. Сложная гетерозиготность родительского клона проявляется сразу с момента вылупления: процесс выхода личинок продолжительнее нормы на 2-3 дня, что свидетельствует о разных темпах эмбриогенеза. Личинки, вышедшие в один день, очень скоро обнаруживают различия в скорости развития: некоторые из них погибают, не приступив к поеданию листа, другие поедают лист, но по-разному увеличиваются в размерах, третьи гибнут в один из четырех периодов линьки. Гибель гусениц продолжается в период завивки кокона и после этого, вплоть до вылета имаго. Количество живых личинок тает на глазах и чаще всего до имаго доходят единичные особи. Разнообразные проявления генетически обусловленной смертности в оптимальных условиях выкормки, указывают на об огромное разнообразие леталей, полулеталей и «вредных» генов, которые в одиночку или в сочетаниях приводят гомозиготную особь к гибели. Одновременно взрастает роль гетерозиготности в репродукции природных и искусственных популяций и особое значение разработки методов очищения селектируемого материала от вредоносных генов. Поэтому уникальная возможность на тутовом шелкопряде получать, как и на растениях, полностью безлетальных особей, должна найти подобающее ей место в современной селекции тутового шелкопряда.

Нам удалось довести до стадии имаго пять гомозиготных самцов из 13 гусениц, завивших коконы; восемь куколок не прошли метаморфоз и погибли. На стадии имаго из пяти самцов только два оказались в разной степени частично плодовитыми при скрещивании с самками материнского клона (генетическое самооплодотворение). От одного самца были получены кладки после двух первых скрещиваний; последующие скрещивания оказались безрезультатными. Второй самец, оказался менее плодовитым, две кладки от «самооплодотворения» имели меньше трети оплодотворенных яиц каждая. Тем не менее, полученного количества яиц вполне достаточно для возобновления целого ряда селекционно-генетических исследований теоретического и прикладного характера уже в 2013 году. Этапы получения уникального на данный момент материала представлены на рис. 1.



Рис. 1. Генетическое самооплодотворение у тутового шелкопряда.

Дальнейшая работа должна быть направлена на включение в спектр гаплоидных безлетальных геномов хозяйственно-ценных признаков, трансгенов, мутаций, а также на создание для шелководства популяции, названной нами партеногенотической, которая будет сохранять на разных этапах отбора способность к партеноклонированию любого отдельного генотипа без необходимости переводить определяемое им ценное сочетание признаков в инбредную линию путем длительного отбора. Возрастет значение андрогенеза [3, 5], с помощью которого можно будет клонировать полностью гомозиготных самцов, что в принципе уже было продемонстрировано [11]. Партеногенотическая популяция будет использована как для генетического анализа самой способности к разным типам партеногенеза, так и для анализа других сложных признаков тутового шелкопряда.

В верхнем ряду: слева – выкормка партеногенетических сыновей из неоплодотворенной грены материнского клона Р14 после активации ее промораживанием; в середине – пять коконов гомозиготных самцов в сравнении с двумя коконами материнского клона (все коконы желтые, но в разной степени, что хорошо заметно среди пяти гомозигот); справа – копуляция гомозиготного самца с самкой материнского клона. В нижнем ряду: кладки полученные от разных самцов путем самооплодотворения: самцы № 1 и № 5 не смогли спариться и не оставили потомства; из пяти кладок от самца №2 (индекс 142) темная оплодотворенная грена имеется только в двух; самец №3 (143) имел более низкую плодовитость, чем № 2; самец № 4 (144) спарился, но оказался стерильным.

В анализе овогенетической изменчивости [14] использовали выборку из 40 бабочек суточного возраста клона Р14, синхронизированных по времени (утренним часам) вылета из кокона; овариолы от 30 бабочек делили на три примерно равные части: дистальную, то есть ближайшую к яйцекладу; медиальную (среднюю) и проксимальную, то есть часть ближайшую к апексу, в котором сходятся проксимальные части четырех овариол каждого из двух яичников; учитывая клональную идентичность особей, объединяли в одну группу яйца, извлеченные из одноименных частей; 10 оставшихся бабочек использовали в качестве контроля: здесь зрелые ооциты извлекали из целых, то есть не разделенных на части ова-

риол. В каждом из четырех овариольных вариантов оценку потенциала развития зрелых ооцитов производили тремя способами: по способности к полному мейотическому партеногенезу (табл. 2), по способности к термоактивации по Астаурову (табл. 3) и по способности к спонтанному партеногенезу (табл. 4).

