

ВИКОРИСТАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ

О. В. Щербак¹, кандидат с.-г. наук, завідувач лабораторії біотехнології,
О. С. Осипчук^{1*}, аспірант,
І. М. Люта^{2*}, аспірант

¹Інститут розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН,
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н., Київська обл., 08321, Україна

²Миколаївський національний аграрний університет,
вул. Паризької комуни, 9, м. Миколаїв, 54020, Україна

На сучасному етапі розвитку біотехнології проблема тривалого збереження генофонду малочисельних місцевих порід сільськогосподарських тварин займає одне з головних місць. Збереження генофонду таких порід останніми роками розглядається в плані виконання основних завдань Конвенції про біологічну різноманітність, яку в 1992 році підписали 167 країн, а в 1994 році вона була ратифікована Верховною Радою України. Згідно “Програми збереження генофонду основних видів сільськогосподарських тварин в Україні на період до 2015 року” сіра українська порода великої рогатої худоби віднесена до вітчизняного генофондового об’єкту, який перебуває на межі зникнення. Загальне племінне поголів’я великої рогатої худоби сірої української породи станом на 01.01.2015 року становить 908 голів (із них корів – 345) та розводиться в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Поливанівка» Інституту сільського господарства степової зони НААН» та Державному підприємстві «Дослідне господарство «Маркеєво» Інституту тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова «Асканія-Нова» – ННСГЦВ.

Дослідження проведені в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Поливанівка» Інституту сільського господарства степової зони НААН». Донорами ембріонів були чотири корови та три телиці сірої української породи. Для штучного осіменіння донорів використовували сперму бугаїв сірої української породи, яка зберігалась протягом 35 – 43 років у Банку генетичних ресурсів Інституту розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН. Вимивання ембріонів проводили нехірургічним методом на 7 – 8-й день після першого осіменіння. Ембріони заморожували в пайєтах при мінус 196°C методом пасивного охолодження у рідкому азоті.

За результатами проведених робіт отримано 78 ембріонів (14 штук від трьох телиць та 64 – від чотирьох корів). За результатами морфологічної оцінки до Банку генетичних ресурсів Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН вдалося закласти на тривале зберігання 30 ембріонів, тобто відсоток повноцінних ембріонів у середньому становив 38,5.

Ключові слова: СІРА УКРАЇНСЬКА ПОРОДА, КОРОВИ-ДОНОРИ, ТЕЛИЦІ-ДОНОРИ, КРІОКОНСЕРВАЦІЯ ЕМБРІОНІВ, МОРФОЛОГІЧНА ОЦІНКА

Питання щодо збереження генофонду малочисельних місцевих порід сільськогосподарських тварин було поставлене ще в 20-х роках минулого століття О. С. Серебровським [1]. Збереження генофонду таких порід останніми роками розглядається

*Науковий керівник — доктор. с.-г. наук, професор, член-кореспондент НААН С. І. Ковтун

в плані виконання основних завдань Конвенції про біологічну різноманітність, яку в 1992 році підписали 167 країн, а в 1994 році вона була ратифікована Верховною Радою України. Нині в Національна академія аграрних наук України об'єднала наукові зусилля підпорядкованих інститутів для вирішення проблеми використання генофонду зникаючих порід сільськогосподарських тварин в рамках завдань програми наукових досліджень „Збереження генофонду”. Генофондові стада вітчизняних порід є елементом біорізноманіття навколишнього середовища, структурною одиницею біогеоценозу [2]. В Україні нині внаслідок об'єктивних і суб'єктивних причин генофонд локальних порід сільськогосподарських тварин невинно скорочується.

Велика рогата худоба сірої української породи є унікальною локальною аборигенною породою України. Її генофонд брав безпосередню участь у формуванні майже всього спектру європейських порід. На її основі були створені вітчизняні породи: червона степова, симентальська, лебединська, українська м'ясна. Тварини витривалі, пристосовані до умов степу, мають високу резистентність.

