

ЯЄЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ EGFP-ТРАНСГЕННИХ КАЧОК

П. В. КОРОЛЬ, аспірант*,

<https://orcid.org/0000-0002-3866-4246>

Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН

E-mail: vbrj@ukr.net

С. О. КОСТЕНКО, доктор біологічних наук, професор кафедри генетики,
розведення та біотехнології тварин,

<https://orcid.org/0000-0002-7816-3374>

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: svitlanakasijan@ukr.net,

О. М. КОНОВАЛ, кандидат біологічних наук,

<https://orcid.org/0000-0003-4955-8040>

Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК Національного
університету біоресурсів та природокористування України

E-mail: oxanakonoval@ukr.net,

Л. ЛУ, доктор біологічних наук, професор

<https://orcid.org/0000-0001-9701-131X>

Інститут тваринництва і ветеринарії Чжецьзянської академії
сільськогосподарських наук

E-mail: lulizhibox@163.com,

Л. ЛІ, старший інженер-селекціонер та генеральний менеджер,

<https://orcid.org/0000-0002-6604-241X>

Zhuji Guowei Poultry Development Co, Ltd, China

E-mail: liliumengok@126.com

Анотація. У статті представлені результати аналізу яєчної продуктивності двох поколінь трансгенних качок (ТК) по гену EGFP. ТК були отримані шляхом переносу чужорідної ДНК за допомогою сперматозоїдів. Яєчну продуктивність ТК першого покоління (дослідна група) порівнювали з продуктивністю нетрансгенних качок (контрольна група) такого ж віку і лінії. В досліді використали 14 качок (7 трансгенних – у дослідній групі і 7 нетрансгенних – у групі контролю). Всього проаналізовано 800 яєць (по 400 в кожній групі) за показниками: маса, довжина і ширина яйця, індекс форми яйця, товщина та міцність яєчної шкаралупи, статева зрілість. Продуктивність дослідної групи щодо маси яйця склала 65.85 ± 0.22 г, контрольної – 69.70 ± 0.23 г. Довжина і ширина яйця в дослідній групі була 5.92 ± 0.01 і 4.41 ± 0.01 см, в контрольній – 6.01 ± 0.01 і 4.50 ± 0.01 см. Індекс форми яйця в дослідній групі склав 74.50 ± 0.17 %, в контрольній – 74.93 ± 0.16 %. Товщина

* Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин С. О. Костенко

шкарлупи в дослідній групі була 473.80 ± 1.30 мкм, в контрольній – 450.10 ± 1.20 мкм. Міцність шкарлупи була 4839.90 ± 125.02 г в дослідній групі та 4789.13 ± 38.43 г – в контрольній. Статева зрілість в дослідній групі настала на 147.86 ± 21.20 день, в контрольній – на 146.14 ± 23.51 день. Таким чином дослідна група поступалась групі контролю за масою яйця на 5.52 % (3.85 г) та за індексом форми на 0.43 %, при цьому переважала за товщиною шкарлупи на 5.27 % (23.70 мкм), за міцністю шкарлупи – на 1.06 % (50.77 г), та за статевою зрілістю – на 1.18 % (1.72 дні). В другому поколінні продуктивність 20 ТК (нащадків ТК першого покоління) порівняли з продуктивністю 20 нетрансгенних качок такого ж віку і лінії. Дослідна група (ТК) поступалась контрольній (нетрансгенні) за живою масою на 3.62 % (56.9 г); індексом форми – на 0.24 %, при цьому переважала контрольну групу за масою яйця на 0.26 % (0.18 г) та за несучістю – на 0.94 %. В результаті проведених досліджень видно, що ТК не мають явних відмінностей від своїх нетрансгенних аналогів, тобто вбудована транс генна конструкція не вплинула на показники, які аналізували в даному дослідженні.

Ключові слова: несучість, трансгенна птиця, морфометричні показники яйця, ген *EGFP*, порода *shaoxing*, качка

Актуальність дослідження.

