

УДК 636.2.034.612.6.02

© 2010

Довгопол В.Ф., кандидат ветеринарних наук
Полтавська державна аграрна академія

Дуванов О.В., завідувач лабораторії трансплантації ембріонів,
Іванченко М.І., генеральний директор
ВАТ «Полтаваплемсервіс»

ЕФЕКТИВНІСТЬ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ У ПОЛТАВСЬКІЙ ОБЛАСТІ

Рецензент – кандидат ветеринарних наук В.П. Плугатирьов

Подано результати роботи за рік створеної при ВАТ «Полтаваплемсервіс» лабораторії ембріо-трансплантації: одержано 216 якісних ембріонів, проведено 139 ембріопересадок, приживлюваність ембріонів досягає 68,3%. Отже, навіть у сучасних умовах кризових явищ в економіці є сенс впроваджувати й удосконалювати біотехнологію ембріотрансплантації, яка не потребує надто великих витрат.

Ключові слова: донори, реципієнти, ембріон, біотехнології трансплантації ембріонів.

Постановка проблеми. Низька природна плодючість великої рогатої худоби, мала кількість нащадків обмежують можливості створення нових порід та стад високопродуктивних корів. Проте нова система селекційно-плеємної роботи, що ґрунтується на біотехнологічних методах розмноження тварин, дає змогу максимально використовувати потенційні резерви репродуктивної функції, що не реалізуються при природному розмноженні.

Із запровадженням у практику тваринництва методу штучного осіменіння стало можливим осіменяти за рік спермою одного бугая близько 100 тисяч корів і телиць. Однак за все своє життя корова народжує, в середньому, 6-10 телят, і з них лише половина буває теличками.

Метод трансплантації ембріонів значно розширює ці рамки, дозволяючи одержувати від однієї високопродуктивної корови 100 і більше телят протягом року [6].

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв'язання проблеми. Трансплантація ембріонів – це біотехнологічний метод відтворення шляхом пересаджування ембріонів, отриманих від генетично високоцінних корів (донорів) менш цінним тваринам (реципієнтам). Він включає цілий комплекс клінічних, біотехнологічних та лабораторних методів, спрямованих на викликання суперовуляції (поліовуляції) у донорів, їх осіменіння, вимивання у

них ембріонів та пересаджування їх реципієнтам, одержання від них телят-трансплантантів, які поєднують у собі високі плеємні та продуктивні якості самки-донора й самця-плідника [6].

Трансплантація ембріонів сприяє підвищенню ефективності системи плеємної роботи (великомасштабної селекції) у молочному скотарстві за рахунок скорочення генераційного інтервалу та збільшення числа потомків від найцінніших жіночих особин. При цьому термін оцінки бугаїв і генераційний інтервал для батьків корів скорочуються від семи до чотирьох років [1].

Заморожування ембріонів із метою їх подальшого зберігання дозволяє надійно підтримувати різноманітність та розгалуженість генеалогічної структури, а також зберігати генофонд поліпшуваних і поліпшуючих порід шляхом створення банку зародків.

Проте стримуючим чинником впровадження біотехнології ембріо-трансплантації у селекційну практику є необхідність істотних капіталовкладень для будівництва приміщень, придбання коштовного обладнання, біопрепаратів, навчання і розширення штату працівників племпідприємств тощо. Зниження зазначених витрат сприятиме поширенню даного біотехнологічного методу.

З огляду на сказане вбачається корисним досвід першого року роботи лабораторії трансплантації ембріонів ВАТ «Полтаваплемсервіс», яку було атестовано Міністерством аграрної політики та Національною академією аграрних наук України наприкінці 2009 року.

Мета досліджень та методика їх проведення. Головною метою досліджень лабораторії трансплантації ембріонів ВАТ «Полтаваплемсервіс» є одержання телят-трансплантантів від корів-рекордисток із метою прискореного створення стад високопродуктивних корів у господарствах різних форм власності, а також одержання бугаїв-плідників для племпідприємств централь-

них та північно-західних областей України.

Процедури вимивання та пересадки ембріонів проводяться в умовах тваринницьких ферм. Використовується переважно ефективно і недороге вітчизняне обладнання та розроблені українськими й російськими вченими методики, а також власні розробки.

Донорське стадо ВАТ «Полтаваплемсервіс» представлено голштино-фризькою чорно-рябою і червоно-рябою породами. Надій за 305 днів кращої лактації у корів чорно-рябої породи становив мінімум 8382, максимум – 13005 кг. У корів червоно-рябої породи, – відповідно, 8078 і 9015 кг. Середня продуктивність донорів за кращу лактацію за всіма породами становила 9600 кг молока із вмістом жиру і білку не нижче стандарту за породою.

