



УДК 636.32/38:591.16.612.063

Стан і перспективи застосування біотехнологічних методів відтворення у племінному вівчарстві

М.М. Шаран, Х.М. Гримак
mm_sharan@yahoo.com, phm89@ukr.net

*Інститут біології тварин НААН України,
вул. В. Стуса, 38, м. Львів, 79034, Україна*

Проведено аналіз літературних даних щодо застосування методу трансплантації ембріонів у племінному вівчарстві. Доведено, що теоретичною основою методу трансплантації ембріонів є наявність великої кількості зародкових клітин у яєчниках самок, більшість яких при звичайних способах відтворення не бере участі у цих процесах, а також висока вірогідність успадкування генетичних ознак після пересадки ембріонів реципієнтом. На цій основі від самки протягом життя можна одержати декілька десятків нащадків. Головним напрямом технології трансплантації ембріонів є розробка нових методів, які забезпечать одержання найбільшої кількості доброякісних ембріонів бажаних генотипів як за рахунок індукції множинної овуляції, так і шляхом культивування фолікулярних ооцитів поза організмом. Відмічено, що використання трансплантації обмежується рядом чинників, які недостатньо вивчені і багато з них є суперечливими, зокрема непередбачуваністю результатів індукції множинної овуляції. Розробка способу прогнозування результатів поліовуляції різко підвищить ефективність трансплантації ембріонів та значно зменшить затрати трудових і фінансових ресурсів. Показано, що одним із головних факторів переведення методу трансплантації на практичну основу є розробка способів кріоконсервування ембріонів. Це дозволить спростити підбір за статевим циклом реципієнтів з донорами, здійснити транспортування на великі відстані та проводити пересадку в запланованих селекційних стадах.

Подальше удосконалення методу, поряд із застосуванням сучасних досягнень генетики, ембріології і ендокринології дозволить у найближчій перспективі розробити комплексний метод прискореного створення у вівчарстві селекційних стад високопродуктивних тварин.

Ключові слова: *віцеєматки-донори, реципієнти, поліовуляція, трансплантація ембріонів, кріоконсервація, гормональні препарати, яєчники, жовті тіла.*

Состояние и перспективы применения биотехнологических методов воспроизводства в племенном овцеводстве

Н.Н. Шаран, Х.М. Гримак
mm_sharan@yahoo.com, phm89@ukr.net

*Інститут біології живих тварин НААН України,
ул. В. Стуса, 38, г. Львов, 79034, Украина*

Проведен анализ литературных данных по применению метода трансплантации эмбрионов в племенном овцеводстве. Доказано, что теоретической основой метода трансплантации эмбрионов является наличие большого количества зародышевых клеток в яичниках самок, большинство которых при обычных способах воспроизводства не принимает участия в этих процессах, а также высокая вероятность наследования генетических признаков после пересадки эмбрионов реципиентом. На этой основе от самки в течение жизни можно получить несколько десятков потомков. Главным направлением технологии трансплантации эмбрионов является разработка новых методов, которые обеспечат получение наибольшего количества доброкачественных эмбрионов желаемых генотипов как за счет индукции множественной овуляции, так и путем культивирования фолликулярных ооцитов вне организма.

Citation:

Sharan, M., Grymak, K. (2017). Current state and future of using the biotechnological methods of reproduction in sheep breeding. *Scientific Messenger LNUVMBT named after S.Z. Gzhytskyj*, 19(74), 67–70.

Отмечено, что использование трансплантации ограничивается рядом факторов, которые недостаточно изучены и многие из них противоречивы, в частности непредсказуемостью результатов индукции множественной овуляции. Разработка способа прогнозирования результатов полиовуляции резко повысит эффективность трансплантации эмбрионов и значительно уменьшит затраты трудовых и финансовых ресурсов. Показано, что одним из главных факторов перевода метода трансплантации на практическую основу является разработка способов криоконсервирования эмбрионов. Это позволит упростить подбор по половому циклу реципиентов с донорами, осуществить транспортировку на большие расстояния и проводить пересадку в запланированных селекционных стадах.

Дальнейшее совершенствование метода, наряду с применением современных достижений генетики, эмбриологии и эндокринологии позволит в ближайшей перспективе разработать комплексный метод ускоренного создания в овцеводстве селекционных стад высокопродуктивных животных.

