

ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ЕМБРІОНІВ У СВИНАРСТВІ

Я. В. Малишева, студент, *malyshevayana2018@gmail.com*

Науковий керівник – д. с.-г. н., доцент Мельник В. О.

Миколаївський національний аграрний університет

Досліджено історію розвитку трансплантації ембріонів в свинарстві. Зроблено огляд застосувань нових підходів до селекційно-плеємної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій у свинарстві. Розглянуто розробки з трансплантації ембріонів у свиней за останні роки. Зроблено аналіз переваг та недоліків даної технології.

Ключові слова: трансплантація ембріонів, свинарство, запліднення, отримання ембріонів in vitro, трансцервікальна трансплантація.

Постановка проблеми. За існуючих методів селекції генетичний потенціал деяких продуктивних тварин не можна використати максимально. Потрібно застосовувати принципово новітні підходи до селекційно-плеємної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій тварин. Біотехнологічні методи відтворення повинні прискорювати розмноження тварин з максимальним використанням резервних репродуктивних потенцій [1]. Вивчення і пізнання процесу розмноження та різноманіття форм його реалізації дозволяє одержати знання, які будуть корисними для розробки технології трансплантації ембріонів сільськогосподарських тварин.

Аналіз останніх досліджень та публікацій. О. В. Квасницький, працюючи в Полтаві у НДІ свинарства (тепер Інститут свинарства УААН – ІС), розробив метод трансплантації ембріонів свиней та у 1950 р. вперше серед країн СНД групою наукових співробітників з Інституту свинарства УААН – Мартиненком, Коваленком, Денисюком і Чирковим – одержано порося методом нехірургічної трансплантації ембріонів у ріг матки свиноматки, вагітної власними зародками [2].

Аналіз вітчизняних та зарубіжних джерел літератури з проблем біотехнології відтворення свиней показав, що перспективним є альтернативний спосіб трансцервікальної трансплантації ембріонів (ТЦТ), який має назву локально-фіксованого і був запатентований в Україні після одержання приплоду трансплантаційного походження. Очевидно, що саме за таким способом майбутнє ТЦТ ембріонів в свинарстві, – підтвердженням тому є поява аналогічних розробок вчених із Японії – Nakazawa Y., Misawa H., Fujino Y. et al., стаття яких була подана до редакції журналу J. Reprod. Dev.-29.10.07 і опублікована 2008 р. – Vol. 54, N 1, February. – P. 30- 34 [3].

Постановка завдання. Розкрити застосування у сучасному свинарстві методів трансплантації ембріонів і пов'язані з цим проблеми.

Матеріали і методика. Аналіз літературних експериментальних і теоретичних даних. Розглянуто наукові досягнення Квасницького, Мартиненка, Коваленка, Денисюка і Чиркова.

Висвітлено сучасний стан і перспективи розвитку трансцервікальної трансплантації ембріонів у свинарстві. Зроблено висновок про епізодичний характер її застосування, при одночасному поширенні в інноваційних біотехнологіях застосування хірургічного і напівхірургічного (ендоскопічного) методів трансплантації. Причина – у низькому рівні імплантації після ТЦТ, у зв'язку з чим зусилля дослідників із різних країн світу концентруються на вирішенні саме цієї проблеми.

Результати досліджень. У наш час біотехнологія, як невід'ємна ланка методології збереження генофонду, охоплює широкий ареал відтворних маніпуляцій у клітинній інженерії та молекулярній генетиці. Репродуктивна біотехнологія включає штучне осіменіння, синхронізацію статевої функції, кріоконсервування ооцитів та ембріонів, отриманих *in vivo* та *in vitro*, сперми, розділення ембріонів навпіл, перенесення ядерного матеріалу за допомогою мікроін'єкцій та інше. Проте кінцевий результат у більшості технологій можливий тільки при застосуванні методу трансплантації ембріонів.

