

УДК 612.014.636.4

А.Г. ЧИРКОВ, П.В. ДЕНИСЮК,
Н.А. МАРТЫНЕНКО, С.Н. КОРИННЫЙ
Институт свиноводства им. А.В. Квасницкого УААН

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ ОПТИМИЗАЦИИ УСЛОВИЙ РАЗВИТИЯ ЭМБРИОНОВ СВИНЬИ, ТРАНСПЛАНТИРОВАННЫХ ТРАНСЦЕРВИКАЛЬНО

Изложены результаты трансцервикальной трансплантации эмбрионов свиньи при использовании реципиентов, спаренных в режиме задержки при отставании по циклу от доноров на 1 сутки и при одновременной синхронности возраста эмбрионов донора и матки реципиента с опережением на 2 суток эмбрионов реципиента эмбрионами донора. Экспериментально доказана эффективность применения такой комплексной корректировки условий внутриматочного развития с целью повышения выхода поросят трансплантационного происхождения.

Свинья, трансцервикальная трансплантация, эмбрион, супериндукция

Использование спаренных в нормальные сроки (24–36 ч от начала охоты) реципиентов в наших первоначальных исследованиях обеспечило 50% опоросов и от 9 до 16 поросят в гнезде, причем трансплантатов среди них было лишь 18,5% [1, 2]. Поэтому с целью нейтрализации супериндукции и повышения выхода трансплантатов возникла необходимость разработать способ корректировки условий развития эмбрионов в матке реципиента. Мы предположили, что задержанное его покрытие при одновременной синхронизации возраста его матки с возрастом эмбрионов донора и при опережении в развитии эмбрионов реципиента эмбрионами донора позволит решить проблему.

© А.Г. Чирков, П.В. Денисюк, Н.А. Мартыненко, С.Н. Коринный, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.

Известно, что запоздалое спаривание свиной резко снижает выход приплода вследствие отсутствия оплодотворения яйцеклеток (20%), явлений диспермии (11,4%) и дигинии (21%) при общих эмбриональных потерях свыше 52% [10]. В основе этого феномена лежит ухудшение качества ооцитов млекопитающих в период остановки на метафазе-2, известное как их старение, в результате которого в ооцитах и образующихся из них эмбрионах возникают разнообразные нарушения [5, 7, 8]. При осеменении свиноматок через 15–20 ч после овуляции эмбрионы развиваются в первые 11 дней, но уже к 19-му дню все погибают [5]. Исходя из этих данных, мы пришли к заключению о возможности использовать феномен старения ооцитов при задержанном покрытии реципиентов в качестве первой составляющей комплексного метода нейтрализации у них явления супериндукции за счет гибели части избыточных эмбрионов. При этом необходимо было учитывать влияние степени асинхронности: циклов донора и реципиента, возраста матки реципиента и эмбрионов донора, а также возраста эмбрионов донора и реципиента, поскольку существует узкий временной промежуток — окно имплантационного эмбрионально-маточного взаимодействия [5, 11], в пределах которого можно получить максимальный результат как от хирургической, так и нехирургической трансплантации эмбрионов. В частности, для трансцервикальной трансплантации эмбрионов свиной нашли оптимальным вариантом асинхронность овуляции у реципиентов в пределах от 24 ч раньше до 12 ч позже донора [6].

Однако наши предыдущие эксперименты [1] показали, что степень синхронности эстральных циклов донора и реципиента не всегда совпадает со степенью синхронности между возрастом матки реципиента (соответственно, качества и количества секреторных компонентов эндометрия) и эмбрионов донора, между тем, именно последний показатель важен в плане результативности трансплантации. В наших исследованиях были созданы такие варианты, когда асинхронность циклов варьировала от 0 до 96 ч отставания реципиента (спаренного в нормальном режиме), а асинхронность возраста его матки и эмбрионов донора — от 0 до 72 ч, причем в ряде случаев асинхронность циклов пары донор-реципиент достигала 2–3 суток, а возраст эмбрионов донора оставался синхронным с маткой реципиента. В последнем случае