Таблица 2

Оценка потенциала развития зрелых ооцитов в разных участках овариолы по способности к полному мейотическому партеногенезу (клон Р14)

Материал	Целая овариола (80 шт. 10 имаго)	Отрезки овариолы (240 шт. 30 имаго)			
		P	M	D	Всего
Яйца, шт.	2608	2748	2674	2594	8016
Личинки, шт. (%)	63 (2,42±0,30)	95 (3,46±0,35)*	84 (3,14±0,34)	69 (2,66±0,32)*	248 (3,09±0,19)
***ch*+**, шт. (%)	39 (1,50±0,24)	66 (2,40±0,29)	70 (2,62±0,31)*	50 (1,93±0,27)*	186 (2,32±0,17)
ch, шт. (%)	24 (0,92±0,19)	29 (0,73±0,17)	14 (0,52±0,14)*	19 (1,06±0,19)*	62 (0,77±0,10)

*Примечание. * - различия значимы на уровне p≤0,05. P - проксимальный, M - медиальный (средний); D - дистальный отрезки овариолы*

Из табл. 2 видно. что статистически значимые различия выхода личинок из целой овариолы и из суммы ее частей отсутствуют; крайние отрезки овариолы отличаются по выходу личинок (p≤0,05); различия в выходе рыжих личинок в расчете на овариолу и суммарно по ее отрезкам отсутствуют, но потенциалы развития зрелых ооцитов по выбранному показателю в медиальной и дистальной частях овариолы различаются (p≤0,05).

Таблица 3

Оценка с помощью термоактивации по Астаурову потенциала развития зрелых ооцитов из разных частей овариолы (клон Р14)

Материал	Целая овариола (80 шт. 10 имаго)	Отрезки овариолы (240 шт. 30 имаго)			
		P	M	D	Всего
Яйца, шт.	540	654	618	651	1923
Активация, %	95,0±0,9	93,0±1,0*	96,6±0,7	97,8±0,6*	95,8±0,5

*Примечание. * - различия значимы на уровне p≤0,05. P - проксимальный, M - медиальный (средний); D - дистальный отрезки овариолы*

Данные табл. 3 показывают четкое отсутствие различий по способности зрелых ооцитов к термоактивации в целой овариоле и суммарно по составляющим ее отрезкам, однако обнаруживается различие между ними в проксимальной и дистальной частях овариолы, которое в клоне Р29 и ряде других клонов отсутствует; по выходу мейотических личинок (табл. 2), указанные отрезки овариол также отличаются, но мурашей выходит больше в проксимальной части оварио-

лы, где потенциал развития ооцитов этого клона, оцененный по термоактивации, меньше такового в дистальном отрезке овариолы (табл. 3). Оценка на стадии пигментации потенциала развития зрелых ооцитов по их способности к спонтанному партеногенезу (табл. 4), который по своему механизму относится к мейотическому типу [7], также оказывается выше в дистальной части овариолы, что в данном клоне совпадает с оценкой потенциала развития ооцитов, полученной с помощью термоактивации (табл. 3).

Таблица 4

Оценка потенциала развития зрелых ооцитов клона Р14 по их способности к спонтанному партеногенезу в разных частях овариолы

Материал	Целая овариола (80 шт. 10 имаго)	Отрезки овариолы (240 шт. 30 имаго)			
		P	M	D	Всего
Яйца, шт.	412	476	492	459	1427
Пигментация, %	1,0±0,5	0,4±0,3*	0,4±0,3*	1,7±0,6*	0,8±0,2

*Примечание. * - различия значимы на уровне p≤0,05. P - проксимальный, M - медиальный (средний); D - дистальный отрезки овариолы*

Особенно четко отсутствие эквипотенциальности развития ооцитов вдоль овариолы видно, если мы сравним относительные количества рыжих личинок, вышедших из них в каждой из трех частей овариолы (рис. 2).

