**Назва реферату**: Розвиток біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин  
**Розділ**: Біологія

**Розвиток біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин**

У тваринництві комплекс методів біотехнології передбачає як використання існуючих, так і конструювання бажаних генотипів із заданими ознаками, що забезпечують вищу продуктивність тварин та прискорені темпи їхнього відтворення. Найяскравішим прикладом використання в практиці розроблених наукою методів біотехнології є штучне осіменіння сільськогосподарських тварин, яке за кордоном назвали «відкриттям сторіччя» в сільському господарстві. Цей метод, розроблений випускником Харківського університету І.І. Івановим, забезпечує швидке та якісне поліпшення всього масиву поголів'я, дає змогу використовувати в сотні разів меншу кількість плідників, що в свою чергу значно зменшує затрати на їхнє утримання. Метод штучного осіменіння нині широко застосовують у всіх країнах з інтенсивним веденням галузі, але, на жаль, необхідно констатувати, що в нашій країні значно послабла увага до цього прогресивного методу, внаслідок чого зменшилося застосування штучного осіменіння тварин не тільки у вівчарстві і свинарстві, а й у скотарстві.

У повоєнний період у науково-дослідних інститутах (НДІ) і вищих навчальних закладах України склалися наукові школи визнаних вітчизняних вчених-біотехнологів — І.В. Смирнова та О.В. Квасницького. Наукові розробки І.В. Смирнова щодо виявлення властивостей сперматозоїдів ссавців зберігати біологічну повноцінність після швидкого заморожування є золотим скарбом біологічної науки, відкриттям світового рівня. О.В. Квасницький, працюючи в Полтаві у НДІ свинарства (тепер Інститут свинарства УААН — ІС, який носить його ім'я), розробив метод трансплантації ембріонів кролів, овець і свиней та у 1950 р. одержав перших у світі поросят-трансплантатів. Однак широке застосування у виробництві цього біотехнологічного методу почалось значно пізніше, тільки після того, як він був поєднаний з методикою викликання суперо-вуляції у самиць. Піонерські роботи з гормональної стимуляції множинної овуляції у корів і овець з використанням сироватки жеребих кобил були проведені М.М. Завадовським у 30-х роках минулого століття в Асканії-Новій (тепер Інститут тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова «Асканія-Нова» — Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства УААН — ІТСР) і в подальшому сприяли розробці і становленню методу трансплантації ембріонів сільськогосподарських тварин.