опоросы реципиентов достигали 75%, отставание возраста их матки на 1 сутки от возраста донорских эмбрионов существенно не изменило этот показатель (71%), тогда как разрыв в 2 суток снизил количество опоросов до 50%, а при расхождении в 3 суток их вообще не было. При этом ориентация на эстральные циклы донора и реципиента дала практически одинаковый результат как в случаях полной синхронности — 66,6% опоросов, так и при отставании реципиента на 12–48 ч — 68,4% соответственно. Тем не менее, с учетом литературных данных, а также установленного нами в предыдущих исследованиях факта положительного влияния отставания реципиента в пределах 1 суток по циклу от донора мы включили этот вариант в качестве второй составляющей комплексного метода нейтрализации супериндукции, третьей составляющей которого стала полная синхронизация возраста эмбрионов донора с маткой реципиента.

Известно, что задержавшиеся в развитии эмбрионы уже на ранней стадии не могут успешно конкурировать со своими более продвинутыми соподметниками и в большинстве случаев погибают [3, 9]. С учетом этого феномена нами был выбран вариант опережения эмбрионов реципиента эмбрионами донора на 2 суток в качестве четвертой составляющей комплексного метода нейтрализации супериндукции при трансцервикальной трансплантации. Мы предположили, что хронологическая конфигурация системы мать — эмбрион во взаимосвязи показателей возраста эмбрионов донора с возрастом эмбрионов и матки реципиента, спаренного в режиме задержки, будет способствовать повышению конкурентной способности трансплантатов.

Была поставлена задача экспериментальной проверки нашей рабочей гипотезы.

Материалы и методика исследований. Опыты проведены на свинках крупной белой породы 8–9-месячного возраста, различавшихся сроками спаривания: нормальное — через 36 ч от начала охоты, задержанное — 55–60 ч с учетом результатов эхографического контроля овуляции [8], показавшего, что у свинок этой породы она происходит через $40 \pm 5,8$ ч после начала охоты. В первой группе было 3 реципиента и 3 донора, во второй — 3 реципиента и 5 доноров с целью повысить уровень супериндукции у реципиентов задержанного спаривания за

счет пересадки в среднем 13,0 эмбрионов против 8,6 — в группе нормального спаривания. Доноров подвергали хирургической операции и эмбрионы вымывали из матки согласно нашему методу и пересаживали трансцервикально нашим способом и прибором (патенты Украины № UA 28926 А, UA 55203). Генетическое происхождение каждого поросенка устанавливали методом амплификации микросателлитных маркеров ДНК при помощи полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты исследований. В табл. 1 представлена конкретная схема опыта по нейтрализации супериндукции при использовании спаренных реципиентов. В обеих группах свиноматок оплодотворения были на уровне 100%, но размер помета составил 12,6 поросят для группы нормального спаривания и только 7,6 — для задержанного, как и ожидалось.

1. Схема трансплантации эмбрионов с применением задержанного спаривания реципиентов (Р) и синхронизации возраста матки реципиента и эмбрионов донора (Д) при опережении ими на 2 дня возраста эмбрионов реципиента

№ Р	Асинхронность циклов Д/Р, дни	Спаривание от начала охоты, ч	Возраст матки Р, дни	Возраст эмбрионов Д, дни	Возраст эмбрионов Р, дни
<i>Нормальное спаривание</i>					
548	9/8 [-1]	36	8	8	7
544	7/6 [-1]	36	6	7	6
1128	7/6 [-1]	36	6	6	6
<i>Задержанное спаривание</i>					
830	9/8 [-1]	60	8	8	6
620	8/7 [-1]	60	7	7	5
272	7/6 [-1]	55	6	6	4

При этом уменьшение среднего размера гнезда в группе задержанного спаривания произошло именно за счет собствен-

ных эмбрионов реципиента (табл. 2), отставание которых на 2 суток от возраста их родной матки по-видимому допустило выживание лишь наиболее развитых к критическому 12-му дню. Такая ситуация создала приоритетные условия для развития эмбрионов донора, о чем свидетельствует существенное ($p < 0,025$) повышение выхода поросят трансплантационного происхождения: $76,3 \pm 13,3\%$ против $26,5 \pm 13,8\%$ при нормальном спаривании соответственно (табл. 2).