Ключевые слова: овцематки-доноры, реципиенты, полиовуляция, трансплантация эмбрионов, криоконсервация, гормональные препараты, яичники, желтые тела.

Curent state and futyre of using the biotechnological methods of reproduction in sheeps breeding

M. Sharan, K. Grymak
mm_sharan@yahoo.com, phm89@ukr.net

*Institute of Animal Biology NAAS,
V. Stus Str., 38, Lviv, 79034, Ukraine*

The analysis of publication related to the usage of embryo transplantation method in breeding sheep had been conducted. It is proved that the theoretical basis of the method of embryo transplantation is the large number of germ cells in the ovaries of females, most of which during the usual method of reproduction does not participate in these processes, and the high probability of inheriting genetic characteristics of embryos after transplantation by recipient. On this basis, from females throughout her life we can get a few dozen of descendants.

The main aspects of embryos transplantation technology is to development of new methods that will ensure obtaining of the greatest number of good-quality embryos with desirable genotypes, both by the induction of multiple ovulation and by cultivation of follicular oocytes outside the body. It has been defined, that its usage is limited by a number of factors that are not well studied and many of them are contradictory, in particular unpredictable results of the multiple ovulation induction. The development of the method of predicting the results of polyovulation will significantly increase the efficiency of embryos transplantation and significantly reduce the cost of labor and financial resources. It has been shown, that one of the main factors of making transplantation more practical is to develop the methods of embryos cryopreservation. This will simplify the selection of recipients and donors by the sexual cycle, will further long distance transportation and will enable the transplantation in the planned breeding herds.

The further of the method, along with modern advances of genetics, embryology, endocrinology, will in the near future lead to develop a comprehensive method for the accelerated creation in sheep breeding flocks of high performance animals.

Key words: sheep-donors, recipients, polyovulation, embryotransplantation, cryopreservation, hormones, ovaries, the corpus luteum.

Збільшення виробництва продукції вівчарства неможливе без підвищення продуктивності тварин. Однак, при традиційних методах ведення галузі – це процес довготривалий. Потрібні принципово нові підходи в селекційно-племінній роботі, а саме: широке впровадження у практику сучасних досягнень генетики, селекції і біотехнології, зокрема методу трансплантації ембріонів. Це сприятиме інтенсивному використанню генетичного потенціалу тварин, забезпечить у найкоротші строки отримання необхідної кількості висококласного племінного молодняка, створення селекційних стад та збереження цінного генофонду (Muhamedgaliev et al., 1981; Bodo et al., 1984; Jernst, 1986; Kvasnickij et al., 1988; Burkat, 1988; Zubets, 1994; Zubets, 1995; Ajbazov and Aksenova, 2011).

Теоретичною основою методу трансплантації ембріонів є наявність великої кількості зародкових клітин у яєчниках самок, більшість яких за використання звичайних способів відтворення не бере участі у цих процесах, а також висока вірогідність успадкування генетичних ознак після пересадки ембріонів реципієнтом (Klinskij and Alekseenko, 1979; Jernst, 1984;

Ajbazov and Aksenova, 2011; Aksenova et al., 2012). На цій основі від самки впродовж життя можна одержати декілька десятків нащадків.

За інтенсивної селекції матерів плідників без використання трансплантації ембріонів досягають підвищення ефекту селекції всього на 5–10%. Метод трансплантації дозволяє підвищити коефіцієнт розмноження високоцінних тварин у 2–5 разів і відповідно підвищити селекційний ефект на 25% (Neimann, 1988; Ruane, 1988; Krychowski, 1989; Madison, 1994). Таким чином, прискорене одержання плідників, здатних бути покращувачами, при створенні селекційних стад є важливим завданням методу трансплантації в практиці селекційно-племінної роботи.

Особливого значення метод трансплантації ембріонів набуває при виведенні нових ліній, типів і порід тварин. Він дозволяє швидшими темпами створити ядра нових популяцій, відіграє важливу роль у використанні світових генетичних ресурсів.

Багато уваги приділяється пересадці ембріонів, як засобу підвищення темпів відтворення, а також, як одного із фундаментальних біологічних методів дослідження репродуктивної функції тварин. Групи тва-

рин-аналогів близьких за спадковістю, одержані методом трансплантації, є винятково цінними і дозволяють конкретніше аналізувати проблеми фізіології, біохімії, генетики та імунології відтворення, вивчити вплив генетичних і кормових факторів на розвиток ембріонів, визначити причину їх загибелі у доімплантаційний та імплантаційний періоди.