Цей метод не замінює штучного осіменіння тварин, а доповнює його. Нині трансплантацію ембріонів включено до багатьох програм з розведення і селекції тварин у різних країнах світу, тому що вона дає змогу інтенсивно використовувати генетичний потенціал видатних самиць-рекордисток, прискорює створення високопродуктивних селекційних стад і родин, спрощує розповсюдження цінних генотипів, зокрема експорт і імпорт тварин, сприяє поліпшенню ветеринарно-профілактичної роботи. Найефективніше практичне застосування методу трансплантації ембріонів виявилось у скотарстві. Перше теля-трансплантат в Україні було одержано нехірургічним методом у Харкові у 1983 р. у дослідному господарстві «Українка» НДІ тваринництва Лісостепу і Полісся (тепер Інститут тваринництва УААН — IT) під керівництвом Ф.І. Осташка, а трохи пізніше — в Українському інституті фізіології і біохімії сільськогосподарських тварин (нині Інститут біології тварин УААН — ІБТ) у 1985 р. (Б.В. Смолянинов та ін., 1985). Академік УААН Ф.І. Осташко розробив і впровадив у виробництво: теорію кріоушкоджень і кріопротекції біологічних клітин; теорію фортифікації мембранного апарату клітин ліпідними сполуками; маноцервікальний метод штучного осіменіння тварин; Харківську технологію асептичного одержання, кріоконсервації та використання сперми плідників; Харківську технологію асептичного одержання, мікрохірургії, кріоконсервації та трансплантації ембріонів. О.Д. Бугров разом зі своїми учнями на основі теоретичних і експериментальних досліджень розробив Українську технологію трансплантації ембріонів великої рогатої худоби для племзаводів і племпідприємств, що відповідає світовим стандартам. Вона забезпечує надійний організаційний рівень роботи, високий рівень супер-овуляції (10-15 жовтих тіл), 96,1% запліднюваності яйцеклітин, отримання 12-15 ембріонів і яйцеклітин, із них 6-8 повноцінних ембріонів, багаторазове (до 13 разів) використання корів як донорів, надійне (до 95%) вилучення ембріонів, їхній повний пошук, мікрохірургічний розподіл, заморожування, запобігання мікробній контамінації зародків, отримання 5-33 телят від донора, приживлення ембріонів на рівні 40-55% (ОД. Бугров та ін., 1999). За цією технологією пересаджено понад 7 тис. ембріонів, отримано 3015 телят-ембріотрансплантатів (О.Д. Бугров, І.В. Ткачова, 2006) У цілому в Україні отримано понад 10 тис. телят-трансплантатів (О.Д. Бугров та ін., 2005), зокрема фахівцями тільки однієї лабораторії трансплантації ембріонів Головного селекційного центру (ГСЦ) проведено понад 4000 ембріопересадок у 38 господарствах України (В.В. Мадисон, Л.В. Мадисон, 1997), а пересадкою глибоко заморожених ембріонів абердин-ангуської породи американської селекції створено кілька репродукторів тварин цієї породи (В.П. Буркат та ін., 2004). Однак застосування методу трансплантації ембріонів обмежується рядом факторів, які недостатньо вивчені і багато з них є суперечливими, а саме: непередбачува-ність результатів множинної овуляції, визначення ролі багатьох чинників, які безпосередньо або опосередковано впливають на результати приживлення ембріонів тощо. Зважаючи на це, а також, що трансплантація ембріонів є невід'ємною ланкою та заключним етапом застосування всіх методів клітинної і генної інженерії у тваринництві, над удосконаленням цього методу працюють в IT та ІБТ. І хоча Україна була і є лідером серед країн пострадянського простору за кількістю пересадок ембріонів від племінних тварин, однак за останні 5-7 років попит на ембріотрансплантацію різко знизився через економічні чинники, зокрема відсутність механізмів компенсації затрат з боку державних структур, що практикується в багатьох країнах з розвинутим скотарством (Л.В. Мадисон, В.В. Мадисон, 2004). В ІС уперше серед пострадянських країн групою наукових співробітників одержано порося методом нехірургічної трансплантації ембріонів у ріг матки свиноматки (НА Мартиненко та ін., 1998).

Класична селекція, за всього багатства її творчого арсеналу, вже не дає відповідь на ряд питань, які породило вторгнення по суті механіко-технологічних методів у життя організму, клітини та її складників. Саме цим зумовлено новий для тваринництва напрям — біотехнологічна селекція. Нові реалії вимагають, поряд з традиційними, не лише нових методичних підходів до ведення племінної роботи з метою «конструювання» нових генотипів та їхніх поєднань, а й методів збереження природних популяцій з їхніми унікальними генофондами, що може стати запорукою збереження матеріалу для творчої праці селекціонера на базі нових біотехнологіч-них можливостей (В.П. Буркат, 1988; В.П. Буркат та ін., 2005).