Створення трансгенних тварин на сьогодні стало рутинною технологією, яка дозволяє отримувати особин різних видів з унікальними можливостями для використання у різних сферах виробництва. Однак, до цього часу залишаються невирішеними питання, які стосуються різних аспектів їх використання, у тому ж числі репродуктивної здатності. Тому аналіз яєчної продуктивності качок з репортерним геном *EGFP*, отриманих шляхом переносу трансгенної конструкції зі спермою, дає змогу визначити вплив чужорідного гена на морфометричні показники яєчної продуктивності, що, в свою чергу, дозволить прогнозувати майбутню продуктивність трансгенного стада створеного за такою самою технологією.

Аналіз останніх досліджень та публікацій.

Сучасні селекційні досягнення щодо несучості птиці наближаються

до фізіологічної межі (Коршунова та ін., 2013). Це свідчить про те, що галузь яєчного птахівництва впритул підійшла до використання новітніх біотехнологій, в тому числі, до застосування методів генної інженерії. Птиця має наступні переваги перед іншими видами свійських тварин: короткий генераційний інтервал, простота розмноження трансгенного стада, здатність продукувати білки, які є токсичними для клітин ссавців і знижену імуногенність очищеного продукту (Lillico et al., 2005).

Трансгенні технології в птахівництві зосередженні за наступними напрямом: створення птиці з покращеними господарсько-корисними ознаками; отримання генетично стійкої птиці до інфекційних захворювань та використання трансгенної птиці в якості продуцентів рекомбінантних білків для фармакологічної індустрії (Lillico et al., 2007). Виробництво рекомбінантних білків було продемонстровано у овець, кіз, великої рогатої худоби, кролів (Duck et al., 2003,

Hunter et al., 2005) та курей (Koo et al., 2017). Качині яйця порівняно з курячими, мають більшу масу та більший вміст білка (Arthur, 2017), тому мають перевагу для виробництва рекомбінантних білків.

Качки породи Шаосінь (Shaoxing), яких ми використали в даному дослідженні характеризуються високими показниками яєчної продуктивності. Початок яйцекладки настає у віці 130 - 140 днів. У середньому одна качка за 500 днів життя дає від 290 до 310 яєць (Shaoxing Ducks, 2012).

Мета дослідження – вивчити вплив інтеграції чужорідної ДНК в геном на показники яєчної продуктивності качок.

Матеріали і методи дослідження.

Для досліді використали два покоління трансгенних качок породи Шаосінь (Shaoxing) за геном EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein), отриманого методом переносу чужорідної ДНК за допомогою сперматозоїдів. Качки утримувалися в індивідуальних клітках у віварії компанії Zhuji Guowei Poultry Development Co, Ltd (Zhuji, China), яка являється науковою платформою Інституту тваринництва та ветеринарії, Чжецьзянської академії аграрних наук (Hangzhou, China).

В досліді аналізували основні показники яєчної продуктивності качок: маса яйця (г), довжина та ширина яйця (см), індекс форми яйця (%), товщина шкаралупи яйця (мкм), міцність шкаралупи яйця (кг), також аналізували живу масу качок (г), несучість (%) та статеву зрілість або вік знесення першого яйця (днів).

Довжину та ширину яйця виміряли з точністю до 0,1 см штангенцир-

кулем. Індекс форми яйця визначали за формулою:

$$IF = \frac{Ш}{Д} \times 100, \quad (1)$$

де, IF – індекс форми, %;

Ш – ширина яйця або малий діаметр, см;

Д – довжина яйця або великий діаметр, см;

Несучість кожної качки визначали за формулою:

$$H = \frac{K}{T} \times 100, \quad (2)$$

де, H – несучість, %;

K – кількість знесених яєць за період, шт.;

T – тривалість періоду, днів.

Зважування яєць проводили на електронних вагах марки JM-A 20001 з точністю до 0,1 г. Товщину шкаралупи яйця вимірювали за допомогою приладу ECHOMETER 1061, міцність шкаралупи перевіряли за допомогою приладу Egg Shell Force Gauge Model – III.

Біометричну обробку експериментальних даних проводили відповідно до загальноприйнятих методик на ПК за допомогою «Microsoft Office Excel – 2016».

