

УДК 57.017.642:599.322/324

РАННЯЯ ЭМБРИОНАЛЬНАЯ СМЕРТНОСТЬ У ВОДЯНОЙ ПОЛЕВКИ (*Arvicola terrestris* L.)

© 2012 г. Г. К. Исакова, Г. Г. Назарова*, В. И. Евсиков*

Институт цитологии и генетики СО РАН
630090 Новосибирск, проспект Лаврентьева, д. 10
E-mail: isakova@math.nsc.ru

*Институт систематики и экологии животных СО РАН
630091 Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 11
E-mail: galinanazarova@mail.ru

Поступила в редакцию 11.01.11 г.
Окончательный вариант получен 24.01.12 г.

Проведено морфологическое изучение сорока восьми 3–4-дневных зародышей от восьми самок водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.). Полученные данные показали, что ранние эмбриональные потери у водяной полевки могут составлять 30–35%, а основной причиной этих потерь являются аномалии оогенеза.

Ключевые слова: водяная полевка *Arvicola terrestris*, ранняя эмбриональная смертность.

Эмбриональная смертность у млекопитающих, включая человека, составляет не менее 50%, причем основная доля эмбриональных потерь приходится на ранний доимплантационный период (Brambell, 1948; Wilson, 1980; Edmonds et al., 1982; Wasser, Barash, 1983). Спектр нарушений раннего развития отличается у разных видов животных. В матке мыши *Mus musculus* через 3.5 дней после спаривания встречались погибшие яйцеклетки и остановка дробления зародыша (Титенко, 1977). Среди 6–7-дневных зародышей норки *Mustela vison* находились погибшие и неоплодотворенные яйцеклетки и резорбирующиеся зародыши (Беляев и др., 1981). У соболя *Martes zibellina* один из восьми диапаузных зародышей был на стадии двух бластомеров, в то время как остальные содержали ~500–1000 клеток (Исакова, 2004). При изучении раннего эмбрионального развития серебристо-черной лисицы *Vulpes vulpes* (Беляев и др., 1986) наблюдались неоплодотворенные яйцеклетки и остановка дробления зародышей.

Водяная полевка (*Arvicola terrestris* L.) обитает на большей части Евразии. Благодаря способности адаптироваться к совершенно разным условиям внешней среды, а также наличию полиморфизма по окраске шерстного покрова этот вид широко используется в эколого-генетических (Евсиков, Мошкин, 1994; Евсиков и др., 1997) и генетико-физиологических (Бажан, 2000) исследованиях. Кроме того, в природе встречаются особи водяной полевки с трисомией по самой малой аутосоме, что похоже на трисомию у людей с синдромом Дауна.

Это значит, что *Arvicola terrestris* может быть ценным лабораторным животным для выяснения механизмов возникновения этого типа хромосомной патологии у человека (Fredga, 1968). Еще одной особенностью водяной полевки является высокая частота спонтанного прерывания беременности в периимплантационном периоде. В природной популяции в разные фазы популяционного цикла доля самок с резорбцией всех имплантирующихся эмбрионов варьировала от 8.6% на пике ее численности до 33.5% на спаде (Евсиков и др., 1999). У самок, разводимых в лаборатории, это свойство физиологии репродукции сохраняется (Vazhan et al., 1999; Назарова, Евсиков, 2010). Поэтому водяная полевка может быть также полезным лабораторным животным для решения проблем медицины репродукции. Таким образом, водяная полевка заслуживает всестороннего изучения, и в особенности – ее эмбрионального развития. Документация хронологии событий эмбриогенеза разных видов животных необходима также для оценки тератогенного воздействия факторов внешней среды (Evans, Sack, 1973).

В природе период размножения водяной полевки длится с марта по август, число щенков в помете может быть от 1 до 10 (в среднем – 4.2), а продолжительность жизни не превышает двух лет (Пантелеев, 1968). Введение водяной полевки в лабораторное разведение позволило установить, что продолжительность ее беременности составляет 20–22 дня, причем сезон размножения в неволе не изменялся, а продолжительность жизни составляет

Вес тела и половых органов матери и состояние эмбриогенеза у водяной полевки в интервале времени от 3 до 4 дней после спаривания