Сучасна ембріотрансплантація неможлива без кріоконсервування сперми та ембріонів. Біологічні особливості сперматозоїдів зумовлюють їхню зручність для розробки методів тривалої консервації. В установах УААН розроблено і вдосконалено технології кріоконсервування сперми в ампулах, гранулах і капілярах. Створений для цього комплекс апаратури й обладнання захищений авторськими свідоцтвами і патентами. Використання кріоконсервованої сперми плідників дає змогу зберігати і використовувати її протягом тривалого часу (значно більшого від тривалості життя цих плідників), транспортувати сперму на далекі відстані, створювати банки генів порід, що мало використовуються, особливо аборигенних, рідких та зникаючих видів тварин для збереження генетичної різноманітності, не завдаючи шкоди існуючій популяції. На основі використання кріоконсервованої сперми бугаїв-лідерів в Україні виведено нові породи молочного і м'ясного напрямів. Кріоконсервування ембріонів дає змогу зберігати генетичну інформацію обох батьків, що вигідно відрізняє його від кріоконсервування сперміїв. Завдяки впровадженню цієї технології у виробництво досягнуто значного прогресу в трансплантації ембріонів,оcкільки зникла потреба в одночасній підготовці тварин-донорів і тварин-реципієнтів. З'явилась можливість необмежений час зберігати цінний генетичний матеріал, значно спростилась міжнародна торгівля у тваринництві. Науковцям знадобилось 25 років після всесвітньо відомого відкриття І.В. Смирнова, щоб повторити такі самі досліди на ембріонах ссавців. Причиною цього є специфічність реакції зародків на дію низьких температур унаслідок особливостей їхньої будови. В IT розроблено технологічний метод кріоконсервування зародків великої рогатої худоби, в основу якого закладено кріоконсервування за законом пасивного охолодження, що забезпечує достатньо високу збереженість клітин (90%), не потребує спеціального коштовного обладнання, простий і надійний в експлуатації, пройшов апробацію в господарствах Харківської, Донецької і Сумської областей, після трансплантації деконсервованих ембріонів отримано понад 400 телят-трансплантатів (М.Д. Безуглий, 1995: 2002). Розроблено технологічні пристрої та режими заморожування зародків за повільних швидкостей теплообміну в лабораторних і польових умовах, до різних кінцевих температур охолодження (0 .-100°С), метод вітрифікації ембріонів ссавців за надвисоких швидкостей теплообміну в закритих витягнутих соломинках з різним зовнішнім діаметром (Л.В.Горбунов та ін., 2003). Науковцями ІБТ після надшвидкого заморожування 7-8-денних морул і бластоцист великої рогатої худоби та наступної «прямої пересадки» отримано телят (С.Г. Шаловило, 1997; М.Д. Пасицький та ін., 2002). В ІТСР розроблено метод вітрифікації ранніх зародків овець (І.В. Лобачова та ін., 2003). Створено кріобанки ембріонів сільськогосподарських тварин. Його поповнення ембріонами великої рогатої худоби сірої української, білоголової української, пінцгау і лебединської порід здійснюють в IT, Інституті розведення і генетики тварин УААН (ІРГТ), а в західному регіоні України (ІБТ) — зі збереження і збагачення ресурсів таких порід великої рогатої худоби, як червона польська, бура карпатська і пінцгау. Стратегія використання і збереження потрібного генетичного матеріалу, крім заморожування і тривалого зберігання сперми та ембріонів, включає й застосування інших біотехнологічних методів, насамперед, кріоконсервування гамет самиць. Тривале зберігання гамет обох батьків припускає необмежені варіанти їхнього поєднання в майбутньому. Крім того, створення ооцитобанку не тільки дасть змогу різко знизити витрати на отримання ембріонів, а й

сприятиме розв'язанню низки наукових проблем з клітинної та генної інженерії. Науковцями ІРГТ розроблено й апробовано методику кріоконсервування ооцитів корів і свиноматок на різних стадіях їхнього мейотичного дозрівання (на диплотені, метафазі-1, метафазі-2), досліджено вплив різних параметрів насичення і виведення кріопротекторів на мейотичне дозрівання деконсервованих гамет корів і свиноматок, після запліднення in vitro деконсервованих і

дозрілих поза організмом яйцеклітин отримані ембріони великої рогатої худоби і свиней різних стадій дроблення. Закладено кріобанк гамет від високопродуктивних корів різних порід (О.Є. Гузеватии, П.А. Троцький, 2000; 2004). В IT розроблено методику та установку для вивчення осмотичних властивостей яйцеклітин та ембріонів ссавців, визначено проникність цитоплазматичних мембран ембріонів та яйцеклітин мишей, кролів, корів і свиней до води та кріопротекторів й на підставі цих досліджень вдосконалено режими зниження температури застосування кріопротекторів (М.Д. Безуглий,

В. Медведовський, 1997).