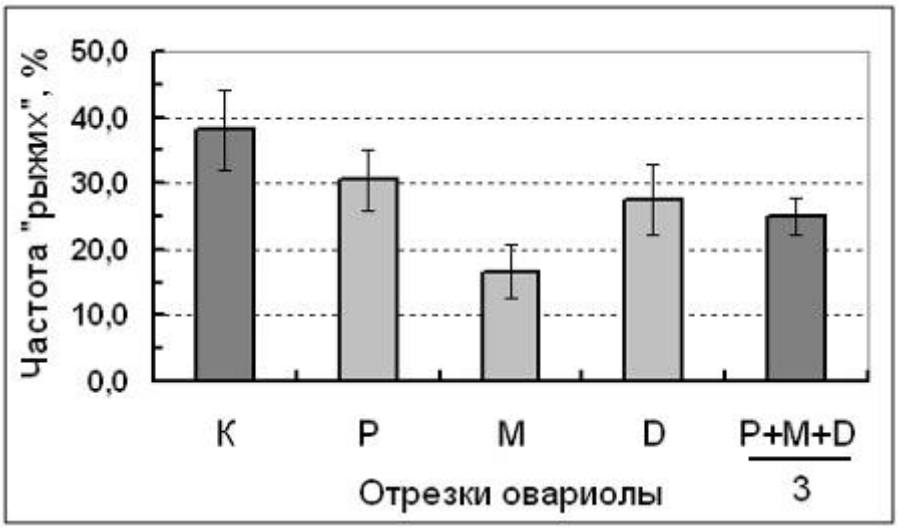


Рис. 2. Изменение доли рыжих мурашей среди личинок, которые выходят из яиц, занимающих разное положение вдоль овариолы в направлении от апекса яичника к яйцекладу (P, M, D – см. примечания под таблицами).

Полученные здесь и ранее [9] данные по изменчивости потенциала развития в зависимости от положения ооцита в овариоле, а следовательно, от времени

его возникновения в яичнике позволяют выделять в так называемом «онтогенетическом шуме» [2] нестохастический компонент, который мы назвали овогенетической изменчивостью, поскольку представляется естественным связывать вариации в степени партеногенетического развития зрелых ооцитов с тонкими биохимическими различиями между ними, возникшими и накопившимися в ходе оогенеза. Характер овогенетической изменчивости определяется, по-видимому, проморфологией ооплазмы, которая складывается в каждом ооците уникально в виду неповторимости физиолого-биохимической ситуации в момент возникновения каждого нового ооцита в постоянно меняющейся внутренней среде развивающегося материнского организма. Поскольку разные клоны, развивающиеся в одних условиях, обнаруживают различную овогенетическую изменчивость [9], последнюю следует рассматривать как обусловленную всей клеточной наследственностью. Если последовательные поколения репродуцируемого клона развиваются в одинаковых условиях, то будут воспроизводиться вместе с параметрами стохастической изменчивости [9] также и параметры изменчивости овогенетической.

Наиболее отчетливо овогенетическая изменчивость обнаруживается при переходе к трансплантационной репродукции клона, в том ее варианте, когда оогенез в трансплантированном яичнике протекает в полости тела мужской личинки, то есть при дефиците женских белков и вителлогенина [14]. Можно предположить, что условия развития и, в особенности, питания личинок в период выкормки могут влиять на характер (параметры) овогенетической изменчивости через изменение состава и проморфологии ооцитов, возникающих в разное время в яичнике. Допустимо также, что оптимальные условия питания на всем протяжении оогенеза выравнивают химический состав ооплазмы всех ооцитов, уменьшая овогенетическую изменчивость, однако проморфология ооцитов определяется не только химическим составом ооцитов, но и сложной «геометрией» градиентов распределения всех веществ ооплазмы, которая зависит от постоянно меняющейся во время развития внутренней среды организма.