Загальне поголів'я худоби даної породи становило у 2012 році 1188 голів. [3]. Наразі станом на 01.01.2015 року за даними Державного племінного реєстру загальне племінне поголів'я великої рогатої худоби цієї породи становить 908 голів (із них корів – 345) та розводиться в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Поливанівка» Інституту сільського господарства степової зони НААН» та Державному підприємстві «Дослідне господарство «Маркеєво» Інституту тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова «Асканія-Нова» – ННСГЦВ. Тварини сірої української породи відрізняються неперевершеними робочими та м'ясними якостями, великою масою та міцністю конституції. У віці 18 місяців бугайці досягають живої маси 500 – 520 кг, забійний вихід становить 58 – 60%. Характерною особливістю породи є її дрібноплідність, висока плодючість (90 – 99 телят на 100 самок) [4].

Аналіз генетичної структури сірої української породи, проведений багатьма дослідниками свідчить про особливості і унікальності спектру її генетичних характеристик. Тварини сірої української породи є носіями резерву унікальних спадкових якостей та генних комплексів, тому її генофонд особливо цікавить науковців, а її вивчення та збереження має особливе значення [5].

Перспективним шляхом збереження генетичних ресурсів цінних видів і порід сільськогосподарських тварин та за потреби швидкого відновлення їх поголів'я забезпечує зберігання ембріонів за низьких температур у кріобанках. Такий підхід забезпечує накопичення генетичного матеріалу від генетично цінних тварин (ооцити, ембріони), в тому числі генофонду рідкісних і зникаючих порід і транспортування ембріонів в будь-які країни світу.

Метою роботи є дослідження впливу фізіологічного статусу донорів ембріонів великої рогатої худоби сірої української породи на кількість отриманих ембріонів та рівень їх придатності до заморожування.

Матеріали і методи. Роботи щодо отримання та кріоконсервації ембріонів сірої української породи великої рогатої худоби виконувались в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Поливанівка» Інституту сільського господарства степової зони НААН». В якості донорів було відібрано 14 тварин (вісім телиць і шість корів), яким синхронізували статевий цикл. Стимуляцію суперовуляції проводили враховуючи стан тварини після отелення та післяродового періоду. Гормональну обробку тварин проводили фолікулостимулюючим гормоном (ФСГ) з додаванням пролонгатора його дії протягом 5 днів, починаючи з 8 – 12 дня від прояву ознак охоти. Для штучного осіменіння донорів використовували сперму бугаїв сірої української породи, яка зберігається в Банку генетичних ресурсів Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН: Інжир 7927 (сперма зберігається 43 роки), Барвінок 8247 (43 роки), Гігант 5948 (35 років).

Осіменіння тварин здійснювали 2 – 3 рази подвійною дозою сперми з інтервалом у 12 годин. Сперму вводили у порожнину тіла матки.

Вимивання ембріонів проводили на 7-8-й день після першого осіменіння з використанням нехірургічного методу. Одержані *in vivo* ембріони великої рогатої худоби промивали в середовищі Дюльбеко (PBS, Sigma, D-5652) з додаванням 0,075 мг/мл канаміцину сульфату з 20% фетальної сироватки теляти. Під мікроскопом МБС-9 проводили пошук, оцінку та інші маніпуляції з ембріонами. Ембріони заморожували у рідкому азоті при мінус 196°С в пайєтах методом пасивного охолодження у горловині посудини Дьюара.

Результати й обговорення. На початку досліджень нами було обрано 14 голів сірої української породи (шість корів та вісім телиць) для гормональної обробки та планованого вимивання ембріонів. Але після підготовки до суперовуляції та за результатами вимивання ембріонів встановлено, що лише 50 % тварин були донорами ембріонів (табл.1), які стали придатними для кріоконсервації (три телиці і чотири корови). Після вимивання ембріонів у донорів отримано 78 ембріонів, у т. ч. від телиць було отримано 14 ембріонів, від корів – 64 ембріони. Проведено морфологічну оцінку отриманих ембріонів, придатними для заморожування виявились 30 ембріонів (п'ять від телиць (35,7%) і 25 від корів (39,1%). Відсоток повноцінних ембріонів у середньому становив 38,5% (табл.1).