Номер самки	Вес			желтых тел	Число			Диаметр развивающихся эмбрионов, мм
	тела самки, г	рогов матки (пара), мг	яичников (пара), мг		эмбрионов			
					всего	развивающихся	резорбированных	
1 (358)*	159.0	290	20	7	1	1	0	0.15
2 (383)	134.0	280	14	5	5	5	0	0.15
3 (233)	111.2	143	18	6	5	2	3	0.10
4 (402)	136.5	240	21	8	8	7	1	0.1–0.125
5 (338)	108.6	190	11	5	4	3	1	0.125
6 (313)	138.7	230	17	6	6	5	1	0.1–0.125
7 (365)	137.0	200	23	5	5	5	0	0.1–0.12
8 (435)	136.4	226	30	6	6	2	2	0.125
M ± SE	132.5 ± 6.6	226.0 ± 17.5	19.2 ± 2.0	6.0 ± 0.4	5.0 ± 0.7	4.0 ± 0.7	1.0 ± 0.4	0.12 ± 0.07

* В скобках обозначен возраст самки, дни.

2.5 года (Blake, 1982; Наследова и др., 1984; Бажан, 2000; Weigl, 2005). Как и у других грызунов с сезонным ритмом размножения, наступление половой зрелости у водяной полевки в основном определяется не ее возрастом, а сезоном года. Щенки, родившиеся в марте–апреле, уже в мае–июне могут спариваться и дважды в течение этого же сезона дать потомство. Щенки же, родившиеся во второй половине лета, становятся половозрелыми на следующий год и могут принести до 5 пометов за данный сезон. Кроме того, половое созревание у водяных полевок зависит от физического состояния матери во время беременности (Назарова, Евсиков, 2007).

У самок, выловленных из природной популяции, доимплантационная смертность, оцениваемая по разнице между числом желтых тел беременности и числом мест имплантации, в среднем была 3.6%, а постимплантационные потери (доля эмбрионов, находившихся в состоянии резорбции, по отношению к числу мест имплантации) – 3.2% (Евсиков и др., 1999). Что касается раннего эмбрионального развития и ранней эмбриональной смертности у водяной полевки, то таких данных пока нет. В данном сообщении представлены полученные нами предварительные данные о развитии и смертности зародышей в раннем эмбриональном периоде у водяной полевки лабораторного разведения.

Колония водяных полевок *Arvicola terrestris*, поддерживаемая при институте систематики и экологии животных (Новосибирск), была основана в 1984 г. Первые выводки были получены от беременных самок, отловленных в подтаежной зоне Западной Сибири (Новосибирская область). Животные содержались индивидуально в металличе-

ских клетках 30 × 25 × 50 см при свободном доступе к воде и корму (вареное зерно, морковь, проростки пшеницы, сено) и при естественном фотопериоде. В период размножения клетки соединяли с помощью трубки-перехода диаметром 5 см и длиной 7 см. Коэффициент родства брачных партнеров не превышал 0.125. У самок от 10 до 12 ч ежедневно брали вагинальные мазки. День обнаружения сперматозоидов считался как 0 день беременности. При данной использованной системе разведения погрешность в определении возраста эмбрионов могла быть от нескольких минут до 24 часов.

Всего было исследовано 8 беременных самок в возрасте от 8 до 15 мес, все вступили в спаривание с самцами в апреле–мае. Через 72 часа после обнаружения сперматозоидов, что предполагает срок беременности от 3 до 4 суток, самку умерщвляли путем смещения шейных позвонков, вынимали и взвешивали матку и яичники. В яичниках подсчитывали число желтых тел, указывающее число овулировавших яйцеклеток. Каждый рог матки промывали физиологическим раствором под контролем микроскопа, измеряли диаметр зародышей, определяли число погибших и развивающихся эмбрионов и стадию развития развивающихся эмбрионов. Наличие полости, разделяющей эмбриобласт и трофобласт, рассматривалось как признак перехода от стадии морулы к стадии бластоцисты. Один малый эмбрион и три эмбриона среднего размера были зафиксированы в охлажденной смеси метанола и ледяной уксусной кислоты (3 : 1). Затем их окрашивали 2%-ным ацетоуксусным орсеином, приготавливали тотальные давленные препараты и подсчитывали число клеток в зародыше.

В таблице представлены данные о возрасте и весе тела каждой самки, а также морфологические

данные о состоянии их репродуктивной системы и эмбриогенеза. Очевидно, что по данным столь малой выборки нельзя судить о закономерностях функционирования репродуктивной системы животного. Тем не менее, следует отметить, что самка 3, самая молодая в данной группе, имела наименьший вес тела и матки, наименьший размер эмбрионов и наиболее высокую эмбриональную смертность по сравнению с остальными.