Трансплантація ембріонів – це біотехнологічний метод пересаджування ембріонів, вимитих від високоцінних порід тварин, менш цінним тваринам, який включає в себе комплекс методів, скерованих на синхронізацію естральних циклів донора і реципієнта, викликання поліовуляції у донора, оцінку та збереження ембріонів, пересаджування їх у геніталії реципієнта.

У зв'язку з бурхливим розвитком клітинної біотехнології, трансплантація ембріонів у свинарстві останнім часом набула важливого значення. Розроблені методи трансплантації ембріонів свиней мають не лише наукове, а й прикладне значення і невдовзі зможуть набути такого самого значення у збереженні генофонду, як і в скотарстві.

Академік УРСР Олексій Володимирович Квасницький в 1950 р. вперше у світі отримав поросят-трансплантатів, випередивши американських вчених. Полтавська технологія хірургічної трансплантації ембріонів свиней, розроблена під його керівництвом, забезпечує збереження генофонду племінного поголів'я. Технологія базується на урахуванні фізіологічних особливостей репродуктивного апарату свині, яка забезпечує пересадження яйцеклітин після того, як вони були запліднені природним шляхом у материнському організмі, так і яйцеклітин, запліднених в умовах *in vitro* [4].

Вперше серед країн СНД – Мартиненко, Коваленко, Денисюк і Чирков – одержали порося методом нехірургічної трансплантації ембріонів у ріг матки свиноматки, вагітної власними зародками [2]. Цей спосіб є атравматичним, не потребує анестезії та фіксації реципієнта і може бути застосований в умовах свиноферми як до свиноматок, так і до свинок незалежно від маси й розмірів тіла та ґрунтується на основі фізіологічної властивості скорочення й розслаблення цервікальної мускулатури. Спосіб забезпечує атравматичне пересадження 6-8-денних бластоцист із локалізацією їх у середній або верхній третині рогів матки й одержання 83,33% опоросів.

Практичне визнання у свинарстві трансплантація ембріонів одержала, перш за все, в плані оздоровлення стад, як метод вилучення неінфікованого генетичного матеріалу від цінних у племінному відношенні маток зі стад,

уражених вірусними хворобами, а також для запобігання занесення інфекції при введенні нового генетичного матеріалу в стада. І в цьому аспекті хірургічний метод трансплантації (ХМТ), не зважаючи на складність і високу вартість, вважається економічно вигідним. Проте вагомим поширенням у свинарстві трансплантація ембріонів зможе набути лише за умов наявності ефективних способів нехірургічної, тобто трансцервікальної трансплантації (ТЦТ) [5].

Існує близько двох десятків способів ТЦТ, і майже всі вони базуються на конструюванні пристроїв, здатних долати опір цервікса механічним шляхом, що у більшості випадків вимагає повної анестезії або седації реципієнта.

Аналіз сучасних наукових публікацій з питань трансплантації ембріонів у свинарстві свідчить про вельми обмежене застосування ТЦТ. Майже весь приплід від застосування різних репродуктивних біотехнологій одержується з використанням хірургічного методу трансплантації (ХМТ).

Отже, незважаючи на існування різноманітних способів ТЦТ, ефективність їх залишається низькою або вони не затребувані через конструктивні недоліки пристроїв чи складність процедури. Все більше поширюється напівхірургічний спосіб ендоскопічної трансплантації ембріонів [6].

Залишається актуальним зменшення травмування при проходженні цервікально-маткового каналу, і чим менше глибина введення катетера у ріг, тим менша зона і сила подразнення. Навіть незначне подразнення рецепторів матки викликає викид простагландину F_{2α}, який є специфічним лютеолітичним фактором. Це призводить до резорбції жовтих тіл і загибелі не лише трансплантованих, але й власних ембріонів реципієнта, якщо він був попередньо спарований.

У результаті багатьох досліджень було розроблено альтернативний спосіб ТЦТ ембріонів, який має назву локально-фіксованого і був запатентований в Україні після одержання приплоду трансплантаційного походження. Очевидно, що саме за таким способом майбутнє ТЦТ ембріонів свині.