Таблиця 1

Одержання ембріонів великої рогатої худоби сірої української породи в Державному підприємстві «Дослідне господарство «Поливанівка» Інституту сільського господарства степової зони НААН»

| № п/п | Кличка, № донора, дата народження | Кличка, № бугая, термін зберігання сперми | Всього вимито ембріонів, шт. | Придатних для заморожування, шт. | Ефективність ембріон-продуктивності, % |
|--------|-----------------------------------|---|------------------------------|----------------------------------|--|
| 1 | Пальма 8938, 24.04.11 | Інжир 7927, 43 р. | 7 | 2 | 28,6 |
| 2 | Редиска 6532, 23.03.11 | Інжир 7927, 43 р. | 5 | 2 | 40,0 |
| 3 | Сауна 9023, 20.03.11 | Барвінок 8247, 43 р. | 2 | 1 | 50,0 |
| 4 | Зарніца 1082, 22.01.04 | Гігант 5948, 35 р. | 17 | 9 | 53,0 |
| 5 | Турбіна 2250, 12.12.94 | Гігант 5948, 35 р. | 10 | 7 | 70,0 |
| 6 | Тайга 0505, 04.04.10 | Гігант 5948, 35 р. | 31 | 5 | 16,1 |
| 7 | Земфіра 0582, 09.03.07 | Запад 2705, 22 р. | 6 | 4 | 66,7 |
| Всього | | | 78 | 30 | 38,5 |

Встановлено, що після гормональної обробки корови сірої української породи проявили високий рівень реакції яєчників на суперовуляцію, що забезпечило вимивання від них в середньому 16 ембріонів на одну голову, тоді як цей показник у телиць був у 3,4 рази нижчим і становив лише 4,7 ембріонів. Така кількість ембріонів за одне вимивання від корів сірої української породи є досить високою і не відрізняється від ембріопродуктивності корів інших порід. Найвищий прояв реакції на суперовуляцію зафіксовано у корів Тайга (31 шт.) і Зарніца (17 шт.).

За результатами цитоморфологічного аналізу встановлено, що із збільшенням кількості вилучених ембріонів за одне вимивання відсоток придатних для заморожування зародків зменшується. Вимиті у донорів ембріони за цитоморфологічними ознаками було поділено на класи (табл.2). Ембріони відмінної і доброї якості мали округлу форму, цілу прозору оболонку, чітку диференціацію клітин трофобласту і ембріобласту. До ембріонів задовільної якості відносили ембріони, які мали включення, гранули, диференціації між клітинами трофобласту і ембріобласту не спостерігалася. Умовно придатні ембріони мали дефекти прозорої оболонки, часткове руйнування клітин, стиснення бластомерів. Непридатні ембріони характеризувались невідповідністю стадії розвитку віку ембріону, значними дефектами прозорої оболонки, розпадом бластомерів та їх рихлим з'єднанням.

Оцінка якості ембріонів

| Донори | Класи якості ембріонів, кількість | | | | |
|--------|-----------------------------------|-------|------------|-----------------|------------|
| | Відмінні | Добрі | Задовільні | Умовно придатні | Непридатні |
| Телиці | 4 | 1 | 5 | 3 | 1 |
| Корови | 18 | 7 | 28 | 3 | 8 |
| Всього | 22 | 8 | 33 | 6 | 9 |

Для заморожування було використано ембріони відмінної (28,2%), доброї (10,3%) якості. Ембріони задовільної якості, умовно придатні і непридатні не використовувалися для заморожування.

