

АНАЛІЗ ЕФЕКТИВНОСТІ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ КРІОКОНСЕРВОВАНИХ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

А. Б. Зюзюн¹, кандидат біологічних наук

С. О. Сідашова², кандидат сільськогосподарських наук

І. М. Люта³, аспірант

¹*Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Чубинське, Україна)*

²*СТОВ «АФ «Петродолинське» (Одеська обл., Україна)*

³*Миколаївський національний аграрний університет (Миколаїв, Україна)*

Викладено результати аналізу робіт з трансплантації кріоконсервованих ембріонів голитинської та англєрської порід німецької селекції телицям-реципієнтам у господарствах СТОВ «АФ «Петродолинське» (Одеська область) та на базі Державного підприємства дослідного господарства «Христинівське» Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН (Черкаська область). Встановлено, що ефективність приживлення кожного кріоконсервованого ембріона суттєво залежить від фізіологічного стану телиць-реципієнтів та стану їх статевої системи.

***Ключові слова:** велика рогата худоба, трансплантація кріоконсервованих ембріонів, телиці-реципієнти, яєчники, жовте тіло.*

Постановка проблеми. Наразі біотехнологічний метод трансплантації ембріонів великої рогатої худоби став ефективним засобом підвищення темпів відтворення стада та прискорення генетичного прогресу, адже використання великої кількості ембріонів від видатних корів поліпшить генетичні якості всієї популяції. Використання методів суперовуляції і трансплантації ембріонів значно збільшує інтенсивність селекції самок та дозволяє підвищити рівень народжування двійні [2, 7].

Нині більшість племінних господарств України, що розводять велику рогату худобу, закупають нетелей за кордоном через недостатню кількість вітчизняного елітного генетичного матеріалу. Метод отримання племінної худоби шляхом використання трансплантації ембріонів – продуктивніший, економніший та зручніший порівняно з іншими через можливість ефективного поповнення стада без затрат на завезення живих тварин [6, 11].

Аналіз останніх досліджень та публікацій. Трансплантація ембріонів великої рогатої худоби використовується як для поліпшення власного стада за

використання сперми високопродуктивних плідників для осіменіння власних корів, так і для повного оновлення стада у разі закупівлі ембріонів від високопродуктивних батьків [7, 8]. Ця технологія дозволяє значно збільшити число нащадків від кращих корів і створити найбільш однорідне, однотипне стадо високопродуктивних тварин за короткий термін. Від однієї корови за життя можна отримати в середньому 3-5 телят. А від одного донора можна отримувати ембріони 4-5 разів на рік, тому реальна можливість отримати 20-25 телят. Таким чином, використовуючи для отримання ембріонів 20 корів протягом одного року можна створити стадо в 200 корів. Природним шляхом можна отримати не більше 10 теличок і 10 бугайців. Особливе значення метод трансплантації ембріонів має для отримання плідників через збільшення поголів'я бугайців від матерів із рекордною молочною продуктивністю. У США і Канаді понад 70% бугаїв, які працюють на станціях штучного осіменіння, отримані таким методом. Отримані в результаті замовних спарювань телички-трансплантанти є вдалим селекційним матеріалом для вибору серед них рекордистів нового покоління і використання їх як матерів бугаїв [4].

Трансплантація ембріонів значно збільшує ефективність селекційної роботи. За штучного осіменіння корів теля успадковує лише частину корисних властивостей бугая і перевагу має успадковуваність ознак від корови, а за трансплантації ембріонів вплив реципієнтів на потомство практично відсутній. Трансплантація ембріонів має величезну цінність для прискореного створення певних родин, ліній і типів тварин у стадах, поширення мутантних генів (наприклад, стійкості до захворювань) або, навпаки, виявлення носіїв рецесивних генів і своєчасного вибраковування таких тварин зі стада. При виведенні нових порід або поліпшення існуючих застосовується міжнародний обмін тваринами. Обмін ембріонами здешевлює і спрощує проблему транспортування тварин. В цьому випадку майже повністю відпадає необхідність складних карантинних ветеринарних вимог, оскільки ембріони практично вільні від бактерій і грибів внаслідок багаторазової процедури промивання в стерильних середовищах, збагачених антибіотиками та

ферментами (трипсин), трансплантація ембріонів є ефективним методом акліматизації тварин. Велике значення має цей метод для оздоровлення стад молочної худоби від захворювань на лейкоз, інфекційного ринотрахеїту, вірусної діареї великої рогатої худоби, тому що віруси цих хвороб не передаються через ембріони.