Головним напрямом удосконалення технології трансплантації ембріонів є розробка нових методів, які забезпечать одержання найбільшої кількості доброякісних ембріонів бажаних генотипів як за рахунок індукції множинної овуляції, так і культивуванням фолікулярних ооцитів поза організмом. Але використання методу трансплантації ембріонів у тваринництві обмежується рядом факторів, які недостатньо вивчені й багато з них є суперечливими. Так, із досліджень ряду вчених (Gordon, 1988; Ernest and Sergeev, 1989; Zhulynskaja and Lobacheva, 2007) відомо, що від 30–35% самок-донорів ембріонів взагалі не одержують, а у 40% – відсутні придатні ембріони для пересадки. Проте, одностайної думки у вчених і практиків про причини такого явища немає.

У цьому аспекті однією з серйозних причин, які стримують широке впровадження методу трансплантації у племінне тваринництво, є непередбачуваність результатів індукції множинної овуляції (Ernest and Sergeev, 1989; Lee et al., 2000; Freitas et al., 2003; Ajbazov et al., 2006; Aksenova et al., 2013).

Розробка простого способу прогнозування результатів поліовуляції різко підвищить ефективність трансплантації ембріонів та значно зменшить затрати трудових і фінансових ресурсів. Л.С. Малахова (Malahova, 2005), порівнюючи три схеми стимуляції суперовуляції у вівцематок із застосуванням фолікулостимулюючого гормону (ФСГ-п; США), Фолітропіну (Литва) та Фолімагу (Росія), встановила, що за реакцією поліовуляції, одержання кількості ембріонів, у тому числі на донора, перевагу мали схеми індукції множинної овуляції із застосуванням ФСГ – п та Фолімагу.

Дослідженнями А.-М.М. Айбазова, Т.В. Мамонтова (Ajbazov and Mamontova, 2014) з порівняння індукції множинної овуляції у кіз-донорів фолікулостимулюючим препаратом – «ФСГ-супер» і «Оваген» виявлено, що поліовуляцією на введення екзогенного гормону «ФСГ-супер» прореагувало 86% оброблених кіз за реакції поліовуляції 12,4 жовтих тіл і виході придатних ембріонів 68%. Застосування препарату «Оваген» забезпечило наявність у яєчниках 14,5 жовтих тіл за виходу повноцінних ембріонів 75,3%. На думку авторів, обидва препарати ефективні і за їх застосування досягається висока поліовуляція із великим відсотком виходу придатних ембріонів.

П.В. Аксенова, А.М.М. Айбазов, Д.В. Коваленко та ін. (Ajbazov et al., 2012) розробили схему індукції поліовуляції у кіз, яка передбачає введення імплантанта «Крестар» на 8-му добу, одноразову ін'єкцію 500 ОД Фолігону та ін'єкції 7 мл Овагену з інтервалом 12 год за одноразової дози 1 мл (початок ін'єкції – за 60 год до видалення імплантанта); введення 500 ОД Хорулону у момент фіксації статевої охоти. Запропонована схема забезпечує поліовуляцію яєчників кіз-

донорів у межах 15,5–17,5 жовтих тіл, одержання 12,3–13,8 ембріонів на одну тварину, в тому числі придатних до трансплантації 74,3–90,4 відсотка.

Важливе теоретичне і практичне значення має вивчення ролі різних чинників, які впливають на приживлення трансплантованих ембріонів у реципієнтів. За даними П.В. Аксенова (Aksenova, 2014), після пересадки ембріонів вівцям-реципієнтам, яким через 5 днів після операції для підвищення їх приживлення вводили препарат «Хорулон» (хоріон-гонадотропіну), приживлення становило лише 33%.

Одним з головних чинників переведення методу трансплантації ембріонів у вівчарстві на практичну основу є розробка способів кріоконсервування ембріонів. Це дозволило спростити підбір за статевим циклом реципієнтів з донорами, здійснити транспортування на великі відстані і проводити пересадку ембріонів у запланованих селекційних стадах.

