

О РАЗВЕДЕНИИ, МЕЖВИДОВОЙ ГИБРИДИЗАЦИИ И СОХРАНЕНИИ ГЕНОФОНДОВ ПУШНЫХ ЗВЕРЕЙ, ИМЕЮЩИХ ОБЛИГАТНУЮ ЭМБРИОНАЛЬНУЮ ДИАПАУЗУ

Г.К. Исакова

Учреждение Российской академии наук Институт цитологии и генетики
Сибирского отделения РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: isakova@bionet.nsc.ru

Цитогенетические исследования облигатной эмбриональной диапаузы (задержанной имплантации) у норки, соболя и западного пятнистого скунса показали, что во время диапаузы в зародышах идет активный процесс роста и дифференцировки клеток трофобласта. Это означает, что стадия задержанной имплантации важна для успешного течения беременности в ее природном проявлении. Этот факт следует учитывать при разработке программ по разведению, межвидовой гибридизации и сохранению генофондов животных, имеющих облигатную диапаузу.

Ключевые слова: куньи, разведение, сохранение генофондов, облигатная эмбриональная диапауза, задержанная имплантация, трофобласт, плацента.

Разведение пушных зверей в условиях ферм в течение нескольких десятков лет дало возможность хорошо изучить физиологию их репродукции. Однако некоторые важные аспекты репродукции, и в том числе облигатная эмбриональная диапауза, присущая некоторым видам куньих, все еще остаются открытыми для исследований (Murphy, 1992).

Облигатная эмбриональная диапауза (обязательная задержка имплантации зародышей в матку на определенный для данного вида срок) является наследуемым свойством вида, и она широко распространена у млекопитающих. Больше всего видов с диапаузой обнаружено в семействе куньих *Mustelidae*. Свойства диапаузы (продолжительность, гормональный статус и контроль и др.) видоспецифичны и отличаются у видов в пределах семейств, подсемейств и родов (обзоры: Sandell, 1900; Mead, 1989; Renfree, Shaw, 2000).

Некоторые виды куньих, разводимые на фермах (американская норка, соболь, куница, выдра), имеют облигатную диапаузу. Поскольку задержанную имплантацию принято считать стадией эмбрионального покоя, то предполагается, что при воздействии на беременных самок специальными внешними факторами (фотопериод,

гормоны) можно вызвать досрочную имплантацию и тем самым сократить срок беременности и затраты на содержание животных. Предполагается также, что путем межвидовой гибридизации животных, имеющих облигатную диапаузу, можно получить особей с новой интересной окраской меха и улучшенным качеством шкурки. Однако до сих пор не было получено четкого ответа на вопросы: 1) возможно ли сократить период диапаузы с помощью внешних индуцирующих факторов, не причинив при этом ущерб репродуктивной функции животного; 2) возможен ли успех в гибридизации видов животных, если один из них или оба имеют облигатную диапаузу. Очевидно, что для ответа на эти вопросы необходимо иметь более полное представление о природе этого загадочного явления.

Сигналом к окончанию диапаузы и началу имплантации предположительно является сезонное изменение фотопериода, воздействующее на зародыш через нейрогормональную систему матери (Hansson, 1947; Mead, 1989, 1995; Desmarais *et al.*, 2004; Lopes *et al.*, 2004). Однако многочисленные эксперименты по содержанию норок, соболей и куниц при различных фотопериодических режимах показали, что, хотя щенение может произойти несколько-

ми днями раньше, при этом увеличивается эмбриональная и (или) постнатальная смертность потомков (Pearson, Enders, 1944; Hansson, 1947; Старков, 1947; Enders, 1952; Aulerich *et al.*, 1963; Беляев и др., 1961, 1963). В то же время в опытах И.Д. Старкова (1947) и Д.К. Беляева с соавт. (1961) было замечено, что запуск имплантации определяется не только фотопериодом, но и биологическим ритмом материнского организма. Б.Д. Мёрфи полагает, что для возобновления развития диапаузных зародышей необходим специальный сигнал из матки (Murphy, 1992). Более того, исследования периимплантационного периода у косули (Lambert *et al.*, 2001) и норки (Desmarais *et al.*, 2004) показали, что в инициации имплантации участвует геном зародыша. Таким образом, механизм запуска имплантации после диапаузы все еще остается открытым для изучения. Ясно, что для его полного понимания и (если удастся) контроля потребуется еще много усилий и времени.

