

УДК 636.082.25

*Рекомендовано до друку
вченою радою Інституту розведення і генетики тварин УААН
29 листопада 2007 р. (протокол № 328)*

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

В.П. Буркат (відповідальний редактор),
М.Я. Єфіменко (заступник відповідального редактора),
Є.М. Рясенко (відповідальний секретар),
**М.І. Башенко, Ю.В. Бондаренко, І.В. Гузєв, В.В. Дзіцюк,
В.М. Іовенко, В.П. Коваленко, С.І. Ковтун, В.С. Коновалов,
В.І. Ладика, Ю.Ф. Мельник, Ф.І. Осташко, І.П. Петренко,
Б.Є. Подоба, Ю.П. Полупан, С.Ю. Рубан, Й.З. Сірацький,
С.Г. Шаловило**

У збірнику викладено результати наукових досліджень з питань селекції молочних та м'ясних порід великої рогатої худоби, збереження генофонду сільськогосподарських тварин, росту і розвитку молодняку, інтер'єрних показників, відтворення.

Розраховано на науковців, викладачів, аспірантів та студентів аграрних вузів, спеціалістів сільського господарства, фермерів.

Адреса редакційної колегії:

Інститут розведення і генетики тварин УААН
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське,
Бориспільський район, Київська область, 08321

Телефони: (04495) 30-134, 30-043, 30-045
Факс (04495) 30-540

**© Інститут розведення
і генетики тварин УААН, 2008**

УДК 575.113:636.03

**В.П. БУРКАТ, С.І. КОВТУН,
К.В. КОПИЛОВА, К.В. КОПИЛОВ**
Інститут розведення і генетики тварин УААН

**ДЕЯКІ БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ
МЕТОДИ ПРИ СТВОРЕННІ
ТВАРИН МАЙБУТНЬОГО**

Висвітлено основні аспекти доцільності впровадження сучасних генетико-біотехнологічних методів у створенні тварин з принципово новими якостями, які практично неможливо отримати традиційними методами селекції.

Біотехнологія, ДНК-методи, клонування, трансгенні тварини, ембріони

Інтенсивний розвиток сільського господарства в минулому сторіччі, застосування великомасштабної селекції в тваринництві, яка ґрунтувалась на методах оцінки генотипу за якістю нащадків, ефективній системі відтворення та інформаційного забезпечення селекції, дали змогу досягти певних результатів. Використання схрещування тварин місцевих популяцій із зарубіжними сприяло протягом короткого терміну підвищенню генетичного потенціалу продуктивності. Водночас унаслідок інтенсивної селекції накопичений резерв мінливості починає зменшуватись, і це не може не впливати на стратегічні можливості селекційної роботи [1, 7].

За останні 20 років генетико-біотехнологічні методи дали можливість спрямовано змінювати генотип тварин. На противагу спонтанним мутаціям ці зміни можна заздалегідь планувати. В мікробіології методи генної інженерії нині стали традиційними і мають незамінне практичне значення. Нещодавно

© В.П. Буркат, С.І. Ковтун, К.В. Копилова,
К.В. Копилов, 2008

Розведення і генетика тварин. 2008. Вип. 42.

розпочато масштабне впровадження генетико-біотехнологічних методів у тваринництві. Наразі можливо виділити певні гени із генома тварин і вбудувати їх у геном іншої особини, але необхідно знайти способи досягнення більш високого рівня ефективності методів клонування та трансгенезу ссавців. На основі детального розуміння процесів гамето- й ембріогенезу, генетичного тестування отриманих реконструйованих особин буде досягнуто компроміс щодо наявного нині різного бачення можливостей клонування і трансгенезу у тваринництві. Успіхи цих методів залежать від удосконалення методичних підходів маніпулювання з одержаними *in vitro* зародками, що дасть змогу відповісти на численні питання, пов'язані з низьким рівнем розвитку реконструйованих зародків, зниженим рівнем їхнього приживлення після трансплантації, проявом хвороб [2].

