

Д.М. БОГДАНОВИЧ, С.Н. ПАЙТЕРОВ, С.А. САПСАЛЁВ,
Ю.К. КИРИКОВИЧ, В.В. ЖДАНОВИЧ, О.В. ПАЙТЕРОВА

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ КРИОФИЛАКТИКОВ ПРИ ЗАМОРОЗКЕ ЭМБРИОНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ПОЛУЧЕННЫХ МЕТОДОМ IN VITRO

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В статье представлены результаты изучения воздействия различных комплексов криофилактиков на сохранность и жизнеспособность эмбрионов млекопитающих, полученных методом *in vitro*, в процессе замораживания-оттаивания.

Установлено, что использование в качестве криопротектора смеси 20%-ного раствора ДМСО, 20%-ного раствора ЭГ совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени обеспечить сохранность и максимальный уровень дробления эмбрионов после их оттаивания – 88,2 и 80,0% соответственно.

Комплекс криофилактиков, состоящий из 20%-ного раствора ДМСО, 20%-ного раствора ЭГ и 30%-ного раствора сахарозы, обладает наибольшими протекторными свойствами: его применение обуславливает сохранность зародышей после их оттаивания на максимально высоком уровне среди всех исследуемых комплексов криофилактиков (88,9 %) с высоким уровнем дробления эмбриоматериала после деконсервации (75,0 %).

Ключевые слова: крупный рогатый скот, лабораторные мыши, ооцит, эмбрион, яичник.

D.M. BOGDANOVICH, S.N. PAITSERAU, S.A. SAPSALEV, Y.K. KIRIKOVICH,
V.V. ZHDANOVICH, O.V. PAITSERAVA

EFFICIENCY OF VARIOUS CRYOPHYLACTIC COMPLEXES FOR FREEZING MAMMALIAN EMBRYOS OBTAINED IN VITRO

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus
for Animal Breeding, Zhodino, Belarus*

The paper presents the results of study of effects of various complexes of cryophylactics on safety and viability of mammalian embryos obtained *in vitro* during freezing and thawing.

It was determined that mixture of 20% DMSO solution and 20% EG solution along with 0.7 M sucrose used as cryoprotector allows to ensure the maximum embryos safety and maximum level of cleavage after thawing – 88.2 and 80.0%, respectively.

Complex of cryophylactics consisting of 20% solution of DMSO, 20% EG solution and 30% solution of sucrose shows the highest protective properties: using this complex allows for preservation of embryos after thawing at the maximum highest level among all the studied complexes cryophylactics (88.9%) with a high level of embryo material cleavage after depre-servation (75.0%).

Keywords: cattle, laboratory mice, oocyte, embryo, ovary.

Введение. В настоящее время в республике всё большее значение приобретают интенсивные пути развития молочного скотоводства с использованием современных достижений генетики, селекции, биотехнологии и других биологических наук, что стало возможным благодаря применению последних разработок прогрессивных методов ускоренного размножения высокоценных племенных животных, к которым относится технология трансплантации эмбрионов, полученных *in vitro* [1]. Одним из главных её этапов является сохранение биополноценности полученных зародышей при их низкотемпературном криоконсервировании [2].

К основным криозащитным средам, используемым при витрификации зародышей, полученных в условиях *in vitro*, относят этиленгликоль (ЭГ) [3, 4, 5, 6], глицерин (ГЛ), диметилсульфоксид (ДМСО) и 1,2-пропандиол (1,2-PD) [4, 5, 7, 8, 9, 10]. По сравнению с медленным (программным) замораживанием сверхбыстрое охлаждение эмбриоматериала позволяет сократить длительность цикла криоконсервирования и свести к минимуму изменения объёма клеток на этапах замораживания и оттаивания, исключить образование кристаллов льда, что сводит к минимуму повреждения клеток. При этом эффективность витрификации зависит от концентрации криопротектора и сахарозы, продолжительности экспозиции в средах для крио- и деконсервирования. Кроме этого необходимо учитывать, что эмбрионы разных стадий деления обладают различной устойчивостью к отдельным этапам цикла криоконсервирования [4].