Размер зародышей варьировал от 0.1 до 0.125 мм в диаметре. Эмбрионы, выглядевшие здоровыми, находились на стадии поздней морулы или бластоцисты. Число клеток, подсчитанное в четырех из них, было 16, 48, 54 и 72. Приблизительно такие же размеры, число клеток и стадию развития имели 3.5-дневные эмбрионы лабораторной мыши (McLaren, Bowman, 1973; Дыбан и др., 1975; Титенко, 1977). Интересно отметить, что одноклеточный эмбрион японской луговой полевки *Microtus montebelli* значительно меньше в диаметре по сравнению с одноклеточными эмбрионами других млекопитающих (Makayama et al., 1994). Этот обнаруженный факт указывает на то, что разноморфное в тайминге эмбриогенеза и в морфологии эмбрионов может проявляться на самых ранних стадиях развития и определяться таксономической принадлежностью животного.

20% вымытых зародышей были в состоянии резорбции. Они были правильной круглой формы, значительно меньшего размера по сравнению с развивающимися эмбрионами-сибсами, с тонкой прозрачной оболочкой и бесструктурным неокрашивающимся содержимым. Вполне вероятно, что это были овулировавшие аномальные яйцеклетки. Других нарушений раннего развития эмбрионов (фрагментация бластомеров, неоплодотворенные яйцеклетки, остановка дробления) не встречалось.

Всего у 8 исследованных самок овулировало 48 яйцеклеток. Из них 32 (~67%) выглядели успешно развивающимися зародышами. Остальные ~17% яиц не были обнаружены в матке. Это может означать, что они погибли в яйцевыводке или же были нежизнеспособны уже в фолликуле яичника, хотя были вовлечены в процесс овуляции. Овуляция нежизнеспособных яиц наблюдалась у мыши (McLaren, Bowman, 1973) и норки (Беляев и др., 1981), причем увеличение ранней эмбриональной смертности, вызванное мутацией по окраске меха у норок, происходит как раз за счет овуляции аномальных яйцеклеток (Беляев и др., 1981). То же самое мы наблюдали у лисиц, селекционированных на ручной тип поведения (неопубликованные данные). Резорбция в матке по отношению к числу желтых тел составила 16.7%, а общие эмбриональные потери на данной стадии — 33.4%.

Таким образом, результаты данной работы предполагают сходство в хронологии событий ран-

него эмбриогенеза у водяной полевки и мыши. Можно полагать также, что ранние эмбриональные потери у водяной полевки составляют 30–35%, а основным причинным фактором этих потерь являются аномалии оогенеза.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проекты №№ 09-04-01712 и 11-04-00277-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Бажан Н.М. Физиологические механизмы поддержания изменчивости по гену агути в популяциях водяной полевки (*Arvicola terrestris*). Дисс. ... докт. биол. наук. Новосибирск: ИГиГ СО РАН, 2000. 282 с.
- Беляев Д.К., Исакова Г.К., Назарова Г.Г. Влияние генотипа на развитие норок в раннем эмбриональном периоде // Докл. АН СССР. 1981. Т. 260. № 5. С. 1251–1253.
- Беляев Д.К., Исакова Г.К., Трут Л.Н. Раннее эмбриональное развитие серебристо-черных лисиц в условиях domestikации // Журн. общ. биол. 1986. Т. 47. № 4. С. 450–452.
- Дыбан А.П., Пучков В.Ф., Баранов В.С., Самошкина Н.А., Чеботарь Н.А. Лабораторные млекопитающие // Объекты биологии развития. М.: Наука, 1975. С. 505–566.
- Евсиков В.И., Мошкин М.П. Динамика и гомеостаз природных популяций животных // Сиб. экол. журн. 1994. Т. 1. № 4. С. 331–346.
- Евсиков В.И., Назарова Г.Г., Музыка В.Ю. Физическое состояние и репродуктивные характеристики самок водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) // Экология. 2008. № 6. С. 436–436.
- Евсиков В.И., Назарова Г.Г., Рогов В.Г. Генетико-экологический мониторинг циклирующей популяции водяной полевки (*Arvicola terrestris*) на юге Западной Сибири // Генетика. 1997. Т. 33. № 8. С. 1133–1143.
- Евсиков В.И., Назарова Г.Г., Рогов В.Г. Популяционная экология водяной полевки (*Arvicola terrestris* L.) в Западной Сибири. Сообщение I. Репродуктивная способность самок, полиморфных по окраске шерстного покрова, на разных фазах динамики численности популяции // Сиб. экол. журн. 1999. № 1. С. 59–68.
- Исакова Г.К. Об активности эмбрионального генома соболя на стадии задержанной имплантации // Докл. РАН. 2004. Т. 397. № 1. С. 128–130.
- Наследова Н.И., Плотникова Н.С., Иванова Л.Н. Размножение водяных полевок (*Arvicola terrestris*) в контролируемых условиях // Зоол. журн. 1984. Т. 58. Вып. 5. С. 745–748.
- Назарова Г.Г., Евсиков В.И. Наступление половозрелости у водяных полевок зависит от физического состояния матери во время беременности // Докл. РАН. 2007. Т. 412. № 4. С. 568–570.