На підставі розкритих просторових особливостей впливу маткових секретів на життєдіяльність спермій, було визначено оптимальну ділянку фіксованої позиції внутрішнього катетера у розі матки на глибині 35 см від біфуркації. Практично до такого ж висновку дійшли й японські дослідники, визначивши, що оптимальним місцем локалізації трансплантованих ембріонів є відстань 20-30 см від біфуркації. Співпадають і дані відносно оптимальної кількості середовища трансплантації для виживання ембріонів до народження: 1,6-2 мл [7].

Окрім фізичних і фармацевтичних способів запобігання експульсії пересаджених ембріонів, існують суто фізіологічні. Це розробка об'єктивних тестів якості ембріонів і жорстка їх селекція. Це також метод попереднього парування реципієнтів із створенням умов для пріоритетного розвитку трансплантантів шляхом корекції хронологічної конфігурації біологічної системи "мати-плід", який забезпечує 83,33% опоросів і поросят трансплантаційного походження у гнізді [8].

Це і варіант спільної трансплантації одиничних нормальних ембріонів і певної кількості партеногенотів, заснований на тому ж фізіологічному принципі. Суть у тім, що партеногеноти здатні жити близько 30 діб у матці реципієнта, підтримуючи її гормональний статус, необхідний для процесу імплантації, що й забезпечує близько 77,8% опоросів нормальними поросятами, які розвинулись із поодиноких ембріонів. Цей метод запропоновано для одержання приплоду із реконструйованих (трансгенних, клонованих, заморожених тощо), нечисленних ембріонів. Досить перспективним стосовно підвищення рівня імплантації є також метод введення спермальної плазми у матку реципієнта [8].

Узагальнюючі висновки з аналізу сучасного стану ТЦТ ембріонів:

– на сучасному етапі застосування ТЦТ ембріонів у свинарстві має епізодичний характер і припадає, в основному, на експериментальні розробки окремих дослідницьких груп;

– практично в усіх інноваційних репродуктивних біотехнологіях для одержання приплоду з обмеженої кількості модифікованих ембріонів застосовується метод хірургічної трансплантації і набуває поширення напівхірургічний (ендоскопічний) метод як для трансплантації, так і для вирішення питань молекулярно-генетичної регуляції репродуктивних процесів;

– причиною обмеженого застосування ТЦТ є низький рівень імплантації й виживання до народження ембріонів-трансплантантів, у зв'язку з чим зусилля дослідників із різних країн світу спрямовані на вирішення саме цієї проблеми.

Загалом, трансплантація ембріонів свиней вирішує багато практичних завдань. Головним чином – це:

- підвищення ефективності використання генетичного потенціалу елітних свиней;

- збереження племінних тварин у карантинних стадах;

- відтворення зникаючих аборигенних порід свиней;

- отримання нащадків елітних неплідних свиноматок;

- інтродукція нових порід у замкнених стадах;

- отримання генетично модифікованих особин як біореакторів з метою виробництва лікарських препаратів для людей, а також продуцентів органів для ксенотрансплантації [9]. Колективом науковців Всеросійського інституту тваринництва було отримано трансгенних свиней з інтегрованим у геном гена гормона росту людини, який забезпечує експресію гена в секреторних клітинах молочної залози.

Методика ембріопересадження нині впроваджується зарубіжними науковцями у вирішенні низки питань, таких як міжконтинентальні перевезення ембріонів свиней, як альтернатива імпорту живих тварин, що обмежує тривалий карантин і зменшує ризик перенесення інфекцій, оскільки ембріони захищені прозорою оболонкою (*zona pellucida*), яка є непроникною навіть для вірусів.

Проте метод трансплантації ембріонів у свинарстві не набув широкого розповсюдження з деяких невирішених причин. Метод є високовартісним

унаслідок частого застосування хірургічного способу трансплантації, який потребує дорогого обладнання та кваліфікованих кадрів.