Дослідження процесу *in vitro* дозрівання ооцитів корів і свиней, установлення механізмів їхнього запліднення поза організмом, що комплексно виконуються нами, створюють наукову основу для розширення сучасних методів біотехнології у тваринництві. Розроблені елементи технології отримання *in vitro* ембріонів сільськогосподарських тварин з використанням епідидимальних сперматозоїдів самців поглиблюють знання закономірностей ембріонального розвитку тварин, сприяють удосконаленню методів збереження генофонду [1, 4]. Необхідно відповідно фінансувати такі дослідження, готувати кадри і захищати інтелектуальну власність з біотехнологічних питань у тваринництві України.

За допомогою клонування при виведенні нових порід неможливо досягти принципово вищих показників продуктивності порівняно із традиційною селекцією, а з використанням генної інженерії можна одержати трансгенні особини з певними запрограмованими ознаками, що є обов'язковим напрямком роботи при створенні тварин майбутнього.

Для традиційної селекції в скотарстві необхідна робота протягом багатьох поколінь тварин з метою *вдосконалення порід у напрямку збільшення швидкості росту особин і живої маси*. Генетико-біотехнологічний метод функціонування вбудованих генів у трансгенних тварин, який успішно апробований при одержанні генетично модифікованих особин із геном сомато-

тропіну (гормону росту), дасть змогу на основі спланованої реконструкції генома сільськогосподарських тварин надавати їм заздалегідь відомих властивостей. Позитивні результати одержані на трансгенних свинях, у яких проходила експресія гормону росту великої рогатої худоби. Вони збільшували масу на 23% швидше, ніж контрольна група тварин і мали меншу товщину шпиків [11, 12]. Дослідження, проведені з визначення впливу гормону росту мікробного походження на молочну продуктивність у великої рогатої худоби, показали збільшення добового надою від 10 до 50% [10].

Велика рогата худоба є унікальним видом сільськогосподарських тварин, який найбільш інтенсивно синтезує і виводить з організму разом з молоком досить велику кількість різних речовин. Традиційні методи розмноження і селекції цього виду тварин не дають можливості отримати неспецифічні сполуки з молока корів. Одержання тварин-продуцентів біологічно активних речовин для медицини і харчових технологій – сучасний напрямок створення тварин майбутнього. За останні роки 12 компаній у США поставляють на фармацевтичний ринок продукцію, отриману від трансгенних тварин-біореакторів, на суму 3 млрд дол. за рік [5]. Такі особини мають невластиві їм гени і відповідно білки, спрямовані на лікування численних хвороб людини. Для запобігання утворенню тромбів у кровоносних судинах необхідна більша кількість білка С. Отримано трансгенних кіз, з молока яких виготовляють препарат "Антитромбін-3".

Основний принцип отримання трансгенних тварин полягає в тому, що генна конструкція, яка складається із структурного гена і прикріплена до промотору специфічного білка молока, вводиться в ембріони, а далі після культивування трансплантується реципієнтам для подальшого розвитку [6]. За останні роки було отримано наступні рекомбінантні білки: у корів – лактоферин, людський альфа-лактоглобулін; у кіз – антитромбін III, альфа-антитрипсин, гормон росту, моноклональні антитіла, тканинний плазмінотичний активатор; у свиней – фактор VIII, у кролів – кальцитонін, еритропоетин, інтерлейкін-2, інсуліноподібний фактор росту – 1; у овець – альфа 1-антитрипсин, фібриноген. Однак стримуючими факторами в

отриманні трансгенних тварин для комерційного використання є тривалий термін від введення гена до першої лактації трансгенної тварини та низька ефективність отримання таких тварин до кількості пересаджених мікроін'єкованих ембріонів (0,2 – 0,6% для корів та овець) [14].

Підвищення стійкості проти захворювань сільськогосподарських тварин також є напрямком роботи генних інженерів. На противагу невдачам з отримання вакцини від вірусу лейкозу, стійких проти цієї хвороби трансгенних кролів уже створено. Отримання трансгенної великої рогатої худоби, яка не буде хворіти на лейкоз і мастит, є реальним досягненням недалекого майбутнього. Інтенсивно ведуться роботи з одержання стійких проти овечої вертячки трансгенних овець, генетично модифікованої великої рогатої худоби, у якої не буде шкідливих для людини пріонів.