Однак, на даний час не розроблені прості та достатньо надійні методи кріоконсервування репродуктивних клітин овець, які здатні задовольнити запити виробництва. Заморожування ембріонів пов'язане з дорогим кріогенним обладнанням і значними матеріальними затратами, (Aksenova et al., 2012; Aksenova et al., 2013). Автори стверджують, що найвищу стійкість до кріоконсервування продемонстрували ооцити кіз, 2–4 бластомерні ембріони та морули за швидкого режиму заморожування з використанням обладнання французької фірми IMV.

Р. Stecher, I. Vaderzwalmen, N. Zech (Stecher et al., 1999), Д.А. Пикус (Pikus, 2005) провели успішні експерименти із заморожування ембріонів овець способом вітрифікації за використання великих швидкостей охолодження.

Літературні дані та практичний аналіз трансплантації ембріонів овець і кіз свідчать, що сьогодні є реальна можливість одержувати за статевий цикл по чотири–шість доброякісних ембріонів від високоцінних вівцематок-донорів і 40–45% суягності. Проте ряд питань, зв'язаних з удосконаленням методу трансплантації ембріонів, залишаються невирішеними, потребують технічної доробки і наукового обґрунтування. До них відносяться: надійність відбору вівцематок, індукція множинної овуляції, продукування донорами доброякісних ембріонів, низькотемпературне кріоконсервування та гарантійна аплікація ембріона реципієнту.

Подальше удосконалення методу, поряд із застосуванням сучасних досягнень генетики, ембріології і ендокринології дозволить у найближчій перспективі розробити комплексний метод прискореного створення у вівчарстві селекційних стад високопродуктивних тварин.

Бібліографічні посилання

Muhamedgaliev, F.M., Tojshibekov, M.M., Abil'dinov, R.B. (1981). Transplantacija zigot v plemynnomovcevodstve. Alma-Ata: Nauka (in Russian).