У свинарстві методики кріоконсервування ембріонів порівняно із заморожуванням ембріонів великої рогатої худоби не забезпечують належної ефективності. Існуючі технології кріоконсервування сперми, ооцитів та ембріонів свиней, як невід'ємна складова технології трансплантації ембріонів, нині ще не вдосконалені і потребують подальшого вивчення [10].

Висновки і перспективи подальших досліджень. Застосування методу трансплантації ембріонів у системі великомасштабної селекції свиней обмежується переважно проблемою збереження генофонду та науково-дослідними розробками.

Проте, трансплантація ембріонів – прогресивний напрям прискореного відтворення поголів'я, який дає можливість розв'язувати такі завдання: інтенсивно використовувати генетичний потенціал свиней-рекордисток, прискорити створення високопродуктивних родин та ліній, створення банку ембріонів від видатних тварин способом глибокого їх заморожування (кріоконсервації), збереження генетичних ресурсів нечисленних і зникаючих порід, спрощення транспортування ембріонів у різні регіони земної кулі. Тому необхідність продовжувати роботу в цьому напрямі є перспективним завданням сьогодення.

Список використаних джерел:

1. Куновський Ю. В. Розведення і генетика тварин. *Застосування трансплантації ембріонів у свинарстві* : випуск 40, ІРГТ ІМ. М.В. ЗУБЦЯ НААН. Київ, 2006. С. 69-74.
2. Мартиненко Н., Коваленко В., Чирков О. Одержано перше порося методом безкровної трансплантації. *Тваринництво України*. 1998. № 7. С. 12.
3. Nakazawa Y., Misawa H., Fujino Y. et al. Effect of volume of non-surgical embryo transfer medium in ability of porcine embryos to survive to term. *J.Reprod.Dev.* 2008. 54. 1. P. 30-34.
4. Квасницький А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г. Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. К.: Урожай, 1988. 264 с.
5. Мартиненко Н. А., Чирков О. Г., Денисюк П. В., Лобченко В. О. Трансцервікальна трансплантація ембріонів у свинарстві ХХІ століття: проблеми і перспективи. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. Полтава, 2008. № 4. С. 187-192.
6. Brussow K-P., Tomer H., Kanitz W., Ratky J. In vitro technologies related to pig embryo transfer. *Reprod Nutr Dev.* 2000. 40. 5. P. 469-80.

7. Усенко С.О., Шостя А.М., Базалевич А.В. Трансцервікальне штучне осіменіння свиноматок малими дозами сперми. *Свинарство: міжвід. темат. наук. зб.* Полтава, 2016 Вип. 68. С. 68-74.
8. Чирков О.Г. Фізіологічні фактори оптимізації умов розвитку в матці реципієнта ембріонів свині, трансплантованих нехірургічно (трансцервікально) : Дисертація, 03.00.13. – фізіол. людини і тварин. Ін-т свинарства ім. О.В. Квасницького УААН. Полтава, 2005. 134 с.
9. Emilio A. Martinez, Cristina A. Martinez, Josep M. Cambra, Carolina Maside et al. Achievements and future perspectives of embryo transfer technology in pigs: *Supplement article*. 2019. P. 4-5.
10. [Heiner Niemann](#), [Christine Wrenzycki](#). Embryo Transfer Technologies in Pigs. Curtis R. Youngs. *Animal Biotechnology 1: Reproductive Biotechnologies*. 2018. P. 167-169.

Y. Malysheva. EMBRYO TRANSFER TECHNOLOGIES IN PIGS.

The history of embryo transplantation development in pig breeding has been studied. An overview of the application of new approaches to selection and breeding work, which would accelerate the genetic improvement of populations in pig breeding. Developments on embryo transplantation in pigs in recent years are considered. The analysis of the advantages and disadvantages of this technology.

Key words: embryo transplantation, pig breeding, fertilization, in vitro embryo production, transcervical transplantation.