К настоящему времени накоплено довольно много данных об активности репродуктивной системы матери во время задержки имплантации (Mead, 1989, 1995; Renfree, Shaw, 2000). Что касается развития зародышей, то таких сведений крайне мало. В середине прошлого века были проведены исследования нескольких зародышей норки, соболя, морского котика и алтайского крота. На гистологических срезах или давленных препаратах ранних бластоцист было обнаружено угнетение митоза и синтеза нуклеиновых кислот. На основании этих не вполне убедительных данных было принято рассматривать облигатную диапаузу как стадию эмбрионального покоя.

Для того чтобы уточнить существующее представление о состоянии эмбриогенеза во время диапаузы, мы применили цитогенетический подход. На монослойных суспензионных цитологических препаратах было проведено изучение активности эмбрионального генома в клетках диапаузных бластоцист у трех видов животных из семейства кунных: американской норки (Исакова, Жоголева, 1997; Исакова, Шилова, 2000, 2003; Исакова и др., 2001), соболя (Исакова, 2004) и западного пятнистого скунса (Isakova, Mead, 2004). Как оказалось, у всех трех видов во время диапаузы подавлены митотическая активность и синтез нуклеиновых кислот в

клетках собственно зародыша (внутренней клеточной массы (ВКМ)). В то же время в клетках трофобласта идут синтез нуклеиновых кислот, образование эндополиплоидных клеток, прямое (амитотическое) деление некоторых из них и увеличение числа клеток. К началу имплантации число клеток в бластоцисте составляет приблизительно 20 тыс. По мере роста бластоцист увеличивается разнообразие по диаметру ядер клеток трофобласта от 6 до 35 мкм, идет увеличение доли гигантских ядер, а также увеличение доли ядер с резко повышенной активностью синтеза рРНК. Эти данные свидетельствуют об активном росте и дифференцировке клеток трофобласта. У животных без облигатной диапаузы начинающие имплантироваться бластоцисты содержат 50–100 клеток. Из этих данных следует, что у животных с облигатной диапаузой трофобласт, который вносит основной вклад в образование плаценты, развивается по другой генетически заданной временной программе, и именно эта программа обеспечивает успешную имплантацию. Поэтому воздействия на беременных самок специальными факторами с целью вызвать досрочную имплантацию должны вести к неполному развитию трофобласта, нарушению образования плаценты и срыву беременности.

Что касается прогнозов в отношении успеха межвидовых скрещиваний, в которые вовлекаются животные с облигатной диапаузой, то данные классической и современной экспериментальной эмбриологии позволяют делать такие прогнозы (обзоры: Корочкин, 1999, 2002). Из этих данных следует, что фактором успешного развития межвидовых гибридных зародышей выступает совпадение в хронологии событий эмбриогенеза у животных скрещиваемых видов. Несовпадение же этих хронологий ведет к аномалиям развития или гибели потомков в эмбриональном и (или) постнатальном периоде. Этот тезис подтверждается фактом существования в природе гибридов соболя и куницы, так называемых «кидусов» (Терновский, Терновская, 1994). Оба вида имеют облигатную диапаузу, причем сезон спаривания и длительность диапаузы почти совпадают. То же можно сказать об успешной гибридизации хорька с европейской норкой (Терновский, Терновская, 1994). У обоих видов нет диапаузы, а сезоны спаривания и

продолжительность беременности перекрываются. Однако во всех вариантах экспериментов по перекрестным пересадкам яиц в матку между американской норкой и хорьком зародыши дегенерировали до или после имплантации (Chang, 1968). Возможной причиной этого является различие в хронологиях их эмбриогенезов. У норки беременность длится от 43 до 74 дней (в среднем 50 дней), а диапауза в среднем две недели (Hansson, 1947). У хорька же срок беременности длится 42–44 дня и нет диапаузы (Daniel, 1970; Исакова, 2010). Безуспешными оказались также попытки получить гибридов между европейской норкой и американской норкой (Терновский, Терновская, 1994).