Трансплантація ембріонів – єдиний можливий спосіб отримати потомство від цінних корів, які втратили здатність розмноження в результаті хвороби, нещасного випадку або за віком. Цей біотехнологічний прийом власного виробництва при собівартості близько \$ 100 за штуку дозволяє отримати власне племінне теля вартістю всього \$ 300, з відомою статтю – близько \$ 400. Це не менше як у 10 разів дешевше прибуття імпоротної нетелі, втомленої тривалою подорожжю, а потім нагородженої букетом місцевих інфекцій [5, 8, 10].

Постановка завдання – визначити фактори, що негативно впливають на приживлення кріоконсервованих ембріонів великої рогатої худоби після трансплантації їх телицям-реципієнтам.

Матеріал і методи досліджень. У Державному підприємстві – Дослідне Господарство «Христинівське» Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН» (ДП ДГ «Христинівське» ІРГТ ім. М.В. Зубця НААН») нами здійснено трансплантацію 25 кріоконсервованих ембріонів голштинської породи (червоно-ряба масть) німецької селекції (фірма «SPERMEX GmbH»), які отримані від п'яти корів-донорів з використанням сперми дев'яти бугаїв протягом 2015 – 2016 років.

Протягом 2016 року нами проведено трансплантацію 35 ембріонів англєрської породи німецької селекції (фірма «SPERMEX GmbH») в господарстві СТОВ «АФ «Петродолинське» (Одеська обл.). Ембріони були отримані від генетично цінних вісімнадцяти корів-донорів з використанням сперми дванадцяти плідників.

Вказані вище ембріони були отримані протягом 1996 – 2000 років і зберігались у кріоконсервованому стані. Слід зазначити, що ці генетичні ресурси є складовою програми удосконалення генетичного потенціалу

вітчизняних стад молочної худоби, перебувають на балансі Державного підприємства «Сумський державний селекційний центр» і надаються з метою поліпшення племінних і продуктивних якостей великої рогатої худоби та ефективного використання генетичних ресурсів зарубіжної селекції для виконання регіональних селекційних програм у скотарстві (наказ Міністерства аграрної політики України від 16 червня 2005 року №268) [7, 8].

Телиці-реципієнти відбирались відповідно до технологічних вимог та відповідали загальноприйнятим нормативам за віком і розвитком [1, 3]. Трансплантацію кріоконсервованих ембріонів проводили синхронізованим телицям-реципієнтам. Для синхронізації індукованого циклу реципієнтів піддавали гормональній обробці відповідно протоколу *Ovsynch* [10], та застосовували удосконалену пробіотично-циклічну схему гормональної обробки [11].

Контроль клінічних та морфо-функціональних показників органів репродукції телиць у період підготовки, синхронізації та визначення тільності здійснювали комплексним візуально-клініко-рефлексологічним способом з пальпаторною діагностикою [3, 9].

Перед трансплантацією ембріонів у телиць перевірялась наявність та якість жовтого тіла в яєчнику ректальним методом. За наявності жовтого тіла, діаметром не менше 0,8 см, реципієнтам проводили сакральну анестезію, після чого проводили трансплантацію ембріона у верхівку того рогу матки, де знаходиться яєчник із жовтим тілом (рис. 1, 2).

Протягом двох місяців проводили візуально-рефлексологічний контроль поведінки тварин, а в 60 днів – дослідження тільності. Розморожування ембріонів проводилось за методикою, рекомендованою фірмою «SPERMEX GmbH» (Німеччина).

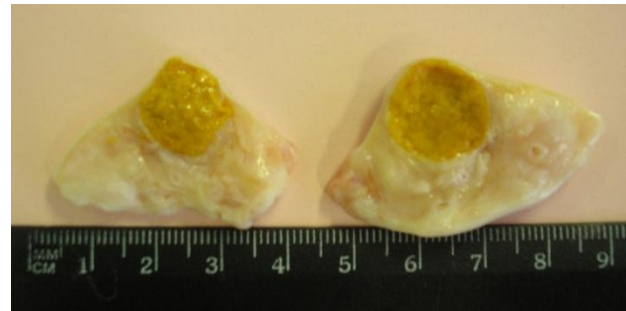
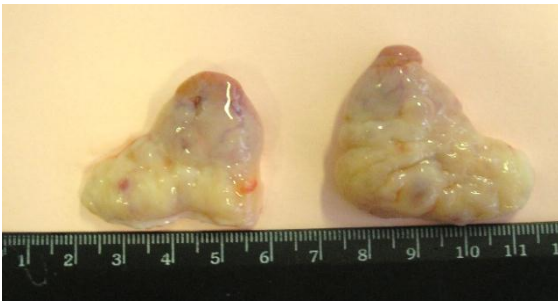