В соответствии с этим возникает необходимость в изучении воздействия различных комплексов криофилактиков на сохранность и жизнеспособность эмбрионов млекопитающих, полученных методом *in vitro*, в процессе замораживания-оттаивания.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», ГП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района, КСУП «Племенной завод Красная Звезда» Клецкого района, СПК «Агрокомбинат Снов» Несвижского района Минской области, п/х «Литвиново» Кобринского района Брестской области.

Получали ооциты согласно «Технологии получения эмбрионов *in vitro* с использованием метода прижизненной аспирации ооцитов у коров».

Исследовали влияние сочетаний ДМСО и ЭГ различных концентраций на сохранность и жизнеспособность эмбрионов при их консервировании. Зародыши после эквilibрации в среде с 5% ДМСО и 10% ЭГ в течение 5 минут переносили в среду для витрификации с содер-

жанием 10-, 20-, и 30%-го раствора ДМСО с добавлением 10-, 20- и 30%-го раствора ЭГ для каждого из разведений ДМСО соответственно + 0,7 М сахарозы.

При изучении влияния различных концентраций ДМСО и ГЛ на сохранность и жизнеспособность эмбрионов при их замораживании клетки после эквilibрации в среде с 5% ДМСО и 10% ГЛ в течение 5 минут переносили в среду для витрификации с содержанием 10-, 20- и 30%-го раствора ДМСО с добавлением 10-, 20- и 30%-го раствора ГЛ для каждого из разведений ДМСО соответственно + 0,7 М сахарозы.

Далее исследовали влияние различных концентраций ДМСО и 1,2-PD на сохранность и жизнеспособность эмбрионов при их витрификации. Зародыши после эквilibрации в среде с 5% ДМСО и 5% 1,2-PD в течение 5 минут переносили в среду для витрификации с содержанием 10-, 20- и 30%-го раствора ДМСО с добавлением раствора 1,2-PD 5, 10 и 15% для каждого из разведений ДМСО соответственно + 0,7 М сахарозы. Затем изучали влияние различных концентраций сахарозы с данными криофилактиками на сохранность и жизнеспособность эмбрионов при их криоконсервировании. I группа – клетки, витрификацию которых проводили в смеси 20% ЭГ с 20% ДМСО, II – 30% ГЛ с 20% ДМСО, III – 10% 1,2-PD с 20% ДМСО. Для всех групп клеток в среду для их замораживания добавляли раствор сахарозы в исследуемых концентрациях (25, 30, 35 %).

Эмбрионы всех групп выдерживали в среде для витрификации в течение 25-30 секунд. Заправляли в пайетты с 5 мкл среды витрификации, погружали в жидкий азот и хранили 5-7 суток. Во всех экспериментах соломинки оттаивали на водяной бане. Для удаления криопротектора эмбрионы переносили в раствор сахарозы с концентрацией 0,5 М, выдерживали в нём 10 мин. и затем трижды отмывали физиологической средой при комнатной температуре. Сохранность деконсервированных зародышей оценивали по морфологическим признакам. Жизнеспособность эмбрионов оценивали по их способности дробиться *in vitro* при культивировании в CO₂-инкубаторе.

Результаты эксперимента и их обсуждение. Данные эффективности использования растворов ДМСО и ЭГ различных концентраций при витрификации эмбрионов млекопитающих приведены в таблице 1.

Согласно данным таблицы, применение в качестве криопротектора смеси 20%-го раствора ЭГ и 20%-го раствора ДМСО совместно с 0,7М сахарозой (II опытная группа) позволяет в наибольшей степени, среди испытываемых разведений ЭГ и ДМСО, обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 88,2 %, что на 52,9 п. п., 29,4 и 17,6 п. п. выше по сравнению с I, III и IV опытными группами соответственно (P<0,1). В I опытной группе сохранность зародышей составила 35,3 %, что на 52,9 (P<0,01), 23,5 (P<0,1) и 35,3 (P<0,1) п. п. меньше по

сравнению с I, III и IV группами исследуемого эмбриоматериала соответственно.