Выводы:

1. На основе астауровского клона Р29 и линий лабораторной коллекции выведен партеноклон Р14, обладающий способностью к полному мейотическому партеногенезу, которая оказалась утраченной в существующих клонах, выведенных более 30 лет назад. С получением клона Р14 восстанавливается направление в селекции тутового шелкопряда, целью которого является создание партенозиготической популяции с возможностью клонирования и освобождения от леталей любого генотипа, входящего в нее.

2. С помощью трех основанных на партеногенезе оценок потенциала развития зрелых ооцитов клона Р14 показано отсутствие их эквипотенциальности вдоль овариолы, что подтверждает выявленную ранее на трансплантационных клонах овогенетическую изменчивость. Последняя может входить нестохастическим компонентом в состав «онтогенетического шума».

Библиографический список

1. Алтухов Ю. П. Положительная корреляция между уровнем индивидуальной гетерозиготности и способностью к полному термическому партеногенезу у тутового шелкопряда / Ю. П. Алтухов, В. В. Клименко // Доклады АН СССР. – 1978. – Т. 239, № 2. – С. 460–462.

2. Астауров Б. Л. Фенотипическая изменчивость гомодинамичных частей в пределах организма / Б. Л. Астауров // Тр. Всесоюзн. съезда по генет., селек., семенов. и племен. животнов. – Л., 1930. – Т.2. – С. 154–162.

3. Астауров Б. Л. Искусственный партеногенез и андрогенез у шелковичного червя / Б. Л. Астауров // Бюлл. ВАСХНИЛ. – 1936. – № 12. – С. 47–52.

4. Астауров Б. Л. Искусственный партеногенез у тутового шелкопряда / Б. Л. Астауров. – М.-Л. : Изд-во АН СССР, 1940. – 240 с.

5. Астауров Б. Л. Цитогенетика развития тутового шелкопряда и ее экспериментальный контроль / Б. Л. Астауров. – М. : Наука, 1968. – 102 с.

6. Астауров Б. Л. Отбор по способности к термическому искусственному партеногенезу и получение улучшенных по этому признаку партеноклонов у шелковичного червя / Б. Л. Астауров // Генетика. – 1973. – Т. 9, № 9. – С. 93–106.

7. Клименко В. В. Элиминационный хроматин и искусственный партеногенез у тутового шелкопряда / В. В. Клименко, Т. Л. Спиридонова // Цитология. – 1979. – Т. 21, № 7. – С. 793–799.

8. Клименко В. В. Внутриклональная изменчивость тутового шелкопряда / В. В. Клименко, В. Ю. Забелина, Н. Г. Лысенко // Материалы международной молодежной конференции, посвященной памятной дате – 75-летию со дня рождения академика Ю.П.Алтухова, Москва, 17–18 ноября 2011 г. – М. : Цифровичок, 2011. – С. 161–162.

9. Клименко В.В. Онтогенетический шум и овогенетическая изменчивость / В. В. Клименко, Н. Г. Лысенко // Досягнення і проблеми генетики, селекції та біотехнології: зб. наук. пр. – 2012. – Т.4. – С. 89–94.

10. Плугару И. Г. Выявление перспективных гибридов тутового шелкопряда с помощью термического партеногенеза шелкопряда / И. Г. Плугару, Р. И. Плугару, В. А. Головко и др. // Известия АН Республики Молдова. Биологические и химические науки. – 1993. – №3. – С. 12–16.

11. Струнников В. А. Генетические методы селекции и регуляции пола тутового шелкопряда / В. А. Струнников. – М. : Агропромиздат, 1987. – 327 с.

12. Терская Н. Р. Методы активации яиц тутового шелкопряда к мейотическому партеногенезу / Н. Р. Терская, В. А. Струнников // Докл. АН СССР. – 1974. – Т. 219, № 5. – С. 1238–1241.

13. Tazima Y. The silkworm: an important laboratory tool. – Tokyo : Kodansha, 1978. – 307 p.

14. Zabelina V. Ovary transplantation in the silkworm Bombyx mori L.: parthenocloning by eggs produced in male recipient / V. Zabelina, V. Klymenko // Sericologia. – 2008. – Issue 48, № 2. – P. 123–128.