Аналіз продуктивності трансгенних качок першого покоління проводили за показниками: маса яйця, висота і ширина яйця, індекс форми яйця, товщина та міцність яєчної шкаралупи, вік знесення першого яйця або статева зрілість. В досліді використали 14 качок одного віку, батьки яких належали до однієї лінії (7 трансгенних – у дослідній групі і 7 нетрансгенних – у групі контролю). Всього було проаналізовано 800 яєць (по 400 в кожній групі).

Аналіз продуктивності трансгенних качок другого покоління про-

водили за показниками живої маси, маси яйця, висоти і ширини яйця, індексу форми яйця, та за несучістю. Для досліджу було відібрано 20 трансгенних качок та 20 нетрансгенних, яйця для аналізу відбирали один раз на тиждень, протягом 15 тижнів.

Результати досліджень.

Показники яєчної продуктивності трансгенних качок першого покоління (дослідна група) і їх нетрансгенних аналогів (контрольна група) показані у таблиці 1.

В результаті проведених досліджень дослідна група поступалась групі контролю: за масою яйця – на 3.85 г (5.52 %), за довжиною яйця – на 0.09 см (1.41 %), за шириною яйця – на 0.09 см (1.96 %), та за індексом форми – на 0.43 %. Водночас переважала за такими показниками, як товщина шкаралупи – на 23.70 мкм (5.27 %), міцність шкаралупи – на 50.77 г (1.06 %), та за статеву зрілістю – на 1.72 дні (1.18 %). Для визначення міцності шкаралупи відбирали не всі яйця, оскільки після перевірки яйця на міцність на шкаралупі залишаються тріщинки, які негативно

впливають на інкубацію, а в нашому випадку від трансгенних особин відбиралися майже всі яйця для отримання потомства.

З отриманих даних можна зробити висновок, що трансгенні качки майже не відрізнялись від своїх нетрансгенних аналогів, різниця в продуктивності варіювала від 1.06 % до 5.52 %. При цьому дослідна група качок за масою яйця (65.85 ± 0.22 г) відповідала стандарту по породі, а качки контрольної групи (69.70 ± 0.23 г) дещо переважали цей стандарт (62-68 г) (Shaoxing Ducks, 2012). Індекс форми яйця в обох групах був в межах стандарту (72-76 %). Вік статевої зрілості в обох групах качок був більшим, ніж за стандартом породи (130-140 днів).

Показники яєчної продуктивності трансгенних качок другого покоління (дослідна група) і їх нетрансгенних аналогів (контрольна група) показані у таблиці 2. У досліді аналізували яєчну продуктивність трансгенних нащадків качок, яких отримали внаслідок схрещування трансгенної птиці першого покоління з нетрансгенними качурами.

Дослідна група мала показники нижчі за контрольну за такими показниками: жива маса – на 56.9 г

1. Показники яєчної продуктивності качок першого покоління (F1)

Показники	Група		Стандарт по породі
	Дослідна, n = 400	Контрольна, n = 400	
Маса яйця, г	$65.85 \pm 0.22^*$	69.70 ± 0.23	62 – 68
Довжина яйця, см	$5.92 \pm 0.01^*$	6.01 ± 0.01	-
Ширина яйця, см	$4.41 \pm 0.01^*$	4.50 ± 0.01	-
Індекс форми яйця, %	$74.50 \pm 0.17^*$	74.93 ± 0.16	72 – 76
Товщина шкаралупи, мкм	$473.80 \pm 1.30^*$	450.10 ± 1.20	-
Міцність шкаралупи, кг	4839.90 ± 125.021	4789.13 ± 38.432	-
Статева зрілість, днів	147.86 ± 21.20	146.14 ± 23.51	130 – 140

Примітка: $p < 0.01$, 1 n = 81, 2 n = 384

2. Показники яєчної продуктивності качок другого покоління (F2)

Показники	Група		Стандарт по породі
	Дослідна	Контрольна	
Жива маса, г	1509.65 ± 26.20	1566.55 ± 47.68	1200 – 1500
Маса яйця, г	69.87 ± 0.26	69.69 ± 0.29	62 – 68
Довжина яйця, см	6.09 ± 0.01	6.08 ± 0.01	-
Ширина яйця, см	4.48 ± 0.01	4.49 ± 0.01	-
Індекс форми яйця, %	73.63 ± 0.15	73.87 ± 0.20	72 – 74
Несучість, %	90.63 ± 2.29	89.69 ± 3.15	> 85

(3.62 %); ширина яйця – на 0.01 см (0.22 %); індекс форми був меншим на 0.24 %. Водночас дослідна група переважала контрольну за масою яйця на 0.18 г (0.26 %), довжиною яйця – на 0.01 см (0.16 %) та за несучістю – на 0.94 %.