Від трьох телиць-донорів, яких осіменяли спермою, термін зберігання якої становив 43 роки, було вимито 14 ембріонів, з яких лише п'ять штук (35,7%) виявились придатними для кріоконсервації. Від чотирьох корів-донорів, які були осіменені спермою бугаїв, яка була кріоконсервована від 22 до 35 років, було отримано 64 ембріони, з них 25 (39,1%) виявились придатними для заморожування. Очевидним є те, що тривалість зберігання в кріоконсервованому стані сперми, якою осіменяли донорів, не впливала на вихід ембріонів. Також необхідно зазначити, що повноцінних ембріонів від корів-донорів у середньому на одну голову було одержано 6,25 штук, що у 3,7 рази вище, ніж від телиць-донорів.

Отже, за результатами досліджень встановлено, що більш ефективно як донорів ембріонів сірої української породи використовувати корів, оскільки в розрахунку на одну голову одержано 16 ембріонів (в тому числі 6,25 штук придатних для кріоконсервації), а від телиць-донорів ці показники були відповідно 4,7 і 1,7 штук.

ВИСНОВКИ

Результати досліджень свідчать, що біотехнологічні методи нехірургічного вилучення ембріонів та їх кріоконсервація необхідно застосувати для збереження генофонду унікальних локальних і аборигенних порід великої рогатої худоби з подальшим плануванням раціонального використання їх генофонду.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження проводитимуться з метою розроблення комплексу методів оцінки ембріонів тварин аборигенних порід великої рогатої худоби для збереження та відтворення їх генофонду.

USE OF BIOTECHNOLOGICAL METHODS FOR THE CONSERVATIONS AND SUSTAINABLE USE OF GRAY UKRAINIAN GENE POOL BREEDS

O. V. Shcherbak¹, O. C. Osypchuk¹, I. M. Liuta²

¹Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets of NAAS
1, Pogrebnyak Str. v. Chubinske, Boryspil district, Kiev region, 08321, Ukraine

²Mykolayiv National Agrarian University,
9, Paryzka Komuna Str., Mykolayiv, 54020, Ukraine

SUMMARY

The problem of long-term preservation of the gene pool of local livestock breeds with small population size is one of the main at the present stage of biotechnology development. In recent years preservation of gene pool of these breeds is considered in terms of performance of the main objective of the Convention on Biological Diversity, which in 1992 was signed by 167 countries

and in 1994 it was ratified by the Verkhovna Rada of Ukraine. The Ukrainian Grey breed was attributed to the domestic gene pool object which is on the verge of extinction according to "Conservation program of gene pool of the main types of farm animal in Ukraine till 2015". The total breeding population of the Ukrainian Grey cattle was 908 animals (including 345 cows) as of 01.01.2015 and they are breeding in the State Enterprise "Polyvanivka" experimental farm of Institute of Agriculture of Steppe Zone of NAAS" and the "State Enterprise "Markeyevo" experimental farm of Institute of Animal-breeding of Steppe Regions named after M. F. Ivanov "Askania Nova".

The research has been conducted at the State Enterprise "Polyvanivka" experimental farm of Institute of Agriculture of Steppe Zone. Embryos donors were four cows and three first-calf heifers of Ukrainian Grey breed. Donor sperm of Ukrainian Grey bulls that was kept during 35-43 years at Bank of Genetic Resources of Institute of Animal Breeding and Genetics named after M. V. Zubets of NAAS was used for artificial insemination. Embryo washout was carried by non-surgical method by 7 - 8 days after the first insemination. The embryos were frozen in straws at minus 196 ° C by passive cooling in liquid nitrogen.

The results of the work were 78 received embryos (14 embryos from three first-calf heifers and 64 ones from four cows). According to the results of morphological assessment it was managed to lay 30 embryos for long-term storage in Bank of Genetic Resources of Institute of Animal Breeding and Genetics. The percentage of the full-value embryos was 38.5 on average.