Таблица 1 – Эффективность использования диметилсульфоксида и этиленгликоля при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | | |
|--|--------------------------|-----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | I | II | III | IV |
| Заморожено эмбрионов всего, n | 17 | 17 | 17 | 17 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 10/100 | 9/100 | 9/100 | 10/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 7/100 | 8/100 | 8/100 | 7/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, n | 17 | 17 | 17 | 17 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 10/100 | 9/100 | 9/100 | 10/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 7/100 | 8/100 | 8/100 | 7/100 |
| Сохранность после оттаивания, n/% | 6/35,3 ±11,59 | 15/88,2 ±7,8** | 10/58,8 ±11,93* | 12/70,6 ±11,04* |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 4/40,0 | 8/88,9 | 5/55,6 | 7/70,0 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 2/28,6 | 7/87,5 | 5/62,5 | 5/71,4 |
| Уровень дробления, n/% | 1/16,7 ±15,23 | 12/80,0 ±10,32** | 6/60,0 ±15,49* | 8/66,7 ±13,6* |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 1/25,0 | 7/87,5 | 3/60,0 | 5/71,4 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 0 | 5/71,4 | 3/60,0 | 3/60,0 |

Примечание: здесь и далее *P<0,1, **P<0,01.

Максимальный уровень дробления клеток отмечен во II опытной группе – 80,0 %, что на 63,3 п. п. (P<0,01) выше по сравнению с I, на 20,0 п. п. – с III и на 13,3 п. п. – с IV группами эмбрионов.

Данные эффективности использования растворов ДМСО и ГЛ различных концентраций при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведены в таблице 2.

Применение 30%-го раствора ГЛ и 20%-го раствора ДМСО совместно с 0,7М сахарозой (IV опытная группа) позволяет в наибольшей степени, среди испытуемых разведений ГЛ и ДМСО, обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 84,2 %, что на 13,6 п. п., 31,6 и 48,9 п. п. выше по сравнению с III, II и I опытными группами соответственно (P<0,1). В I группе сохранность зародышей после разморозки составила 35,3 %, что на 17,3, 35,3 (P<0,1) и 48,9 (P<0,01) п. п. ниже по сравнению с II, III и IV группами исследуемого эмбриоматериала. Максимальный уровень дробления клеток был в IV опытной группе – 75,0 %, что на 58,3 п. п. (P<0,01) выше по сравнению с I, на 15,0 п. п. – со II и на 8,3 п. п. – с III группами эмбрионов.

Таблица 2 – Эффективность использования диметилсульфоксида и глицерина при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | | |
|--|--------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| | I | II | III | IV |
| Заморожено эмбрионов всего, n | 17 | 19 | 17 | 19 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 10/100 | 10/100 | 9/100 | 11/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 7/100 | 9/100 | 8/100 | 8/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, n | 17 | 19 | 17 | 19 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 10/100 | 10/100 | 9/100 | 11/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 7/100 | 9/100 | 8/100 | 8/100 |
| Сохранность после оттаивания, n/% | 6/35,3 ±11,59 | 10/52,6 ±11,45 | 12/70,6 ±11,04* | 16/84,2 ±8,37** |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 4/40,0 | 5/50,0 | 7/77,8 | 9/81,8 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 2/28,6 | 5/55,6 | 5/62,5 | 7/75,0 |
| Уровень дробления, n/% | 1/16,7 ±15,23 | 6/60,0 ±15,49* | 8/66,7 ±13,6* | 12/75,0 ±10,82** |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 1/25,0 | 3/60,0 | 5/71,4 | 7/77,8 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 0 | 3/60,0 | 3/60,0 | 5/71,4 |

Результаты применения растворов ДМСО и 1,2 PD различных концентраций при витрификации эмбрионов приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Эффективность использования диметилсульфоксида и 1,2 пропандиола при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | | |
|--|--------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| | I | II | III | IV |
| Заморожено эмбрионов всего, n | 19 | 19 | 21 | 21 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 11/100 | 12/100 | 12/100 | 12/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 8/100 | 7/100 | 9/100 | 9/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, n | 19 | 19 | 21 | 21 |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 11/100 | 12/100 | 12/100 | 12/100 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 8/100 | 7/100 | 9/100 | 9/100 |
| Сохранность после оттаивания, n/% | 6/31,6 ±10,66 | 10/52,6 ±11,45 | 12/57,1 ±10,8* | 16/76,2 ±9,29** |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 4/36,4 | 6/50,0 | 7/58,3 | 9/75,0 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 2/25,0 | 4/57,1 | 5/55,6 | 7/77,8 |
| Уровень дробления, n/% | 1/16,7 ±15,22 | 6/60,0 ±15,49* | 8/66,7 ±13,6* | 12/75,0 ±10,82** |
| из них эмбрионов мышей, n/% | 1/25,0 | 3/50,0 | 5/71,4 | 7/77,8 |
| из них эмбрионов коров, n/% | 0 | 3/75,0 | 3/60,0 | 5/71,4 |