Характерно, что для свиноматок обеих групп степень асинхронности циклов донор/реципиент ограничивалась одними сутками, но в случаях задержанного спаривания возраст эмбрионов донора неизменно соответствовал возрасту матки реципиента и на два дня превышал возраст собственных эмбрионов последнего. Однако на фоне тождества этих условий для всех свиноматок группы задержанного спаривания наблюдалась существенная разница в показателях эмбриональной смертности у свиноматок, спаренных через 55 или 60 ч от начала охоты.

2. Эффективность трансплантации при использовании реципиентов (Р), спаренных в нормальном режиме и режиме задержки

Тип спаривания	Нормальное		Задержанное	
Трансплантировано эмбрионов: n (на одного реципиента)	26 (8,6)		39 (13,0)	
Родилось поросят: n (идентифицировано по генотипу)	40 (36)		23 (19)	
Процент полученных от каждого из реципиентов (Р) поросят-трансплантатов (от числа идентифицированных)	P 548	9,09	P 620	75,0
	P 544	16,66	P 830	100,0
	P 1128	53,84	P 272	53,84
	M	26,5	M	76,3
	$\pm m$	13,8	$\pm m$	13,3
	$\pm \sigma$	24,0	$\pm \sigma$	23,1
	Cv	90,3	Cv	30,3

Так если у свиноматки № 272, спаренной через 55 ч и получившей 15 эмбрионов донора, родилось 7 поросят-трансплантатов (соответственно 46,6% выживаемости эмбрионов донора) и столько же собственных поросят, то две другие свиноматки, покрытые всего на 5 ч позже, дали аварийные (4–5 поросят в гнезде) опоросы и принесли лишь 5 трансплантатов из 24 эмбрионов донора (16,6% выживаемости). Следовательно, максимальный уровень задержанного спаривания не должен превышать 55 ч, а для отработки оптимального хронологического режима необходимы дальнейшие исследования.

Выводы. 1. Задержанное спаривание реципиентов обеспечивает достоверное повышение выхода поросят трансплантационного происхождения в сравнении с применением нормального режима спаривания: $76,3 \pm 13,3\%$ против $26,5 \pm 13,8\%$ ($P < 0,025$).

2. Комплексная корректировка условий развития в матке спаренного реципиента эмбрионов донора, составляющими которой являются задержанное до 55–60 ч от начала охоты спаривание реципиента при отставании его по циклу на 1 сутки от донора, синхронность возраста эмбрионов донора с возрастом матки реципиента и опережение эмбрионами донора эмбрионов реципиента на 2 суток, позволяет нейтрализовать явление супериндукции, обеспечить приоритетность развития трансплантатов и повысить их выход.

1. *Мартиненко Н.А.* Наукове і господарське значення та сучасний стан нехірургічної трансплантації ембріонів у свинарстві (огляд) // Вісн. Полтав. держ. аграр. акад. — 2002. — № 1. — С. 125–128.

2. *Результаты* разработки метода нехирургической трансплантации эмбрионов свиней / А.Г. Чирков, П.В. Денисюк, К.Ф. Почерняев, Н.А. Мартыненко // IV Междунар. конф. по проблеме: «Научно-производственный аспект развития отрасли свиноводства». — М.; Лесные Поляны: Изд. ВНИИПлем, 1997. — С. 70.

3. *Effect of asynchronous superinduction on embryo survival and range of blastocysts development in swine* / W.F. Pope, M.S. Lawyer, B.S. Nara, N.L. First // Biol. Reprod. — 1986. — V. 35, N 1. — P. 133–137.

4. *Effects of time of insemination relative to ovulation, as determined by ultrasonography, on fertilization rate and accessory sperm count in sows* / N.M. Soede, C.C. Wetzels, W. Zondag et al. // J. Reprod. Fert. — 1995. — V. 104, N 1. — P. 99–106.

