

УДК 636.4:591.31

Ю.В. КУНОВСЬКИЙ

Інститут розведення і генетики тварин УААН

ЗАСТОСУВАННЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ У СВИНАРСТВІ

Зроблено огляд застосувань нових підходів до селекційно-племінної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій у свинарстві. Розглянуто розробки з трансплантації ембріонів у свиней за останні роки.

Трансплантація ембріонів, свинарство, ооцити, отримання ембріонів *in vitro*

Створення нових порід, типів та ліній сільськогосподарських тварин у загальній масі з високим генетичним потенціалом зустрічається не дуже часто. Виробництво нині вимагає не лише високопродуктивних, стійких проти захворювань, а й стандартних за продуктивністю тварин. За існуючих методів селекції генетичний потенціал деяких продуктивних тварин не можна використати максимально. Потрібно застосовувати принципово новітні підходи до селекційно-племінної роботи, які б сприяли прискоренню генетичного поліпшення популяцій тварин. Біотехнологічні методи відтворення повинні прискорювати розмноження тварин з максимальним використанням резервних репродуктивних потенцій [10]. Перші кроки у створенні таких біотехнологічних підходів було зроблено ще в тридцятих роках. У їхню основу покладено штучне осіменіння та гормональне стимулювання плодючості.

У наш час біотехнологія, як невід'ємна ланка методології збереження генофонду, охоплює широкий ареал відтворювних маніпуляцій у клітинній інженерії та молекулярній генетиці. Репродуктивна біотехнологія включає штучне осіменіння, син-

© Ю.В. Куновський, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.

хронізацію статевої функції, кріоконсервування ооцитів та ембріонів, отриманих *in vivo* та *in vitro*, сперми, розділення ембріонів на віл, перенесення ядерного матеріалу за допомогою мікроін'єкцій та інше. Проте кінцевий результат у більшості технологій можливий тільки при застосуванні методу трансплантації ембріонів.

Батьком світової трансплантації ембріонів вважають професора Кембриджського університету Уолтера Хіпа (Walter Heap, 1855–1929), який у 1890 р. поставив дослід на кроликах з вивчення явища телегонії («переливання» спадкових ознак від матері до нащадків).

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

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 Кvasницький (1900–1990) в 1950 р. вперше у світі отримав поросят-трансплантатів, випередивши американських вчених. Нещодавно наукова світова спільнота відзначила 50-річчя цієї знаменної події [14]. 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* [1, 2].

Вперше серед країн СНД групою наукових співробітників з Інституту свинарства УААН (м. Полтава) — доктором біологічних наук Н.А. Мартиненком, академіком УААН В.Ф. Ковален-

ком, кандидатом біологічних наук П.В. Денисюком і О.Г. Чирковим — одержано порося методом нехіургічної трансплантації ембріонів у ріг матки свиноматки, вагітної власними зародками [7]. 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 ґрунтуються на основі фізіологічної властивості скорочення й розслаблення цервікальної мускулатури [8]. Спосіб забезпечує атравматичне пересадження 6–8-денних бластоцитів із локалізацією їх у середній або верхній третині рогів матки й одержання 83,33% опоросів [3].

Аналіз вітчизняних та зарубіжних джерел літератури з проблем біотехнології відтворення свиней знайшов своє відображення в наступній хронологічній послідовності (див. таблицю) [6, 12].

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 замкнүтих 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 [13].

Проте метод трансплантації ембріонів у свинарстві не набув широкого розповсюдження з деяких невирішених причин. Ме-

Хронологічна розробка біотехнологічних методів відтворення свиней

Технологія	Рік видання	Автори
Штучне осіменіння (свіжо- отриманою спермою)	1936	L.M. Rodin & V.J. Lipatow
Штучне осіменіння (заморожено-відталою спермою)	1970	C. Polge et al.
Ембріопересадження	1950	A.V. Kvasnickii
Заморожування ембріонів	1989	A. Hayashi et al.
	1995	H. Nagashima et al.
Нехірургічне ембріопересадження	1996	Н.А. Мартиненко, П.В. Денисюк, О.Г. Чирков
Запліднення <i>in vitro</i>	1985	W. Ceng
	1989	M. Mattioli et al.
Поділ ембріонів	1985	C. Polge
	1988 (морула/ бластоцитиста)	H. Nagashima et al.
Розвиток ізольованих бластомерів	1991	S. Saito & H. Niemann
Перенесення ядерного матеріалу	1989 (бластомери) 2000 (соматичні клітини)	R.S. Prather et al. I.A. Polejaeva et al.
Трансгенез	1985 (мікроін'єкції)	R.E. Hammer et al.