Найскладніший ланцюг у технології трансплантації ембріонів — отримання в необхідній кількості зародків від генетично цінних тварин. Проте обмежене використання величезного резерву ооцит-кумулюсних комплексів, що містяться в яєчниках самиць, різко знижує ефективність трансплантації. Простим та дешевим засобом використання потенційного запасу гамет самиць, що закладений в яєчниках, є культивування і запліднення ооцитів поза організмом. В ІРГТ, ІС, ІБТ, ІТСР розроблено методики in vitro отримання ембріонів різних стадій їхнього розвитку великої рогатої худоби, свиней, овець шляхом культивування і запліднення in vitro ооцитів, які отримують з яєчників забитих тварин або прижиттєво за допомогою нехірургічної транс-вагінальної аспірації незрілих гамет самиць методом OPU (ovum pick-up). Нині метод культивування і запліднення in vitro яйцеклітин сіль-

ськогосподарських тварин — це базовий метод одержання потрібного біологічного матеріалу для розробки сучасних біотехнологічних методів у тваринництві. Крім цього, отримання ембріонів в умовах in vitro становить не тільки комерційний інтерес, а є також однією з найвдаліших моделей вивчення завершальних етапів мейозу і раннього ембріогенезу. Фахівцями IT і ІРГТ про¬ведено серію спільних досліджень і доведено, що сучасні методи біотехнології дають змогу долати складний шлях розвитку від окремого ооцита до живого теляти. Ними отримано перші в країні телята-трансплантати з in vitro отриманих ембріонів великої рогатої худоби шляхом їх нехірургічної трансплантації тваринам-реципієнтам (М.В. Зубець, М.Д. Безуглий, О.Є. Гузеватии та ін., 1995). В ІРГТ вдосконалено технологію отримання, оцінки, дозрівання і запліднення in vitro ооцитів корів та свиноматок, доведено можливість використання яєчників тільних корів у технології запліднення in vitro для отримання при необхідності додаткової кількості ембріонів (О.Є. Гузеватии та ін., 1997; 2000), установлено цитогенетичні та морфологічні особливості раннього ембріогенезу при одержанні зародків великої рогатої худоби та свиней in vitro (C.I. Ковтун, 2000, 2004; О.П. Гончарук, 2001). В IT визначено ефективність використання різних білкових добавок при одержанні in vitro ембріонів великої рогатої худоби (Г.В. Жернокльов, 2001), проведено порівняльний аналіз ооцитів, яйцеклітин та ембріонів великої рогатої худоби і свиней, отриманих в умовах

in vivo та in vitro (O.B. Щербак, 2001). В ІТСР досліджено вплив гонадотропінів, естральної сироватки і якості ооцитів вівцематок на їх дозрівання і запліднення in vitro (І.В. Лобачова, 1997). В ІБТ модифіковано культуральне середовище для дозрівання ооцитів корів і овець in vitro завдяки поповненню його фідерними клітинами. Після хірургічної трансплантації одержаних in vitro ранніх ембріонів вівці-реципієнту, яку попередньо було використано як донора ооцитів під час їхнього лапароскопічного вилучення, народилася ягничка (А.В. Мадіч та ін., 2002; 2004). В ІС встановлено залежність подальшого розвитку в умовах in vitro ооцитів і ембріонів свиней від меж осциляції рН у культуральному середовищі (П.В.Денисюк, 1997; 2002). Фахівцями ІРГТ і ІТСР опановано методику отримання ооцитів корів і овець з яєчників живих донорів методом OPU. Установлено зв'язок прижиттєвого хірургічного способу вилучення ооцитів вівцематок, діаметра аспіраційної голки з показниками кількості і якості одержаних ооцитів, подальшого їх культивування поза організмом з наступним заплідненням in vitro (I.B. Лобачова, 1999; 2002). Виявлено різницю між донорами за середньою кількістю пункційованих фолікулів, аспірованих ооцитів, частотою отримання in vitro ранніх зародків та бластоцист великої рогатої худоби (В.Є. Кузнєцов, 1999). Різний рівень запліднення поза організмом гамет самиць, про що зазначають у публікаціях різні фахівці, вважаємо, зумовлений такими чинниками: результат часто залежить від кваліфікації експериментаторів, можливо, є різниця між окремими популяціями тварин — гамети одних тварин придатніші до маніпуляцій in vitro, ніж інших, крім того, важливу роль відіграють умови культивування, якість вихідного біологічного матеріалу тощо.