Отримати генетично ідентичних особин за допомогою традиційних методів відтворення можливо тільки при народженні монозиготних близнюків, що становить у великої рогатої худоби менше 0,2%. За розвитком біотехнологічного методу трансплантації ембріонів удосконалено спосіб *спрямованого отримання одноїцевих близнюків*. З допомогою методу клітинної інженерії, а саме мікрохірургічного поділу ембріонів пополам, як одного із способів клонування, досягнуто стабільної результативності приживлення на рівні 50 – 60%. У великої рогатої худоби навіть малі клони можуть бути використані в селекційних програмах для розмноження кращих тварин, забезпечити більш точну і дешеву оцінку бугаїв за генотипом та вивчення прояву ефекту гетерозису при схрещуванні спеціалізованих клонів між собою.

Хоча в наукових колах існує думка, що клонування ніколи не матиме широкого поширення в тваринництві через великі економічні затрати, а також селекція завжди ґрунтується на генетичній різноманітності видів, клонування фіксує і звужує цю різноманітність, безумовно, *одержання певної кількості генетичних копій тварин з особливо вираженими господарськи корисними ознаками є ефективним способом удосконалення породи*. Традиційними селекційними методами цього досягти неможливо. Формування невеликих стад клонованих тварин, які проявлятимуть високу продуктивність та стійкий імунітет і подібні

до вихідної особини, від якої взято соматичні клітини для пересаджування в енуклеювані яйцеклітини, допоможе працювати селекціонерам над створенням нових порід [3].

У недалекому майбутньому селекціонери будуть одержувати на замовлення породи тварин з ідеальним стандартним м'ясом. З'являється можливість репродукції цінного селекційного матеріалу після дегустаційного визначення смакових якостей м'яса. При збереженні відповідних зразків тканин таких тварин у кріобанках будуть одержані генетичні копії після їхнього клонування.

Клонування матиме важливе значення при одержанні якісної продукції тваринництва, підвищенні резистентності, використанні внутрішніх органів трансгенних тварин, які мають ген гістосумісності для трансплантації людині. Такі дослідження проводяться на свинях, котрі розглядаються як можливі кандидати для трансплантації їхніх органів людині.

За допомогою технології клонування можна розробити нові підходи до діагностики і лікування спадкових хвороб людини, прискорення розуміння процесу виникнення раку, формування самого організму, вивчення процесу старіння. Дуже багато існує проблем і недосконалостей системи отримання клонованого потомства у тварин. Соматичне клонування включає пересадку ядра клітини дорослого організму в енуклеюваний ооцит. У клітинах кожного органу працюють відповідні гени. Клонований ембріон буде розвиватись нормально, коли запрацюють ембріональні гени пересадженого ядра. Хоча досягнуто успіху в перепрограмуванні ядер при отриманні реконструйованих зародків, але цей процес далекий від досконалості. Процес енуклеації ооцита часто завдає непоправної шкоди, інколи реконструйовані ембріони розвиваються візуально нормально, а потім стаються викидні. Вважається, що клони взагалі живуть менше, ніж їхні природні аналоги.

Триває розробка методу клонування тварин шляхом пересадки ядер трансгенних соматичних клітин в енуклеювані. Генну конструкцію не ін'єкують у пронуклеус ембріона, а вводять у соматичні клітини методом трансфекції в культурі клітин, де отримують понад 90% клітин із введеним геном і потім їх пересаджують у яйцеклітину. Після трансплантації ембріона в матку реципієнта майже всі народжені нащадки є

трансгенними. Такий підхід дає змогу отримати тільки самок уже в першому поколінні і не потребує додаткового часу для створення необхідної кількості трансгенних тварин [6]. Установлено, що використання як продуцентів трансгенних тварин для отримання великої кількості лікарських біологічно активних речовин обходиться у 5–10 разів дешевше, ніж їхній хімічний синтез [8, 9].