тод 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 [11]. Крім того, можливість дозрівання донорських яйцеклітин *in vitro* дає змогу удосконалювати та впроваджувати у практику новітні технології репродукції тва-

ринництва, такі як клітинна і генна інженерія, а також трансплантація. Незважаючи на те, що технології дозрівання ооцитів та одержання від них ембріонів інтенсивно досліджуються й використовуються на практиці та в наукових цілях, існує низка наукових і технологічних питань, які потрібно вирішувати. Зокрема, ембріони свиней, отримані *in vitro*, порівняно з ембріонами великої рогатої худоби та ембріонами овець мають низький рівень життєздатності, що ускладнює розвиток при пересадженні таких ембріонів реципієнтам. На основі експериментальних даних науковцями Інституту розведення і генетики тварин УААН розроблено технології одержання ембріонів свиней в умовах *in vitro* на доімплантаційних стадіях розвитку. Однак головними проблемами, які слід розв'язати при отриманні ембріонів свиней, є недостатнє цитоплазматичне дозрівання ооцитів, високий рівень поліспермного запліднення, тривалий час дозрівання ооцитів в умовах *in vitro*, низький рівень формування чоловічого пронуклеуса [4, 5].

Таким чином, застосування методу трансплантації ембріонів у системі великомасштабної селекції свиней обмежується переважно проблемою збереження генофонду та науково-дослідними розробками.

1. Квасницкий А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г. Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. — К.: Урожай, 1988. — 264 с.

2. Квасницький О.В. Нове у фізіології розмноження тварин. — К.: Держ. вид-во с.-г. літ., 1950. — 84 с.

3. Коваленко В.Ф., Мартиненко Н.А. Досягнення, проблеми та пріоритетні напрями досліджень фізіології свині // Вісн. Полтав. держ. аграр. акад. — 2005. — № 3. — С. 20–24.

4. Ковтун С.І. Стан і перспективи одержання зародків свиней *in vitro* // Вісн. аграр. науки. — 2004. — № 5. — С. 52–54.

5. Куновський Ю.В. Проблема поліспермного запліднення при отриманні зародків свиней *in vitro* // Конф. молодих вчених та аспірантів/ Ін-т розведення і генетики тварин УААН. — Чубинське, 2004. — С. 24–25.

6. Мартиненко Н.А., Денисюк П.В., Чирков О.Г. Спосіб нехіургічної трансплантації ембріонів свині: Деклараційний пакет України UA

28926 А, Кл. A61D 19/04. Пріор. від 12.11.1997. Опубл. 29.12.99, Бюл. № 8 та Бюл. № 5-11 від 16.10.2000.

7. *Одержано перше порося методом безкровної трансплантації/ Н.Мартиненко, В. Коваленко, О. Чирков та ін. // Тваринництво України. — 1998. — № 7. — С. 12.*

8. *Результаты разработки метода нехирургической трансплантации эмбрионов свиней/ А.Г. Чирков, П.В. Денисюк, К.Ф. Почекняев, Н.А. Мартыненко// IV Междунар. конф.: «Науч.-производ. аспекты развития отрасли свиноводства». — М.: Изд. ВНИИПлем «Лесные Поляны», 1997. — С. 70.*

9. *Рыбалко В.П. Грамотне ведення свинарства — корисна справа // Ефективне птахівництво та тваринництво. — 2003. — № 4. — С. 22–23.*

10. *Яблонський В.А. Біотехнологія відтворення тварин. — К., 2005. — С. 234–235.*

11. *Dobrinsky J.R. Cryopreservation of embryos: a chilly past with a vitrifying future // Theriogenology. — 2001. — 56. — P. 1333–1344.*

12. *Niemann H. and Rath D. Progress in reproductive biotechnology in swine// Theriogenology. — 2001. — 56. — P. 1291–1304.*

13. *Sing E.L., Mc.Vigar J.V. Embryo transfer as a means of controlling the transmission of viral infections // Theriogenology. — 1988. — 26. — P. 587–593.*

14. *Special issue Conference commemorating the 50-th anniversary of the first successful embryo transfer in the pig // Theriogenology. — 2001. — Vol. 56. — P. 1285–1386.*

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ СВИНЕЙ. Ю.В. Куновский

Рассмотрено применение принципиально новых подходов к селекционно-племенной работе, которые сопутствовали ускорению генетического улучшения популяций в свиноводстве. Показаны разработки по трансплантации эмбрионов в свиноводстве за последние годы.

PERSPECTIVES OF USING OF SWINE EMBRYO TRANSPLANTATION. Y.V. Kunovsky

The using new ways by selective breeding, which accompanying acceleration genetics improve population in pig-breeding, was considered. Elaborations by embryo transfer in pig-breeding at last years were revealed.