Применение смеси 10%-го раствора 1,2 PD и 20%-го раствора ДМСО совместно с 0,7М сахарозой (IV опытная группа) позволяет в наибольшей степени, среди испытываемых разведений, обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 76,2 %, что на 44,4

п. п., 23,6 и 19,1 п. п. выше по сравнению с I, II и III опытными группами соответственно ($P<0,1$). В I группе сохранность зародышей составила 32,6 %, что на 21,0 п. п., 25,5 ($P<0,1$) и 44,4 ($P<0,01$) п. п. меньше по сравнению со II, III и IV группами исследуемого эмбрионального материала.

Максимальный уровень дробления клеток отмечен в IV опытной группе – 75,0 %, что на 58,3 п. п., 15,0 и 8,3 п. п. выше по сравнению с I, II и III группами соответственно.

Данные эффективности использования растворов ДМСО и ЭГ в сочетании с сахарозой различной концентрации при витрификации эмбрионов мышей и крупного рогатого скота приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Эффективность использования диметилсульфоксида и этиленгликоля в комплексе с сахарозой при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|
| | I | II | III |
| Заморожено эмбрионов всего, п | 19 | 18 | 19 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 10/100 | 10/100 | 11/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 9/100 | 8/100 | 8/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, п | 19 | 18 | 19 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 10/100 | 10/100 | 11/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 9/100 | 8/100 | 8/100 |
| Сохранность после оттаивания, п/% | 12/63,2±11,06 | 16/88,9±7,4* | 16/84,2±8,36* |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 7/70,0 | 9/90,0 | 9/81,8 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 5/55,6 | 7/87,5 | 7/87,5 |
| Уровень дробления, п/% | 7/58,3±14,23 | 12/75,0±10,82 | 11/68,8±11,58 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 4/57,1 | 7/77,8 | 7/77,8 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 3/60,0 | 5/71,4 | 4/57,1 |

Наибольшее количество пригодных для культивирования зародышей оказалось во II опытной группе – 88,9 %, что на 25,7 и 4,7 п. п. больше, чем в средах I и III опытных групп ($P<0,1$). Использование 30% сахарозы при витрификации зародышей также способствует максимальному уровню их дробления – 75 %, что на 16,7 и 6,2 п. п. выше по сравнению с добавлением 25 и 35 % сахарозы.

Результаты эффективности добавления раствора сахарозы различных концентраций при витрификации зародышей в среду, состоящую из ГЛ и ДМСО, приведены в таблице 5. Использование 30%-го раствора ГЛ в комплексе с 20%-ным раствором ДМСО совместно с 30 % сахарозой (II опытная группа) позволяет в наибольшей степени, среди испытуемых разведений, обеспечить сохранность эмбрионального материала после его оттаивания – 81,3 %, что на 28,4 и 1,3 п. п. выше по сравнению с III и I опытными группами ($P<0,1$).

Таблица 5 – Эффективность использования диметилсульфоксида и глицерина в комплексе с сахарозой при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | |
|--|---------------------|---------------------|----------------------|
| | I | II | III |
| Заморожено эмбрионов всего, п | 17 | 16 | 15 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 9/100 | 9/100 | 8/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 8/100 | 7/100 | 7/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, п | 17 | 16 | 15 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 9/100 | 9/100 | 8/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 8/100 | 7/100 | 7/100 |
| Сохранность после оттаивания, п/% | 9/52,9±12,1 | 13/81,3±9,7* | 12/80,0±10,3* |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 5/55,6 | 7/77,8 | 6/75,0 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 4/50,0 | 6/85,7 | 6/85,7 |
| Уровень дробления, п/% | 5/55,6±16,56 | 9/69,2±12,8 | 8/66,7±13,6 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 3/60,0 | 5/71,4 | 4/66,7 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 2/50,0 | 4/66,7 | 4/66,7 |

Максимальный уровень дробления клеток также отмечен во II опытной группе – 69,2 %, что на 13,6 п. п. выше по сравнению с I и на 2,5 п. п. с III группами.