В другому поколінні трансгенні качки також не сильно відрізнялись від своїх нетрансгенних аналогів, різниця в продуктивності була в межах від 0.16 % до 3.62 %. За індексом форми яйця і несучістю дослідна і контрольна групи відповідали стандарту по породі, а за масою яйця і живою масою обидві групи переважали цей стандарт (Shaoxing Ducks, 2012).

Висновки та перспективи.

Виходячи з проведеного аналізу двох поколінь трансгенних качок, можна зробити висновок, що трансгенна конструкція не вплинула на яєчну продуктивність качок. Так, різниця в продуктивності в першому поколінні була в межах від 1.06 % за міцністю шкаралупи до 5.52 % - за масою яйця. У другому поколінні теж не було істотної різниці в продуктивності між дослідною і контрольною групами, діапазон відмінностей знаходиться в межах від 0.16 % за довжиною яйця до 3.62 % за живою масою.

Список використаних джерел

1. Коршунова, Л. Г., Карапетян, Р. В., Фисинин, В. И. Методы генетической модификации и селекция сельскохозяйственной птицы. Сельскохозяйственная биология. 2013. № 6. С. 3–15.
2. Lillico, S. G., McGrew, M. J., Sherman, A. and Sang H. M. Transgenic chickens as bioreactors for protein-based drugs. Drug Discovery Today. 2005. Volume 10, Number 3. P. 191–196. doi:10.1016/s1359-6446(04)03317-3
3. Lillico, S. G., Sherman, A., McGrew, M. J., Robertson, C. D., Smith, J., Haslam, C., Barnard, P., Radcliffe, P. A., Mitrophanous, K. A., Elliot, E. A., Sang, H. M. Oviduct-specific expression of two therapeutic proteins in transgenic hens. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2007. Vol. 104, No. 6. P. 1771–1776. doi:10.1073/pnas.0610401104
4. Dyck, M. K., Lacroix, D., Pothier, F. and Sillard, M. A. Making recombinant proteins in animals – different systems, different applications. Trends in Biotechnology. 2003. Vol. 21, No. 9. P. 394–399. doi:10.1016/s0167-7799(03)00190-2
5. Hunter, C. V., Tiley, L. S. and Sang, H. M. Developments in transgenic technology: applications for medicine. Trends in Molecular Medicine. 2005. Vol. 11, No. 6. P. 293–298. doi:10.1016/j.molmed.2005.04.001
6. Koo, B. C., Kwon, M. S., Kim, D., Kim, S. A., Kim, N. H. & Kim, T. Production of transgen-