Принципову можливість одержання генетично ідентичних потомків у тварин нині доведено експериментально (від досліджень з одержання монозиготних близнюків методом поділу зародків на половинки до отримання всесвітньо відомої вівці Доллі в Шотландії внаслідок кпонування шляхом пересадки ядер соматичних клітин в енуклейовані яйцеклітини). Ділення ембріонів є найбільш розробленим способом кпонування. В 1987 р. співробітниками IT одержано першу в країні пару монозиготних телят від мікрохірургічного розділення деконсервованого ембріона (Ф.І. Осташко та ін., 1987). У подальших дослідженнях отримано 12 пар однояйцевих близнят і понад 100 гетерозиготних двійнят великої рогатої худоби (О.Д. Бугров, 1996; 2005), проведено порівняльний аналіз росту і розвитку моно- і гетерозиготних двійнят, одержаних методом ембріотрансплантації та традиційним способом (ОД Бугров, О.Ф. Гончар, 1994; 2004; О.Ф. Гончар, 1996), удосконалено методику мікрохірургічного отримання частин зародків ссавців в умовах гіпертонії завдяки модифікації техніки та умов проведення мікрохірургічних операцій, розроблено, виготовлено та апробовано пристрій для заточування скляних мікро-інструментів (Н.О. Гордієнко, В.І. Лісін, 1996; В.і. Лісін, 2006). У дослідженнях ученими ІРГТ установлено, що мікрохірургічне розділення пізніх морул або бластоцист великої рогатої худоби на половинки дає змогу не тільки отримати монозиготних близнят, які мають цінність для селекційних досліджень, а й більше ніж на 60% збільшити кількість телят від донорів ембріонів. Виявлено, що половинки і четвертинки морул-бластоцист, отримані in vivo і in vitro, однаково здатні до компактизації поза організмом. Однак для формування бластоцелю частинам in vitro отриманих зародків необхідний триваліший термін культивування поза організмом (М.В. Зубець та ін., 1994; В.Є. Кузнєцов, 1999).

Порівняно з поділом зародків пересадка ядер бластомерів дає змогу в кілька разів збільшити отримання тварин, що походять з одного ембріона. Перші дослідження в Україні з клонування ембріонів методом пересадки ядер зародків великої рогатої худоби в енуклейовані ооцити розпочато в IT. Розроблено методичні підходи і одержані успішні результати з отримання трансядерних зародків великої рогатої худоби шляхом пересадки ядер, їх подальшого культивування в умовах in vitro та доведено повноцінність цих ембріонів, після трансплантації яких у 1997 р. отримано потомків (М.Д. Безуглий та ін., 2000). Методичні тонкощі ембріонального і соматичного клонування опановано в ІРГТ, де отримано реконструйовані зародки кролів і великої рогатої худоби пересадкою ядер в оопласти. Реконструйовані зародки в подальшому дробились, досягали стадій морули і бластоцисти та були дуже подібними (морфологічно) до in vitro отриманих ембріонів відповідних стадій розвитку, однак кількість морфологічно нормальних ядер у них була меншою (Ю.М. Косенюк, 1999; В.Є. Кузнєцов, 1999). За допомогою методу соматичного клонування отримано клоновані доімплантаційні зародки кролів з використанням фібробластів шкіри вуха як клітин-донорів (Ю.М. Косенюк, 2004).