Таким образом, наши цитогенетические исследования показали, что стадия задержанной имплантации необходима для успешного течения беременности в ее природном проявлении. Этот факт следует учитывать при разработке программ по содержанию, разведению и сохранению генофондов животных, имеющих облигатную эмбриональную диапаузу. Во-первых, в зоопарках и на фермах не следует снижать пищевой рацион животных во время диапаузы. Во-вторых, в природопользовании следует определять сезон охоты с учетом хронологии эмбриогенеза у данного вида животных. Например, так называемый ложный гон у соболя – важный период, так как он связан с началом имплантации. Было замечено, что при низкой сексуальной активности самцов в этот период снижается плодовитость самок. Поэтому отлов самцов во время ложного гона может быть причиной снижения численности популяции соболей. В-третьих, при консервации гамет и эмбрионов следует учитывать возможность влияния облигатной диапаузы на успех консервации. В-четвертых, скрещивания двух видов животных, при которых только один из них имеет облигатную диапаузу или если каждый вид имеет период диапаузы, но эти периоды значительно отличаются по продолжительности, не могут быть успешными из-за генетически обусловленных различий в хронологии их эмбриогенезов. И наконец, воздействия на самок гормонами или измененным фотопериодом не следует использовать в звероводстве, так как они влияют на генетически заданную хронологию эмбриогенеза и могут привести к гибели эм-

брионов или появлению потомков с аномалиями развития. Кроме того, нет оснований исключать возможность вредного воздействия этих факторов на жизнеспособность и репродуктивную функцию потомков обработанных животных.

Литература

- Беляев Д.К., Клочков Д.В., Железова А.И. Влияние световых условий на воспроизводительную функцию и плодовитость норок (*Mustela vison*, Schreb.) // Бюл. МОИП. 1963. Т. 27. С. 107–125.
- Беляев Д.К., Перельдик Н.Ш., Портнова Н.Т. Экспериментальное сокращение периода эмбрионального развития у соболей // Журн. общ. биологии. 1961. Т. 12. С. 260–265.
- Исакова Г.К. Об активности эмбрионального генома соболя на стадии задержанной имплантации (цитогенетическое исследование) // Докл. РАН. 2004. Т. 397. № 1. С. 128–130.
- Исакова Г.К. Цитогенетическое исследование активности эмбрионального генома хоря перед имплантацией // Онтогенез. 2010. Т. 41. № 3. С. 228–231.
- Исакова Г.К., Жоголева Н.Н. Активность эмбрионального генома норки во время диапаузы (цитогенетический анализ). Число клеток и размер клеточных ядер в бластоцистах разного размера и возраста // Генетика. 1997. Т. 33. № 6. С. 822–830.
- Исакова Г.К., Захаренко Л.П., Абрамова М.П. Активность эмбрионального генома норки во время диапаузы (цитогенетический анализ). Ядрышко-вый и внеядрышковый синтез РНК // Онтогенез. 2001. Т. 32. № 4. С. 302–308.
- Исакова Г.К., Шилова И.Э. Размножение «почкованием» клеток трофобласта в имплантирующихся бластоцистах норки // Докл. АН. 2000. Т. 371. № 1. С. 129–131.
- Исакова Г.К., Шилова И.Э. Соотношение частот двух форм amitotического деления ядер клеток трофобласта в бластоцистах норки в течение периода задержанной имплантации // Изв. РАН. 2003. Сер. биол. № 4. С. 395–398.
- Корочкин Л.И. Введение в генетику развития. М.: Наука, 1999. 253 с.
- Корочкин Л.И. Связь онто- и филогенеза в генетическом освещении. Проблема макромутаций (морфологический и молекулярный аспекты) // Генетика. 2002. Т. 38. С. 727–738.
- Старков И.Д. Биология и разведение соболей и куниц. М.: Междунар. кн., 1947. 97 с.
- Терновский Д.В., Терновская Ю.Г. Экология куницеобразных. Новосибирск: Наука, 1994. 222 с.
- Aulerich R.J., Holcomb L., Ringer R.K., Schaible J.