Результативность комплексного использования ДМСО, 1,2 PD и сахарозы различной концентрации приведена в таблице 6.

Таблица 6 – Эффективность использования диметилсульфоксида и 1,2-пропандиола в комплексе с сахарозой различной концентрации при витрификации эмбрионов млекопитающих

| Показатели | Группы эмбрионов | | |
|--|---------------------|----------------------|---------------------|
| | I | II | III |
| Заморожено эмбрионов всего, п | 13 | 15 | 14 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 7/100 | 8/100 | 7/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 6/100 | 7/100 | 7/100 |
| Оттаяно эмбрионов всего, п | 13 | 15 | 14 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 7/100 | 8/100 | 7/100 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 6/100 | 7/100 | 7/100 |
| Сохранность после оттаивания, п/% | 7/53,8±13,82 | 10/66,7±12,17 | 9/64,3±15,97 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 4/57,1 | 6/75,0 | 5/71,4 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 3/50,0 | 4/57,1 | 4/57,1 |
| Уровень дробления, п/% | 4/57,1±18,7 | 6/60,0±15,49 | 5/55,6±16,56 |
| из них эмбрионов мышей, п/% | 2/50,0 | 3/50,0 | 3/60,0 |
| из них эмбрионов коров, п/% | 2/50,0 | 3/75,0 | 2/50,0 |

Комплексное применение 10%-го раствора 1,2 PD и 20%-го раствора ДМСО совместно с 30 % сахарозой (II опытная группа) позволяет в

наибольшей степени обеспечить сохранность эмбриоматериала после его оттаивания – 66,7 %, что на 12,9 и 2,4 п. п. выше по сравнению с добавлением сахарозы в 25 и 35 % концентрации ($P < 0,1$). Максимальный уровень дробления клеток отмечен во II опытной группе – 60,0 %, что на 2,9 п. п. выше по сравнению с I и на 4,4 п. п. с III группами эмбрионов.

Установлено также, что сохранность и уровень дробления исследуемого заморожено-оттаянного биоматериала мышей и крупного рогатого скота достоверно не различались между собой.

Заключение. Результаты исследований показывают, что использование в качестве криопротектора комплекса криопротекторов 20%-го раствора ДМСО, 20%-го раствора ЭГ совместно с 0,7М сахарозой позволяет в наибольшей степени, среди испытуемых разведений, обеспечить сохранность и максимальный уровень дробления эмбрионов после их оттаивания – 88,2 и 80,0 % соответственно.

Комплекс криофилактиков, состоящий из 20%-го раствора ДМСО, 20%-го раствора ЭГ и 30%-го раствора сахарозы, обладает наибольшими протекторными свойствами: его применение обуславливает сохранность зародышей после их оттаивания на максимально высоком уровне среди всех исследуемых криозащитных комплексов (88,9 %) с высоким уровнем дробления эмбриоматериала после деконсервации (75,0 %).