Рис. 1. Яєчники корови з жовтим тілом

Рис. 2. Яєчники корови з жовтим тілом в розрізі

Результати досліджень. В результаті виконаної трансплантації 25 кріоконсервованих ембріонів голштинської породи у ДП ДГ «Христиніське» ІРГТ ім. М.В. Зубця НААН» отримано тільність на рівні 20,0% та народилось п'ятеро телят-трансплантантів, серед яких чотири бугайці (в тому числі два монозиготних близнюки) і одна теличка. Встановлено, що найвищий генетичний потенціал мали ембріони, біологічними батьками яких є корова-донор Аннабель 78492720 та бугай Парадокс 297648 від яких отримано одного бугайця №4605, який наразі у 13-місячному віці перебуває на ПрАТ «Уманське племпідприємство» для подальшого використання його як плідника у селекційному процесі (рис. 3). Також, після трансплантації ембріонів від корови Дагмар 13341914 і бугая Аванті 297505 народилось два монозиготних близнюки-бугайці (№ 4606, № 4607), які наразі також перебувають на ПрАТ «Уманське племпідприємство».

Ще один бугаєць-трансплантант № 1548, який народився у квітні цього року від донора Ельба 78638817 і бугая Ахтунг 593338 та теличка-трансплантант № 2512 від корови-донора Беттіна 60080163 і бугая Фактор 504086 перебувають наразі у ДП ДГ «Христиніське» ІРГТ ім. М.В. Зубця НААН».

В господарстві СТОВ «АФ «Петродолинське» в результаті пересадки 35 ембріонів англєрської породи отримано тільність на рівні 23%. За результатами селекційної оцінки найвищий генетичний потенціал мали ембріони корови-донора Верена 10208858 та бугая Фабер 912913. Наразі від них народилась одна теличка-трансплантант № 866. Від донора

Ава 11983715 та плідника Вектор 593853, ембріони яких також мають досить високий генетичний потенціал, в цьому році отримано селекційно цінних дві телички-трансплантанти (№ 3213, № 862) та три бугайця-трансплантанта (№ 851, № 5073, № 5074). Від донора Уда 8737505 та бугая Фін Цент 595931 отримано в цьому році одного бугайця – № 5077 та одну теличку-трансплантанта № 5111.



Рис. 3. Бугаєць-трансплантант голштинської породи

Отже, плановане застосування трансплантації селекційно цінних ембріонів у господарствах забезпечить через 3-3,5 роки введення в стада груп первісток з високою молочною продуктивністю, які можуть стати потенційними донорами ембріонів на базі господарств. Також трансплантація ембріонів від високопродуктивних корів зарубіжної селекції дозволить отримати плідників для вітчизняного поголів'я.

Зважаючи на досить низький загальний рівень приживлення трансплантованих ембріонів (21,7%, 13 телят-трансплантантів із 60 ембріонів), ми проаналізували можливий негативний вплив на рівень приживлення тривалості зберігання ембріонів у рідкому азоті та можемо зазначити, що із 14 трансплантованих ембріонів, які були кріоконсервовані у 1995 році тільність реципієнтів становила 21,4%, а із 46 ембріонів, які в азоті перебували з 2002-2003 року тільність становила 17,4%. Тобто не встановлено суттєвого впливу тривалості зберігання кріоконсервованих ембріонів на рівень їх приживлення після трансплантації реципієнтам.

Низький рівень приживлення імовірно пов'язаний з умовами утримання в сучасних промислових комплексах телиць, в тому числі і відібраних до груп реципієнтів, адже в умовах сучасних промислових комплексів тварини постійно піддаються дії численних шкідливих факторів, які знижують імунітет і фертильність корів та телиць [11, 13]. Крім того, недостатність та неповноцінність формування функціональних жовтих тіл у лютеїнову фазу циклу були викликані впливом недоліків технології вирощування телиць, починаючи з молочного періоду і до настання статевої зрілості. Поєднана дія таких негативних факторів, як порушення гігієни і технології вигодовування та утримання молодняку є досить типовою для вітчизняних підприємств з промислового виробництва молока. Поголів'я в сучасних тваринницьких приміщеннях утримується при обмеженні рухливості та з високою концентрацією тварин на одиницю площі, що суттєво впливає на зниження природної резистентності, формує імуносупресивний стан. Тварини в умовах промислової технології вирощування і експлуатації піддаються ураженню хронічними хворобами слизових оболонок вірусно-бактерійної етіології, симптоми яких часто мають латентний перебіг, але суттєво знижують відтворення і виробничі показники [6, 12].