Інтерес до партеногенетичного розвитку активованих гамет самиць зумовлений як вивченням низки загальнобіологічних питань раннього ембріогенезу, так і розробкою методів активації ооцитів, яка є істотною частиною технології пересадки ядер у ссавців. У ІРГТ досягнуто певних успіхів у отриманні амеиотичних партеногенонів у сільськогосподарських тварин. Після активації ооцитів корів етанолом отримано партеногенетичні зародки, що мали диплоїдний набір хромосом та були здатні до розвитку in vitro до стадії ранньої морули (І.Б. Кузнєцова та ін., 1999). Розроблено метод активації ооцитів свиноматок до амейотичного партеногенезу, що дає змогу отримати партеногенони на різних стадіях розвитку (СІ. Ковтун та ін., 2005).

У IT уперше в країні розроблено методику отримання міжпородних химерних ембріонів, отримано агрегаційні та ін'єкційні двопородні химерні зародки, троє телят-трансплантатів після пересадки химерних ембріонів (ОД. Бугров та ін., 1996). Запропоновано спосіб отримання агрега-ційних химерних зародків великої рогатої худоби з використанням гіпер- та гіпотонічних розчинів хлориду натрію при вилученні зародків з прозорої оболонки, розділенні їх на частини та введенні частин у порожню прозору оболонку (В.І. Лісін та ін., 1997). У ІРГТ установлено, що найефективнішим способом одержання химерних бластоцист великої рогатої худоби є отримання агрегатів введенням двох половинок пізніх морул у порожню прозору оболонку (В.Є. Кузнєцов, 1999). Крім цього, фахівцями ІРГТ запропоновано спосіб можливого клонування тварин — донорів ооцитів отриманням химерних зародків, які складаються з трофектодерми звичайних зародків і внутрішньоклітинної маси амеиотичних партеногенетичних бластоцист. Генотип такого партеногенетичного ембріона відрізнятиметься від генотипу матері лише внаслідок незначної мінливості, зумовленої мейотичним кросинговером.

Нині біотехнологія є однією з найперспективніших і швидко прогресуючих галузей науково-технічної та промислової діяльності у розвинених країнах світу, а досягнення лідерства в галузі біотехнології — одне з головних завдань економічної політики цих країн. В УААН дослідження з напряму біотехнології в тваринництві виконуються у межах науково-технічної програми «Сільськогосподарська біотехнологія — 2006-2010», головною метою якої є системний підхід до розробки і застосування досягнень біотехнології в реальних умовах існування і подальшого розвитку аграрного виробництва в Україні, а стратегічним пріоритетом — розробка та впровадження сучасних біологічних технологій в сільське господарство нашої країни для максимально повного задоволення її потреб якісною сільськогосподарською продукцією.

У тваринництві України одержано вагомі досягнення з використанням методів репродуктивної біотехнології. Розробка та інтенсифікація розвитку вітчизняних методів сучасної і традиційної репродуктивної біотехнології в тваринництві дадуть змогу значно прискорити розмноження цінних і створення нових унікальних генотипів, забезпечать істотну інтенсифікацію селекційного процесу і підвищення генетичного потенціалу продуктивності сільськогосподарських тварин. Розробка біотехнологій клонування та отримання генетично реконструйованих у бажаному напрямі тварин дасть змогу піднести на якісно новий рівень селекцію сільськогосподарських тварин, зокрема, прискорити зміну поколінь, темпи генетичної консолідації популяцій, зберегти широкий спектр наявного генофонду тощо, а розробка і застосування системи ДНК-маркерів у тваринництві — розв'язання актуальних завдань з аналізу і паспортизації порід сільськогосподарських тварин.

**Література.**

М. Д. Безуглий; Щ.Є Гезеватий;

Журнал «Вісник аграрної науки», грудень 2006; с. 83-86.