- Назарова Г.Г., Евсиков В.И. Скорость роста, репродуктивная способность и выживаемость в условиях вивария водяных полевок, изъятых из природной популяции в разные фазы цикла численности // Экология. 2010. № 4. С. 287–291.
- Пантелеев П.А. Популяционная экология водяной полевки. М.: Наука, 1968. 251 с.
- Титенко Н.В. Доимплантационное развитие эмбрионов мышей при гомо- и гетерогенной беременности // Онтогенез. 1977. № 1. С. 27–33.
- Bazhan N.M., Yakovleva T.V., Makarova E.N. Agouti locus may influence reproduction under food deprivation in the water vole (*Arvicola terrestris*) // J. Exp. Zool. 1999. V. 283. P. 573–579.
- Blake B.H. Reproduction in captive water vole, *Arvicola terrestris* // J. Zool. Lond. 1982. V. 198. P. 524–529.
- Brambell F.W.R. Prenatal mortality in mammals // Biol. Rev. 1948. V. 23. P. 370–407.
- Edmonds D.K., Lindsay K.S., Miller J.F., Williamson E., Wood P.J. Early embryonic mortality in women // Fertil. Steril. 1982. 38. P. 447–453.
- Evans H.E., Sack W.O. Prenatal development of domestic and laboratory mammals: growth curves, external features and selected references // Anat. Histol. Embryol. 1973. V. 2. № 1. P. 11–45.
- Fredga K. Idiogram and trisomy of the water vole (*Arvicola terrestris* L.), a favourable animal for cytogenetic research // Chromosoma (Berl.). 1968. V. 25. P. 75–89.
- McLaren A., Bowman P. Genetic effects on the timing of early development in the mouse // J. Embryol. Exp. Morph. 1973. V. 30. P. 491–498.
- Wakayama T., Matsubara Y., Imamura K., Kurohmaru M., Hayashi Y., Fukuta K. Development of early-stage embryos of the Japanese field vole, *Microtus montebelli*, in vivo and in vitro // J. Reprod. Fertil. 1994. V. 101. P. 663–666.
- Wasser S.K., Barash D.P. Reproductive suppression among female mammals: implications for biomedicine and sexual selection theory // Q. Rev. Biol. 1983. V. 58. P. 513–538.
- Weigl R. Longevity of mammals in captivity from the living collections of the world. Stuttgart: E. Schweizerbart, 2005. 214 p.
- Wilson J.G. Environmental effects on intrauterine death in animals // Porter I.H., Hook E.B. (eds.) Human embryonic and fetal death. New York: Academic Press, 1980. P. 19–27.

Early Embryonic Mortality in Water Vole (*Arvicola terrestris* L.)

G. K. Isakova^a, G. G. Nazarova^b, and V. I. Evsikov^b

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
pr. Lavrent'eva 10, Novosibirsk, 630090 Russia

e-mail: isakova@math.nsc.ru

^b Institute of Systematics and Ecology of Animals, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences,
ul. Frunze 11, Novosibirsk, 630091 Russia

e-mail: galinanazarova@mail.ru

Abstract—A morphological study of forty-eight 3–4-day embryos from eight females of the water vole (*Arvicola terrestris* L.) was conducted. The Data obtained demonstrated that early embryonic losses in the water vole can be 30–35%, and the main cause of these losses is anomalies of oogenesis.

Keywords: *Arvicola terrestris* water vole, early embryonic mortality.