5. *Establishment of pregnancy in the pig.1. Interrelationships between preimplantation development of the pig blastocyst and uterine endometrial secretions / R.D. Geisert, R.H. Renegar, R.J. Moffat et al. // Biol. Reprod. — 1982. — V. 27. — P. 925–939.*

6. *Hazeleger W., Noordhuizen J.P., Kemp B. Effect of synchronous non-surgical transfer of porcine embryos on pregnancy rate and embryonic survival // Livest. Prod. Sci. — 2000. — V. 64(2-3.). — P. 281–284.*

7. *Kaeoket K., Persson E., Dalin A.M. The influence of pre- and post-ovulatory insemination on sperm distribution in oviduct, accessory sperm to the zona pellucida, fertilization rate and embryodevelopment in sows // Anat. Reprod. Sci. — 2002. — V. 71, N 3–4. — P. 239–248.*

8. *Relationship between peri-oestrus progesterone levels and time of ovulation by echography in pigs and influence of the interval between ovulation and artificial insemination (AI) on litter size / M. Terqui, Ph. Guillouet, M.-Ch. Maurel et al. // Reprod. Nutr. Dev. — 2000. — V. 40. — P. 393–404.*

9. *Survival of small and large littermate blastocysts in swine after synchronous transfer procedure / M. Wilde, S. Xie, M. Day, W. Pope // Theriogenology. — 1988. — V. 30. — P. 1069–1074.*

10. *Thibault C. Normal and abnormal fertilization in Mammals // In: Advances in the biosciences. Schering Symp. — Oxford: Pergamon Press, 1970. — P. 63–85.*

11. *Wilson M.E., Vonnachme K.A., Ford S.P. The role of altered uterine-embryo synchrony on conceptus growth in the pig // J. Anim. Sci. — 2001. — V. 79. — P. 1863–1867.*

ФІЗІОЛОГІЧНІ ФАКТОРИ ОПТИМІЗАЦІЇ УМОВ РОЗВИТКУ ЕМБРІОНІВ СВИНІ, ТРАНСПЛАНТОВАНИХ ТРАНСЦЕРВІКАЛЬНО. А.Г. Чирков, П.В. Денисюк, Н.А. Мартиненко, С.Н. Корінний

Висвітлено результати трансцервікальної трансплантації ембріонів свині за умов використання реципієнтів, спарованих у режимі затримки при відставанні за циклом від донора на 1 добу і за одночасної синхронності віку ембріонів донора і матки реципієнта та при випередженні на 2 доби ембріонів реципієнта ембріонами донора. Експериментально доведено ефективність застосування такого комплексного коректування умов внутрішньоматкового розвитку для підвищення виходу поросят трансплантаційного походження.

PHYSIOLOGICAL FACTORS OF THE OPTIMIZATION OF PIG EMBRYOS DEVELOPMENT CONDITIONS ATTACHED TO TRAN-

SCERVICAL TRANSFER. O.G. Chirkov, P.V. Denisyuk, N.A. Martynenko, S.N. Korinny

Here has been given the results of pig embryos transcervical transfer with used of delay mated recipients which were on 1 Day later on the cycle than donors and at the same time age of donor's embryos was synchrony with recipient's uteri, but embryos of donor were on 2 Days behind of recipient embryos.

The effectiveness of this complex correction of the intrauterine development for the rise of piglets-transferred output was shown in the experiment.

УДК 338. 51. 636. 2. 4.

П.І. ШАРАН, Г.Г. КРАВЧЕНКО, С.І. КОВТУН

Інститут розведення і генетики тварин УААН

Л.В. МАДІСОН

Національний аграрний університет

В.В. МАДІСОН

ДСП «Головний селекційний центр»

ФОРМУВАННЯ НОРМАТИВНОЇ СОБІВАРТОСТІ, ЦІНИ ОДЕРЖАННЯ І ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Визначено параметри формування нормативних витрат на технологічні послуги підприємств (лабораторій) з трансплантації ембріонів та розмір повної ціни на приживлений трансплантований ембріон залежно від прогнозованого селекційного індексу та класу батьків.

Корова-донор, трансплантація ембріонів, реципієнт, нормативні витрати, повна ціна

Відповідно до Закону України «Про державну підтримку сільського господарства» [1] з метою запобігання виникненню

© П.І. Шаран, Г.Г. Кравченко,
С.І. Ковтун, Л.В. Мадісон, В.В. Мадісон, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.