Корови-донори утримуються в загальному стаді. Їх підготовка до суперовуляції починається з контролю отелення і післяродового періоду, контролю статевих циклів та лікування (за потреби).

На 8-11-й день статевого циклу за наявності добре вираженого жовтого тіла та відсутності патології статевих органів починається гормональна обробка донорів. Фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) вводиться 4-5 діб з інтервалом 11-12 годин сумарною дозою 32-50 одиниць Арморовського стандарту. На 3-4-ту добу ін'єктується простагландин двохраново через 11-12 годин у дозах 500 та 250-500 мкг за клопростенолом.

За неможливості введення ФСГ двічі на добу, використовуються одноразове або двохранове підшкірне введення загальної дози гормону разом із пролонгатором, виготовленим на основі розчину желатину. Простагландин у такому разі вводиться одноразово на третю добу в дозі 750 мкг [2].

Перше осіменіння корови-донора проводиться через 56-60 годин після першого введення простагландину подвійною дозою сперми закріпленого бугая, незалежно від прояву статевої охоти. Під час штучного осіменіння здійснюється обов'язковий контроль дозрівання й овуляції фолікулів. Повторно донора осіменяють через 10-12 годин однією дозою, а за наявності фолікулів – осіменяють утретє. Сперма вводиться безпосередньо у роги матки.

Вимивання ембріонів проводиться на 7-8-й день після першого осіменіння нехірургічним методом із використанням закритої системи, безпосередньо у корівнику, без спеціального обладнання для фіксації тварин. Для вимивання використовується вітчизняне середовище ДМЕМ (виробництва ТОВ "ДП "Ветеринарна медици-

на", м. Харків), яке подається спочатку в один, а потім у другий ріг матки донора порціями, загалом по 500 мл на кожний ріг. Одержане з рогів матки вимивне середовище переноситься у стерильний бокс, де під мікроскопом МБС-10 проводиться пошук, оцінка та інші маніпуляції з ембріонами.

Для культивування ембріонів використовується поживне середовище ДМЕМ, що містить 20-30% свіжовиготовленої сироватки крові новонародженого теляти, інактивованої 30 хв. при 56° С та стерилізованої фільтруванням через бактеріцидний фільтр "Milex".

Якісні ембріони багаторазово відмиваються у середовищі ДМЕМ й за необхідності сануються у 0,25% розчині трипсину. Якщо від вимивання до запланованої пересадки проходить не більше 24 годин, то ембріони зберігаються у паєтах за кімнатної температури і пересаджуються реципієнтам із попередньо синхронізованою статевою охотою. Інші зародки заморожуються й зберігаються у рідкому азоті для подальшого їх використання або зберігання.

Заморожуються ембріони у паєтах за методом пасивного охолодження у горловині посудини Дьюара [4].

Для більш ефективного використання генетичного матеріалу проводиться мікрохірургічне поділення свіжих і заморожено-відтанутих ембріонів. Призначений для поділу ембріон 4-5 разів відмивається у середовищі ДМЕМ без додавання сироватки крові, після чого він набуває властивості прилипати до дна пластикової чашки Петрі. Фіксований таким чином зародок одним рухом уламка леза поділяється на дві половинки. Після нетривалого культивування при кімнатній температурі (близько 20° С) у поживному середовищі, що містить 20-30% сироватки крові на середовищі ДМЕМ, напівембріони пересаджуються реципієнтам (телиці, корові) без перенесення їх у прозору оболонку [2].

В якості реципієнтів використовуються телиці і корови після стимульованої або спонтанної охоти, синхронізовані за статевим циклом із донорами ембріонів. Перед пересадкою у них перевіряють наявність та якість жовтого тіла в яєчнику ректальним методом. За наявності жовтого тіла, діаметром не менше 0,8 см, реципієнтам проводять низьку сакральну анестезію, після чого проводять пересадку ембріона у верхівку того рогу матки, де знаходиться яєчник із жовтим тілом (іпсілатерально). Через 1,5-2 місяці після пересадки реципієнтів перевіряють на тільність ректальним методом.

Результати досліджень. За період із 24 квітня 2009 по 12 квітня 2010 року лабораторією ембріотрансплантації, в якій працював один спеціаліст, було використано 15 корів-донорів. Проведено 43 гормональні обробки корів-донорів, від яких одержано 216 якісних ембріонів, або, в середньому, 5 якісних ембріонів на одну обробку. У середньому на одного донора припадає 14,4 якісних ембріонів.