- ic chickens constitutively expressing human erythropoietin (hEPO): Problems with uncontrollable overexpression of hEPO gene. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2017. Volume 22, Issue 1. P. 22–29. doi:10.1007/s12257-016-0590-x
7. Arthur, J. Duck Eggs. *Egg Innovations and Strategies for Improvements*. 2017. P. 23–32. doi:10.1016/b978-0-12-800879-9.00003-2
8. Shaoxing Ducks [S]: DB 33068/T 02.1-2012.– Zhuji: Zhuji Quality and Technique Supervision Bureau, 2012. (National Standard of China). – P. 40.
-
- References**
1. Korshunova, L. G., Karapetjan, R. V., Fisinin V. I. (2013). Metody geneticheskoy modifikacii i selekcija sel'skohozjajstvennoj pticy [Genetic modification methods and breeding of poultry]. *Agricultural Biology*. 6:3. 15.
2. Lillico, S. G., McGrew, M. J., Sherman, A., & Sang, H. M. (2005). Transgenic chickens as bioreactors for protein-based drugs. *Drug Discovery Today*. 10(3):191–196. doi:10.1016/s1359-6446(04)03317-3.
3. Lillico, S. G., Sherman, A., McGrew, M. J., Robertson, C. D., Smith, J., Haslam, C., Barnard, P., Radcliffe, P. A., Mitrophanous, K. A., Elliot, E. A., Sang, H. M. (2007). Oviduct-specific expression of two therapeutic proteins in transgenic hens. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104(6):1771–1776. doi:10.1073/pnas.0610401104.
4. Dyck, M. K., Lacroix, D., Pothier, F., & Sillard, M.-A. (2003). Making recombinant proteins in animals – different systems, different applications. *Trends in Biotechnology*. 21(9):394–399. doi:10.1016/s0167-7799(03)00190-2.
5. Hunter, C. V., Tiley, L. S., & Sang, H. M. (2005). Developments in transgenic technology: applications for medicine. *Trends in Molecular Medicine*. 11(6):293–298. doi:10.1016/j.molmed.2005.04.001.
6. Koo, B. C., Kwon, M. S., Kim, D., Kim, S. A., Kim, N.-H., & Kim, T. 2017. Production of transgenic chickens constitutively expressing human erythropoietin (hEPO): Problems with uncontrollable overexpression of hEPO gene. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 22(1):22–29. doi:10.1007/s12257-016-0590-x.
7. Arthur, J. (2017). Duck Eggs. *Egg Innovations and Strategies for Improvements*. 23–32. doi:10.1016/b978-0-12-800879-9.00003-2.
8. Shaoxing Ducks [S]: DB 33068/T 02.1-2012.– Zhuji: Zhuji Quality and Technique Supervision Bureau, 2012.– (National Standard of China). P.40.

P. V. Korol, S. O Kostenko, O. M. Konoval, Lizhi Lu, Liუმeng Li (2019). EGG PRODUCTIVITY OF EGFP-TRANSGENIC DUCKS. ANIMAL SCIENCE AND FOOD TECHNOLOGY, 10(3): 20-26. <https://doi.org/10.31548/animal2019.03.020>

Abstract. *The results of the analysis of egg production of two generations transgenic ducks (TD) by EGFP gene are presented in the article. TD were obtained by transferring foreign DNA using sperm (SMGT). The egg production of first-generation TD (experimental group) was compared with that of non-transgenic ducks (control group) of the same age and line. The experiment used 14 ducks (7 transgenic in the experimental group and 7 non-transgenic in the control group). A total of 800 eggs (400 in each group) were analyzed in terms of egg mass, egg height and width, egg shape index, egg shell thickness and strength, point of lay. The performance of the experimental group by egg weight was 65.85 ± 0.22 g, control 69.70 ± 0.23 g. The length and width of the egg in the experimental group was 5.92 ± 0.01 and 4.41 ± 0.01 cm, in the control 6.01 ± 0.01 and 4.50 ± 0.01 cm. The egg shape index in the experimental group was $74.50 \pm$*

0.17 %, in the control 74.93 ± 0.16 %. The shell thickness in the experimental group was 473.80 ± 1.30 μm , in the control 450.10 ± 1.20 μm . The strength of the shell was 4839.90 ± 125.02 g in the experimental group and 4789.13 ± 38.43 g in the control group. Point of lay in the experimental group was 147.86 ± 21.20 days, in the control group 146.14 ± 23.51 days. Thus, the experimental group was inferior to the egg weight control group by 5.52 % (3.85 g) and the shape index by 0.43 %, with a larger shell thickness of 5.27 % (23.70 μm), a shell strength of 1.06 % (50.77 g), and point of lay by 1.18 % (1.72 days). In the second generation, the performance of 20 TD (descendants of first generation TD) was compared to the performance of 20 non-transgenic ducks of the same age and line. The experimental group (TD) was inferior to the control (non-transgenic) by: live weight by 3.62 % (56.9 g); of the index of the form by 0.24 %, with the control group by weight of eggs by 0.26 % (0.18 g) and lay (by 0.94 %). The studies show that TD do not have clear differences from their non-transgenic analogues, that is, the effect of the transgene did not affect the parameters analyzed in this study.

Keywords: laying, transgenic bird, morphometric parameters of egg, EGFP gene, shaoxing breed, duck