- Bodo, J., Buvanendran, V., Hogdes, J. (1984). Manual for training courses on the animal genetic resources conservation and management. Rome: FAO.
- Jernst, L.K. (1986). Perspektivy prikladnoj biotehnologii. Vestn. S.-h. nauki. 2, 120–126 (in Russian).
- Kvasnickij, A.V., Martynenko, N.A., Bliznjuchenko, A.G. (1988). Transplantacijaj embrionov i geneticheskooj ainzheneriya v zhivotnovodstve. Kiev: Urozhaj (in Russian).
- Burkat, V.P. (1988). Biotehnologija i teoreticheskie aspekty selekcii. O merah po povysheniju jeffektivnosti i uluchsheniju organizacii bolee shirokogo ispol'zovanija biotehnologii v plemennom zhivotnovodstve: Tez. Dok. 11Resp. Nauch. – proizvod. konf. L'vov, 24–26 (in Russian).
- Zubets, M.V. (1994). Formuvannia molochnoho stada z prohramovanoiu produktyvnistiu. Kyiv.: Urozhai (in Ukrainian).
- Zubets, M.V. (1995). Do pytannia formuvannia spadkovosti silskohospodarskykh tvaryn. Teoretychni i i praktychni aspekty porodoutvoriuvalnoho protsesu u molochnomu ta miasnomu skotarstvi, 64–65 (in Ukrainian).
- Ajbazov, M.M., Aksenova, P.V. (2012). Vozmozhnost' i perspektivy poluchenija pervichnyh transgennyh zhivotnyh-producentov belkov cheloveka. Ovcy, kozy, sherstnoe delo. 3, 33–35 (in Russian).
- Klinskij, Ju.D., Alekseenko, A.N. (1979). Transplantacija zarodishnej u sel's'kohozejstvennyh zhivotnyh. Itogi nauki i tehniki. 12, 52–112 (in Russian).
- Jernst, L.K. (1984). Individual'naja reakcija jaichnikov korov pri inducirovanii superovuljaciej. Dok. VASH-NIL. 6, 22–24 (in Russian).
- Ajbazov, M.M., Aksenova, P.V. (2011). Transplantacija jembrionov u molochnih koz. Culegere de lucrari a Simpozionului stiintific cu participare internationala consacrat aniversarii Maximovca, 286–290 (in Russian).
- Aksenova, P.V., Ajbazov, M.M., Kovalenko, D.V. (2012). Biotehnologicheskie metody i priemy intensivacii vosproizvodstva ovec i koz. Ovci, kozy, sherstnoedelo. 2, 35–38 (in Russian).
- Neimann, H. (1988). Tiefgefrioren von Embryonen Landwirtschaftlicher Nutztiere. Prakt. Tierarzt. 69(9), 29–34.
- Ruane, J. (1988). Review of the use of embryo transfer in the genetic improvement of dairy cattle. Animal Breeding Abstracts. 56(6), 437–446.
- Krychowski, T. (1989). La transplantation embryonnaire I URCEO: optimizes la selection. Bull. techn. Insem. Artif. 52, 35–36.
- Madison, V.V. (1994). Perevaga importu embrioniv. Tvarynnyctvo Ukrainy. 4, 5 (in Ukrainian).
- Zhulynskaja, O.S., Lobacheva, Y.V. (2007). Predvartel'nye rezul'taty ocenky ovcematok po vaginal'nym mazkam na prygodnost' k stymuljacii superovuljacii. Sbornyk nauchnyh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo ynstytuta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. 1 (in Russian).
- Gordon, A. (1988). Kontrol' vosproizvodstva sel'skohozejstvennyh zhivotnyh. M.: Agropromizdat (in Russian).
- Ernest, L.K., Sergeev, N.Y. (1989). Transplantacija embryonov sel'skohozejstvennyh zhivotnyh. M.: Agropromizdat (in Russian).
- Lee, C.S., Fang, N.Z., Koo, D.B. (2000). Embryo recovery and transfer for the production of transgenic goats from Korean native strain. Small Ruminant Research. 37, 57–63.
- Freitas, V.J.F., Serova, I.A., Andreeva, L.E. (2003). Birth of normal kids after microinjection of pronuclear embryos in a transgenic goat (Capra hircus) production program in Brazil. Genetics and Molecular Research. 2(2), 200–205.
- Ajbazov, A.-M.M., Malahova, L.S., Trubnikova, P.V. (2006). Sinhronizacija polovoj ohoty u molochnyh koz. Ovcy, kozy, sherstjanoe delo. 2, 32–33 (in Russian).
- Aksenova, P.V., Ajbazov, A.-M.M., Seitov, M.S. (2013). Ocenka kachestva i ustojchivosti k kriokonservacii jembrionov koz v zavisimosti ot stadii razvitija. Izvestija Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 6(44), 85–87 (in Russian).
- Malahova, L.S. (2005). Kachestvennye pokazateli jembrionov v zavisimosti ot primenjaemyh gonadotropinov. Sbornik nauchnyh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. 1, 37–40 (in Russian).
- Ajbazov, A.-M.M., Mamontova, T.V. (2014). Rezul'taty stimuljacii follikulogeneza zaanens'kih koz. Sbornik nauchnyh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. 7, 26–37 (in Russian).
- Ajbazov, A.-M.M., Aksenova, P.V., Kovalenko, D.V. (2012). Itogi i perspektivy razrabotki i primeneniya biotehnologicheskijh metodov i priemov intensivacii vosproizvodstva ovec i koz. Sbornik nauchnyh trudov Stavropol'skogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhivotnovodstva i kormoproizvodstva. 5, 17–23 (in Russian).
- Aksenova, P.V. (2014). Rezul'taty aprobacii usovershenstvovannogo metoda transplantacii jembrionov u ovec: analiz prizhivljajemosti zigot, effektivnosti vynashivaniya ploda i razvitija jagnjat-transplantantov. 1, 11–13 (in Russian).
- Aksenova, P.V., Ajbazov, A.-M.M. (2009). Rezul'taty stimuljacii follikulogeneza zaanens'kih koz // Aksenova P.V. Shemy sinhronizacii polovogo cikla u molochnyh koz. Materialy v mezinarodni vedeckoprakticka conference «Modarni Vymozhenosti Vedy». Praha. Publishing House «Education and Science», 45–48 (in Russian).
- Stecher, P., Vaderzwalmen, I., Riedler, N., Zech, N. (1999). Vitrication of humal embryos on height stage of development. Institute Reproduktionsmedizin und Endokrinologie, Austria. 11(1), 104.
- Pikus, D.A. (2005). Opyt primeneniya metoda OPS-vitrifikacii jembrionov ovec. Sbornik nauchnyh trudov GNU SNIIZhK. <http://cyberleninka.ru/article/n/opyt-primeneniya-metoda-ops-vitrifikatsii-embrionov-ovets#ixzz4dBAo2fYW> (in Russian).

Стаття надійшла до редакції 3.02.2017