Висновки і перспективи подальших досліджень. Встановлено залежність трансплантації кріоконсервованих ембріонів великої рогатої худоби від підготовки телиць-реципієнтів і стану їх статевої системи. Вплив тривалості зберігання в рідкому азоті для ембріонів великої рогатої на їх життєздатність даними дослідженнями не підтверджено.

Ефективна трансплантація ембріонів від високопродуктивних корів, в тому числі зарубіжної селекції, дозволяє зменшити ризик обмеження генофонду порід та отримати плідників світового селекційного потенціалу для вітчизняного поголів'я племінних господарств.

Слід зазначити, що останніми роками за численними спостереженнями зарубіжних і вітчизняних авторів не відмічається прогресу в успішності приживлення кріоконсервованих ембріонів, яка для більшості господарств

становить від 20 до 50%, лише в кращих селекційних стадах піднімається до 55-60%. Це свідчить про те, що половина цінних генетичних ресурсів видатних тварин втрачається, а для успішного практичного застосування трансплантації потребують подальшого удосконалення.

Список використаних джерел:

1. Дуда Л. В. Коррекция дисбиотических состояний животных и птицы с помощью пробиотических препаратов на основе *Bacillus subtilis* / Л. В. Дуда // Ветеринарна медицина України. – 2010. – № 7. – С. 45-46.
2. Ковтун С. И. Получение *in vitro* и криоконсервация эмбрионов крупного рогатого скота определённого пола // Collection of works scientific symposium with international participation dedicated to 60th anniversary of the founding of the Institute “Zootechnical science – an important factor for the European type of agriculture”/ С. И. Ковтун, А. Б. Зюзюн, О. В. Щербак О. С. Осипчук, П. А. Троцький // Scientific and practical institute of biotechnologies in animal husbandry and veterinary medicine. – Мохімовса, Молдова. – 2016. – С. 485-489.
3. Мельник В. О. Акушерство, гінекологія і біотехнологія відтворення тварин. Конспект лекцій. / В. О. Мельник, С. А. Сидашова. – Миколаїв, 2013. – 140 с.
4. Постанова Президії НААН України від 30 червня 2015 р. – Протокол №7. – «Формування генетичних ресурсів вітчизняних порід сільсько-господарських тварин у контексті продовольчої безпеки держави».
5. Програма збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року / Ю. Ф. Мельник, Д. М. Микитюк, О. В. Білоус та ін. – К. : Арістей, 2009. – 132 с.
6. Сидашова С. О. Ембріопродуктивність корів-донорів і функціональна асиметрія яєчників / С. О. Сидашова, В. Ф. Стаховський, С. І. Ковтун // Розведення і генетика тварин: міжвід. тем. НАУК. зб. – К. : Аграрна наука, 2016.– № 51. – С. 247-255.
7. Baruselli P. S. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle / P. S. Barusellia, R. M. Ferreira, J. N. S. Salesa, L. U. Gimenesa, M. F. S Filhoa, C. M. Martinsa, C. A. Rodriguesb, G. A. Bc // Theriogenology. – 2011. – Vol. 76. – Pp. 1583-93.
8. Kovtun S. The use of biotechnological methods for conservation of animal genetic resources / S. Kovtun, O. Shcherbak, A. Zyuzuyn, N. Rieznikova, A. Duvanov, A. Osypchuk // Journal of Animal Science (BG) – Софія, Болгарія. – 2013. – С. 83-87.
9. Selk G. Embryo transfer in cattle / G. Selk // Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma Cooperation Service, 2014. – № 3158. – P. 4.
10. Selk G. Embryo transfer in cattle / G. Selk // Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma Cooperation Service, 2014. – № 3158. – P.8.
11. Stroud B. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others / B. Stroud, J. F. Hasler // Theriogenology. – 2006. – Vol. 65. – Pp. 65-76.
12. Pene P. The International Transfer School / P. Pene // Internet resource / mhtml:file //G:school transfer.mht. – 20.04.2012. – 22 p.
13. Yong D. Chronic factors infections: living with unwanted guests / D. Yong, T. Hassell, Y. Duongan // Nat. im. – 2002. – V. 3, № 11. – P. 1026-1032.