- Influence of photoperiod on reproduction in mink // Quart. Bul. East Lansing: Michigan State Univ. Press. 1963. V. 46. P. 32–138.
- Chang M.C. Reciprocal insemination and egg transfer between ferrets and mink // J. Exp. Zool. 1968. V. 168. P. 49–60.
- Daniel J.C., Jr. Coincidence of embryonic growth and uterine protein in the ferret // J. Embryol. Exp. Morph. 1970. V. 24. P. 305–312.
- Desmarais J., Lopes F.L., Bordignon V., Murphy B.D. Diapause, implantation and placentation in the mink: A critical role for embryonic signaling // Scientifur. 2004. V. 28. P. 211–217.
- Enders R.K. Reproduction in the mink (*Mustela vison*) // Proc. Am. Phil. Soc. 1952. V. 96. P. 691–755.
- Hansson A. The physiology of reproduction in mink (*Mustela vison*, Schreb.) with special reference to delayed implantation // Acta Zool. 1947. V. 28. P. 1–136.
- Isakova G.K., Mead R.A. Occurrence of amitotic division of trophoblast cell nuclei in blastocysts of the western spotted skunk (*Spilogale putorius latifrons*) // Hereditas. 2004. V. 104. P. 177–184.
- Lambert R.T., Ashworth C.J., Beattie L.Z. *et al.* Temporal changes in reproductive hormones and conceptus-endometrial interactions during embryonic diapause and reactivation of the blastocysts in European roe deer (*Capreolus capreolus*) // Reproduction. 2001. V. 121. P. 863–871.
- Lopes F.L., Desmarais J.A., Murphy B.D. Embryonic diapause and its regulation // Reproduction. 2004. V. 128. P. 669–678.
- Mead R.A. The physiology and evolution of delayed implantation in carnivores // Carnivore Behavior, Ecology, and Evolution / Ed. J.L. Gittleman. N.Y.: Cornell Univ. Press, 1989. P. 437–464.
- Mead R.A. Hormonal control of implantation in some carnivores // Molecular and Cellular Aspects of Periimplantation Processes / Ed. S.K. Dey. N.Y.: Springer-Verlag, 1995. P. 168–182.
- Murphy B.D. Progress and challenges in the physiology of reproduction in furbearing carnivores // Norveg. J. Agric. Sci. 1992. Suppl. 9. P. 17–29.
- Pearson O.P., Enders R.K. Duration of pregnancy in certain mustelids // J. Exp. Zool. 1944. V. 95. P. 21–35.
- Renfree M.B., Shaw G. Diapause // Annu. Rev. Physiol. 2000. V. 62. P. 353–375.
- Sandell M. The evolution of seasonal delayed implantation // Quart. Rev. Biol. 1990. V. 65. P. 23–42.

ON BREEDING, INTERSPECIES HYBRIDIZATION, AND PRESERVATION OF THE GENE POOLS OF FURBEARING CARNIVORES THAT HAVE AN OBLIGATE EMBRYONIC DIAPAUSE

G.K. Isakova

Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia,
e-mail: isakova@bionet.nsc.ru

Summary

Our cytogenetic studies on obligate embryonic diapause (delayed implantation) in the mink, sable, and western spotted skunk have shown that the active process of growth and differentiation of trophoblast takes place during diapause. This indicates that the stage of delayed implantation in its native appearance is important for the successful course of pregnancy. This finding should be taken into consideration in developing programs for breeding, interspecies hybridization, and preservation of the gene pools of furbearing carnivores that have an obligate embryonic diapause.

Key words: Mustelides, breeding, gene pools preservation, obligate embryonic diapause, delayed implantation, trophoblast, placenta.