Застосування методів ДНК-технології в європейських країнах та США дає можливість одержувати великі прибутки завдяки скороченню часу генераційного інтервалу, застосуванню селекції за допомогою маркерів, тобто проводити добір та підбір батьківських пар певних генотипів для одержання нащадків з відповідним генетичним потенціалом щодо основних показників продуктивності.

Для виробництва високоякісних твердих сирів необхідно, щоб молоко корів містило капа-казеїн з варіантом В-алеля гена, який кодує цей білок. Тобто А- і В-алелі гена капа-казеїну мають нерівнозначну господарську цінність. Необхідно використовувати *спрямовану селекцію великої рогатої худоби на В-алель капа-казеїну* і включати ДНК-методи його визначення до програм з відтворення великої рогатої худоби [13]. За допомогою одержання трансгенних корів у недалекому майбутньому будуть створені спеціальні "сирні" породи великої рогатої худоби.

Застосування сучасної технології МОЕТ (множинна овуляція та трансплантація ембріонів) дало змогу Великобританії за останні 15 років вийти на провідні позиції в селекційно-племінній роботі у молочному скотарстві й отримувати плідників, які посідають чільні місця у світових рейтингах голштинської породи. Дана технологія ґрунтується на створенні нуклеарного стада тварин з швидкою та вірогідною оцінкою їх за комплексом характеристик в ідентичних умовах годівлі та утримання. Після оцінки генотипи кращих тварин інтенсивно розмножують методами штучного осіменіння та трансплантації ембріонів [5].

Завдяки ідентифікації генотипу тварин, визначенню статі та генотипу доімплантаційних ембріонів можна отримувати та відбирати зародки, які мають племінну цінність та ідентифіковану стать. Поголів'я бугайців, а це половина приплоду, економічно не вигідне для товарного молочного скотарства. Інша

ситуація у м'ясному скотарстві, коли необхідно отримувати, навпаки, велику кількість самців [5].

У відділі генетики та лабораторії клітинної інженерії інституту розпочалась робота з генотипування тварин за генами продуктивності (капа-казеїн, бета-лактоглобулін, лептин, гормон росту, міостатин), тестування за мікросателітними локусами відповідно до вимог ISAG, визначення запліднювальної здатності сперматозоїдів *in vitro*, ідентифікація статі доімплантаційних ембріонів.

Застосування та впровадження в практику тваринництва сучасних генетико-біотехнологічних методів, таких як отримання яйцеклітин методом суперовуляції і наступне їх вимивання; дозрівання статевих гамет *in vitro*; тестування тварин за генами продуктивності з метою добору і підбору батьківських пар; запліднення яйцеклітин *in vitro*; визначення статі доімплантаційних ембріонів з їхнім генотипуванням; пересадка ембріонів для отримання відповідного генетичного матеріалу, які вже давно використовуються в розвинутих країнах світу, дадуть можливість збільшити конкурентоспроможність, економічну доцільність галузі і відповідність економіки України вимогам ВТО.

1. Буркат В.П. Розведення тварин і збереження їхнього генофонду // Вісн. аграр. науки. – 2006. – № 3–4. – С. 100–105.
2. Буркат В.П., Дзіцюк В.В., Ковтун С.І. Прикладні аспекти генетики та біотехнології в тваринництві // Вісн. Укр. тов-ва генетиків і селекціонерів. – 2005. – № 1–2, т. 3. – С. 131–144.
3. Інтернет-журнал "Комерційна біотехнологія" <http://www.cbio.ru>
4. Ковтун С.І., Куновський Ю.В., Галаган Н.П. Вплив наноматеріалів на заплідненість яйцеклітин свиней // Тваринництво України. – 2007. – № 2. – С. 72–74.
5. Костомахин Н. Нам бы такие технологии // Животноводство России. – 2004. – С. 12–13.
6. Прокофьев М.И. Состояние и перспективы использования трансгенных сельскохозяйственных животных для получения биофармацевтической продукции // ДНК-технология в клеточной инженерии и маркировании признаков сельскохозяйственных животных. Международная конференция. – Дубровицы, 2001. – С. 19–24.
7. Эрнст Л.К. Генная инженерия – важный фактор селекции сельскохозяйственных животных XXI века // ДНК-технология в клеточ-

ной инженерии и маркировании признаков сельскохозяйственных животных: междунар. конф. – Дубровицы, 2001. – С. 7–19.