А. Б. Зюзюн, С. А. Сидашова, И. Н. Лютая. Анализ эффективности трансплантации криоконсервированных эмбрионов крупного рогатого скота

Большинство племенных хозяйств Украины, которые разводят крупный рогатый скот, закупают нетелей за рубежом из-за недостатка отечественного элитного генетического материала. Метод получения племенного скота путем использования

трансплантации эмбрионов - продуктивней, экономней и удобней по сравнению с другими из-за возможности эффективного пополнения стада без затрат на завоз живых животных. Трансплантация эмбрионов значительно увеличивает эффективность селекционной работы.

Результаты анализа работы по трансплантации криоконсервированных эмбрионов англеской и голштинской пород немецкой селекции реципиентам были получены в хозяйствах СООО «АФ» Петродолинское»» (Одесская обл.) и на базе Государственного предприятия ГП ОХ «Христиновское» Института разведения и генетики животных имени М.В. Зубца НААН (Черкасская обл.).

В результате работы не установлено существенного влияния продолжительности хранения криоконсервированных эмбрионов на уровень их приживления после трансплантации реципиентам. Низкий уровень приживления эмбрионов связан с условиями содержания в современных промышленных комплексах телок, в том числе и отобранных в группы реципиентов, ведь в условиях современных промышленных комплексов животные постоянно подвергаются воздействию многочисленных вредных факторов, которые снижают иммунитет и фертильность коров и телок.

Установлено, что приживление пересаженных криоконсервированных эмбрионов крупного рогатого скота существенно зависит от физиологического состояния телок-реципиентов и состояния их половой системы.

Эффективная трансплантация эмбрионов от высокопродуктивных коров, в том числе зарубежной селекции, позволяет уменьшить риск ограничения генофонда пород и получить производителей мирового селекционного потенциала для отечественного поголовья племенных хозяйств.

Следует отметить, что в последние годы по многочисленным наблюдениям зарубежных и отечественных авторов не отмечается прогресса в успешности приживления криоконсервированных эмбрионов, которая для большинства хозяйств составляет от 20 до 50%, только в лучших селекционных стадах поднимается до 55-60%. Это свидетельствует о том, что половина ценных генетических ресурсов выдающихся животных теряется, а для успешного практического применения трансплантации требуют дальнейшего совершенствования.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, трансплантация криоконсервированных эмбрионов, телки-реципиенты, яичники, желтое тело.

A. Zuyzyun, S. Sidashova, I. Liuta. Efficiency transplantation of cryopreserved embryos of cattle

Most of the breeding farms in Ukraine, which bred cattle, buy the heifers abroad due to a lack of domestic elite genetic material. The method of obtaining pedigree livestock by using embryo transplantation is more productive, economical and more convenient than others because of the possibility of efficient replenishment of the herd without the cost of bringing live animals. Transplantation of embryos significantly increases the efficiency of selection work.

The results the analysis of transplant thawed embryos German selection angler breeds and holstein breeds on farms JV "AF" Petrodolynske "" (Odessa region). And at the state enterprise State Enterprise DG "Khrystynivka" Institute of Animal Breeding and Genetics nd. a. M.V.Zubets of National Academy of Agrarian Science of Ukraine". (Cherkasy region).

As a result of the work, there is no significant effect on the duration of storage of cryopreserved embryos on the level of their engraftment after transplantation to recipients. The low level of engraftment of embryos is associated with the conditions of heifers in modern industrial complexes, including those selected in the recipient groups, because in modern industrial complexes animals are constantly exposed to numerous harmful factors that reduce the immunity and fertility of cows and heifers.

It was established that the engraftment of transplanted cryopreserved embryos of bovine animals essentially depends on the physiological state of the heifers-recipients and the state of their reproductive system.

Effective transplantation of embryos from highly productive cows, including foreign selection, allows to reduce the risk of restriction of gene pool of breeds and to receive manufacturers of world breeding potential for domestic livestock of breeding farms.

It should be noted that in recent years, according to numerous observations of foreign and domestic authors, there has been no progress in the success of engraftment of cryopreserved embryos, which for most farms is between 20 and 50%, only 55-60% rise in the best breeding herds. This indicates that half of the valuable genetic resources of outstanding animals are lost, and for successful practical application, transplants require further improvement.

Keywords: *cattle, transplantation, the recipient, cryopreserved embryos, ovaries, the corpus luteum.*