Keywords: GREY UKRAINIAN BREEDS, COWS-DONORS, HEIFER-DONORS, CRYOPRESERVED EMBRYOS, CRYOPROTECTOR, MORPHOLOGICAL EVALUATION OF EMBRYOS.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ГЕНОФОНДА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА СЕРОЙ УКРАИНСКОЙ ПОРОДЫ

О. В. Щербак¹, А. С. Осипчук¹, И. Н. Лютая²

¹Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН
ул. Погребняка, 1, с. Чубинское, Бориспольский р-н, Киевская обл., 08321, Украина

²Николаевский национальный аграрный университет, ул. Парижской коммуны, 9,
г. Николаев, 54020, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

На современном этапе развития биотехнологии проблема длительного сохранения генофонда малочисленных местных пород сельскохозяйственных животных занимает одно из главных мест. Сохранение генофонда таких пород в последние годы рассматривается в плане выполнения основных задач Конвенции о биологическом разнообразии, которую в 1992 году подписали 167 стран, а в 1994 году она была ратифицирована Верховной Радой Украины. Согласно "Программе сохранения генофонда основных видов сельскохозяйственных животных в Украине на период до 2015 года" серая украинская порода крупного рогатого скота отнесена к отечественному генофондному объекту, который находится на грани исчезновения. Общее поголовье крупного рогатого скота серой украинской породы на 01.01.2015 года составляет 908 голов (из них коров – 345) и разводится в Государственном предприятии «Опытное хозяйство «Поливановка» Института сельского хозяйства степной зоны НААН», Государственном предприятии «Опытное хозяйство «Маркеево» Института животноводства степных районов имени М.Ф. Иванова «Аскания-Нова» – ННСГЦВ.

Исследования были проведены в Государственном предприятии «Опытное хозяйство

«Поливановка» Института сельского хозяйства степной зоны НААН». Донорами эмбрионов были четыре коровы и три телки серой украинской породы. Для искусственного осеменения доноров использовали сперму быков серой украинской породы, которая хранилась 35 – 43 года в банке генетических ресурсов Института разведения и генетики животных имени М. В. Зубца НААН. Вымывание эмбрионов проводили нехирургическим методом на 7-8-й день после первого осеменения. Эмбрионы замораживали в паетах при -196°C методом пассивного охлаждения в жидком азоте.

По результатам проведенных работ получено 78 эмбрионов (14 штук от трех телок и 64 – от четырех коров). По результатам морфологической оценки в Банк генетических ресурсов Института разведения и генетики животных имени М.В.Зубца НААН заложено 30 эмбрионов для длительного хранения, то есть процент полноценных эмбрионов в среднем составляет 38,5.

Ключевые слова: СЕРАЯ УКРАИНСКАЯ ПОРОДА, КОРОВЫ-ДОНОРЫ, ТЕЛКИ-ДОНОРЫ, КРИОКОНСЕРВАЦИЯ ЭМБРИОНОВ, МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА

ЛІТЕРАТУРА

1. *Серебровский А. С.* Схема селекционной работы в районе породы / А. С. Серебровский // Проблемы животноводства. — 1933. — № 5. — С. 34-44.
2. *Фурса Н. М.* Збереження генофонду сірої української породи худоби на півдні України / Н. М. Фурса // Науковий вісник "Асканія-Нова". — 2012. — С. 158-165.
3. Державна книга племінних тварин великої рогатої худоби сірої української породи. — Т. VII. — К. : ППНВ. — 2012. — 171 с.
4. Стратегія розвитку м'ясного скотарства в Україні в контексті національної продовольчої безпеки / [Зубець М. В., Буркат В. П., Гузев І. В. та ін.]. — К.: Аграрна наука, 2005. — 176 с.
5. *Буркат В. П.* Генетичні особливості сірої української породи / В. П. Буркат, В. В. Дзіцюк, Б. Є. Подоба // Вісник аграрної науки. — 2006. — № 9. — С. 47–51.

Рецензент — М. І. Кузів, к. вет. н., Інститут біології тварин НААН.