8. Эрст Л.К., Гольдман И.Л., Кадулин С.Г. Генная инженерия в животноводстве: трансгенные сельскохозяйственные животные, кормовые растения, микроорганизмы рубцы // Биотехнология. – 1993. – № 5. – С. 2–14.

9. Houdebine L. Production of pharmaceutical proteins from transgenic animals // Biotechnology. – 1994. – V.34. – 269 p.

10. McBride B., Burton J., McLead G. et al. Influence of somatotropin treatment of lactating cows on maintenance energy expenditures // Can. J. Anim. Sci. – 1992. – V.72. – P. 413–416.

11. Pinkert C., Kooyman D., Dyer T. Enhanced growth performance in transgenic swine // Biotechnology. – 1991. – V.16. – P. 251–258.

12. Pursel V., Refroad J. Status of research with transgenic farm animals // Anim. Sci. – 1993. – V.71. – 10 p.

13. Schaar J., Hansson B., Pettersson H. Effects of genetic variants of casein and beta-lactoglobulin on cheese-making // J. Dairy Res. – 1985. – V. 52. – P. 429–437.

14. Ward K., Nancarrow C. The genetic engineering of production traits in domestic animals // Experientia. – 1991. – V. 47. – P. 913–922.

НЕКОТОРЫЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПРИ СОЗДАНИИ ЖИВОТНЫХ БУДУЩЕГО. Буркат В.П., Ковтун С.И., Копылова Е.В., Копылов К.В.

Представлены основные аспекты целесообразности применения современных генетико-биотехнологических методов в создании животных с принципиально новыми качествами, которые практически невозможно получить традиционными методами селекции.

Биотехнология, ДНК-методы, клонирование, трансгенные животные, эмбрионы

SOME BIOTECHNOLOGICAL AND GENETIC METHODS OF CREATION ANIMALS OF FUTURE. Burkat V.P., Kovtun S.I., Kopylova K.V., Kopylov K.V.

The main aspects of expediency of application the modern genetic-biotechnological methods of creation animals with the new qualities on principle, which can't obtain, practically, by traditional methods of selection, are presented.

Biotechnology, DNA-methods, cloning, transgene animals, embryos

636.2.082/085.16:615.32

Л.О. БЕГМА, Т.І. ДАВИДОК

Институт розведення і генетики тварин УААН

ПІДВИЩЕННЯ РЕАЛІЗАЦІЇ ГЕНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПРЕПАРАТАМИ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ

Наведено результати досліджень з використання препаратів ехінацеї пурпурової для підвищення продуктивності великої рогатої худоби. Встановлено їхній позитивний вплив на резистентність і швидкість росту телят, перебіг родового і післяродового періодів у корів, їхню молочну продуктивність, а також на відтворювальну функцію бугаїв.

Ехінацея пурпура, кормова добавка, телята, корови, бугаї, резистентність, продуктивність

Максимальний рівень генетичного потенціалу тварин може бути відтворений лише за наявності комплексу відповідних умов годівлі, утримання, експлуатації, довкілля. Несприятливі умови призводять до збільшення витрат енергії на пристосування до них та виникнення адаптаційного синдрому (адаптаційний стрес). Спочатку відбуваються адаптаційні зміни обміну речовин для підтримання сталості гомеостазу. За постійної дії несприятливих факторів настає порушення обмінних процесів, змінюються фізіологічні функції, знижується резистентність. Це проявляється зниженням продуктивності, продуктивного доволіття та порушенням функції відтворення, в тому числі одержанням ослабленого потомства. Особливо чутливими є тварини з високим рівнем генетичного потенціалу. Критична екологічна ситуація, яка склалася в Україні, спричиняє виникнення ознак адаптаційного стресу у високопродуктивних тварин навіть за нормальних умов годівлі й утримання.

© Л.О. Бегма, Т.І. Давидок, 2008

Розведення і генетика тварин. 2008. Вип. 42.