Литература

1. Пайтеров, С. Н. Эффективность применения раствора мелоксикама в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / С. Н. Пайтеров, Д. М. Богданович // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы нац. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рожд. Заслуж. работника высшей школы РФ, Почетного профессора Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева, 20-21 сент. 2018 г. – Брянск : Брянский ГАУ, 2018. – С. 119-122.
2. Пайтеров, С. Н. Эффективность использования дексаметазона при криоконсервировании эмбрионов крупного рогатого скота / С. Н. Пайтеров, Д. М. Богданович // Актуальные проблемы ветеринарии и интенсивного животноводства : материалы нац. науч.-практ. конф., посвящ. 80-летию со дня рожд. Заслуж. работника высшей школы РФ, Почетного профессора Брянской ГСХА, д-ра вет. наук, проф. А. А. Ткачева, 20-21 сент. 2018 г. – Брянск : Брянский ГАУ, 2018. – С. 123-126.
3. Bautista, J. A. In vitro viability of mouse 8-cell embryos vitrified in mole solution ethylene glycol / J. A. Bautista, Y. Takahashi, H. Kanagava // Japan J. Vet. Res. – 1997. – Vol. 45, N 2. – P. 67-73.
4. Rapid freezing of mouse embryos in ethylene glycol at different preimplantation stages / S. Cseh [et al.] // Acta Vet. Hungarica. – 1996. – Vol. 44, N 4. – P. 457-465.
5. Day, M. L. A cytoplasmic cell cycle controls the activity of a K+ channel in preimplantation mouse embryos / M. L. Day, M. H. Johnson, D. J. Cook // The EMBO J. – 1998. – Vol. 17, N 7. – P. 1952-1960.
6. Leibo, S. P. Cryopreservation of gametes and embryos of non-domestic species / S. P. Leibo, V. Songsasen // Theriogenology. – 2002. – Vol. 57, N 1. – P. 303-326.
7. Friedler, S. Cryopreservation of embryos and ova / S. Friedler, L. C. Ciudice, E. I. Lamb // Fertil. Steril. – 1988. – Vol. 49, N 5. – P. 743-764.

8. Nakao, K. Simple and efficient vitrification procedure for cryopreservation of mouse embryos / K. Nakao, N. Nakagata, M. Katsuki // *Exp. Anim.* – 1997. – Vol. 46, N 3. – P. 231-234.

9. Shaw, J. M. Evaluation of propanediol, ethylene glycole, sucrose and antifreeze proteins on the survival of slow-cooled mouse pronucleare and 4-cell embryos / J. M. Shaw, C. Ward, A. O. Trounson // *Hum. Reprod.* – 1995. – Vol. 10, N 2. – P. 396-402.

10. Trounson, A. O. Ultrarapid freezing a new low-cost and effective method of embryo cryopreservation / A. O. Trounson, A. Peura, C. Kirby // *Fertil. Steril.* – 1987. – Vol. 48, N 5. – P. 843-850.

11. Embryonic behavior of two-cell mouse embryos frozen by the one- and two-step ultrarapid techniques / S. Vasuthevan, S. C. Ng, A. Bongso, S. S. Ratnam // *J. Assist. Reprod. Genet.* – 1992. – Vol. 9, N 2. – P. 545-550.

12. Gurtuvenko, A. A. Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimethylsulfoxide / A. A. Gurtuvenko, J. Anwar // *J. Phys. Chem. B.* – 2007 – Vol. 6, N. 111. – P. 10453-10460.

Поступила 13.03.2020 г.

УДК 636.5.033+574/577

Ю.В. БОНДАРЕНКО, А.Н. КАЛАШНИК, В.В. ПОПСУЙ

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ФОРМЫ ГРЕБНЯ ДОМАШНИХ КУР РОДА GALLUS

Сумской национальной аграрный университет, г. Сумы, Украина

В статье обобщены работы по генетической детерминации мутантных форм гребня домашних кур и в сравнительном аспекте приведён фенотипический состав отечественных и импортных пород птицы по данному маркерному признаку. Описан плейотропный эффект серии аллелей R-r на воспроизводительные качества полтавских глинистых кур.

Показана эффективность использования половых различий в величине гребешков для определения пола молодых бройлеров и цыплят борковской мясо-яичной популяции. Средняя точность сексирования 5-недельного молодняка мясных и мясо-яичных по фенотипу гребня составила 100,0 % при скорости сортировки около 1000 гол/час. Приведены комплексные генотипы различных фенотипов гребня и общая схема наследственного контроля variability формы кожных придатков головы у представителей четырех видов рода Gallus.

Ключевые слова: форма гребня, комплексный генотип, половой диморфизм, точность сексирования цыплят, плейотропный эффект.

Y.V. BONDARENKO, A.N. KALACHNIK, V.V. POPSUY

GENETIC PECULIARITIES OF COMB SHAPE OF GALLUS POULTRY

Sумы National Agrarian University, Sумы, Ukraine

The paper summarizes work on genetic determination of mutant shapes of poultry comb, and, in comparative aspect, the pheno-pool of domestic and imported poultry breeds is provided according to this marker. pleiotropic effect of a series of R-r alleles on reproductive