ПОВНИЙ МЕЙОТИЧНИЙ ПАРТЕНОГЕНЕЗ У ВИВЧЕННІ ОВОГЕНЕТИЧНОЇ МІНЛИВОСТІ ШОВКОВИЧНОГО ШОВКОПРЯДУ BOMBYX MORI L.

Лисенко Н.Г., Лян Хаоюань, Клименко В.В., Харьківський національный університет імені В.Н. Каразіна

При гібридизації з клоном Р29 отримано партеноклон зі здатністю до повного мейотичного партеногенезу, що дає можливість використання в селекції шовковичного шовкопряда абсолютно гомозиготних самців для очищення матеріалу від летальних генів. Трьома різними підходами, що ґрунтуються на різних типах партеногенезу, показано відсутність еквіпотенціальності розвитку яєць уздовж ovаріоли, і тим самим підтверджено наявність овогенетичної мінливості в клонах, одержуваних за методом Астаурова.

Ключові слова: партеногенез, клонування, інтраклональна мінливість, гомозиготність, леталь, селекція, шовковичний шовкопряд.

COMPLETE MEIOTIC PARTHENOGENESIS IN OVOGENETIC VARIABILITY STUDIES IN THE SILKWORM BOMBYX MORI L.

Lysenko N.G, Liang Haoyuan, Klymenko V.V., V.N. Karazin Kharkiv National University

Through hybridization of the laboratory lines with clone P29 we selected parthenoclone P14 that has the ability for complete meiotic parthenogenesis. This gives us an opportunity to use absolutely homozygous males in silkworm breeding to clean selected material from lethal genes. Using three different variants of parthenogenesis we have shown absence of developmental equipotentiality of the eggs along ovarioles and thus confirmed oogenetic variability in clones produced by Astaurov method.

Key words: parthenogenesis, cloning, intraclonal variability, absolute homozygosity, lethal, selection, silkworm.

УДК 636.92.082.453.5:591.147

РЕЗУЛЬТАТЫ ПРИМЕНЕНИЯ СУРФАГОНА В ПРАКТИКЕ ИСКУССТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ КРОЛИКОВ

Лисин В.И., Сушко А.Б., к. с.-х. н.
Институт животноводства НААН

В статье представлены результаты искусственного осеменения кроликов с применением для индукции овуляции Сурфагона – синтетического нонапептида, агониста гонадотропин-релизинг гормона, использование которого для этих целей в кролиководстве мало изучено. Приведены результаты оплодотворяемости крольчих при искусственном осеменении как с применением Сурфагона, так и с применением традиционно используемых для индукции овуляции у кроликов препаратов гонадотропин-релизингового ряда – Фертагила и Рецептала. Полученные в условиях разных хозяйств экспериментальные данные показывают, что оплодотворяемость крольчих при искусственном осеменении с Сурфагоном достоверно не отличается от результатов осеменения с Фертагилом и Рецепталом.

Ключевые слова: **кролики, искусственное осеменение, индукция овуляции, гормональные препараты гонадотропин-релизингового ряда, сурфагон, оплодотворяемость.**

Необходимость применения гормональных препаратов в технологии искусственного осеменения (ИО) кроликов обусловлена некоторыми особенностями физиологии репродуктивной системы крольчих. Одной из этих особенностей является коитусзависимость [1]. Т.е. в естественных условиях овуляция у крольчих происходит только после срабатывания нейроэндокринного рефлекса, который инициируется процессом спаривания и приводит к выбросу лютеинизирующего гормона (ЛГ) [2]. ЛГ запускает процесс дозревания ооцитов и фолликулов, который завершается овуляцией через 10-12 ч после пика ЛГ. Поэтому при ИО обязательно проводят обработку самок гормональными препаратами, которые искусственно индуцируют процесс овуляции. В кролиководстве наиболее используемыми для этого препаратами являются Фертагил (действующее вещество – Гонадорелин – синтетический декапептид, идентичный натуральному гипоталамическому гонадотропин-релизинг гормону (ГнРГ) или люлиберину (ЛГРГ)) и Рецеп-