Всього було проведено 139 ембріопересадок, у тому числі реципієнтам ВАТ «Полтаваплемсервіс» – 44, ТОВ «Вікторія» Шишацького району – 74, ТОВ «Калина» Гадяцького району – 21.

Перевірено реципієнтів на тільність усього 77, у тому числі у ВАТ «Полтаваплемсервіс» – 36 голів, у ТОВ «Вікторія» Шишацького району – 41 телицю.

Приживлюваність свіжоодрержаних ембріонів за тільністю реципієнтів через два місяці після трансплантації становить у середньому 57,1%, у тому числі 44,4% – у реципієнтів ВАТ «Полтаваплемсервіс» і 68,3% – у реципієнтів ТОВ «Вікторія». Така суттєва різниця пояснюється тим, що у ТОВ «Вікторія» пересадки ембріонів проводилися молодим здоровим телицям віком до 20 місяців, а у ВАТ «Полтаваплемсервіс» – набагато старшим телицям, віком старше 24 місяців, та низькопродуктивним коровам, яких доводилося спочатку лікувати від гінекологічної патології (див. табл.).

За зазначеною технологією кріоконсервації заморожено 107 ембріонів; із них розморожено 37, з яких виявилися придатними до пересадки 36. Тобто, збереженість зародків складає 97,2%,

що узгоджується з даними, наведеними Д.О. Мельничуком та О.Є. Гузеватим [3].

Було проведено 4 пересадки поділених навпіл свіжоодрержаних ембріонів чотирьом телицям-реципієнтам у ТОВ «Вікторія», з яких встановлено дві тільності.

Отже, приживлюваність напівембріонів у наших дослідженнях не поступається такій за використання неподілених ембріонів.

У міру набуття досвіду завдяки удосконаленню біотехнології репродукції, впровадженню дешевих та ефективних методик із роками збільшується ефективність робіт з одержання, пересадки, заморожування та мікроманіпуляцій з ембріонами. Водночас суттєво знижується собівартість ембріопересадок. Так, собівартість однієї ембріопересадки лабораторією ВАТ «Полтаваплемсервіс» коливається у межах 450 гривень (близько 56 доларів США), що у 8 разів дешевше вартості одного ембріона у Північній Америці [5].

Висновки:

1. Лабораторією ембріотрансплантації (в якій працював один спеціаліст) було використано протягом року 15 корів-донорів, від яких одержано 216 якісних ембріонів, проведено 139 пересадок ембріонів реципієнтам.

2. Приживлюваність ембріонів за тільністю реципієнтів через два місяці після трансплантації практично досягає рівня запліднюваності від штучного осіменіння і становить, у середньому, 57,1%, у тому числі 44,4% – у реципієнтів ВАТ «Полтаваплемсервіс» і 68,3% – у реципієнтів ТОВ «Вікторія».

Результати роботи з трансплантації ембріонів ВАТ "Полтаваплемсервіс"

Показники	Усього	У тому числі		
		ВАТ "Полтаваплемсервіс"	ТОВ "Вікторія" Шишацького району	ТОВ "Калина" Гадяцького району
Кількість корів-донорів	15	15	-	-
Проведено гормональних обробок донорів	43	43	-	-
Одержано якісних ембріонів:	216	216	-	-
У середньому якісних ембріонів на 1 обробку	5,0	5,0	-	-
У середньому якісних ембріонів на 1 донора	14,4	14,4	-	-
Проведено ембріопересадок	139	44	74	21
Перевірено реципієнтів на тільність	77	36	41	-
Виявлено тільних реципієнтів	44	16	28	-
Приживлюваність ембріонів, %	57,1	44,4	68,3	-
Народилося телят-трансплантантів	8	1	7	-

3. Навіть у сучасних умовах кризових явищ в економіці є сенс впроваджувати й удосконалювати біотехнологію ембріотрансплантації, що дає можливість прискореного створення стад високопродуктивних корів та вирощування гене-

тично цінних бугаїв-плідників. Лабораторії ембріотрансплантації можуть ефективно працювати при племзаводах та племпідприємствах без використання спеціальних приміщень та дорогого імпортного обладнання.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Басовський М.З., Рудик І.А., Буркат В.П. Вирощування, оцінка і використання плідників. – К.: Урожай, 1992. – 216 с.

2. Дуванов А.В. Эффективность пересадки эмбрионов коровам-реципиентам// Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин: Матеріали міжнародної науково-виробничої конференції. – Асканія-Нова, 1997. – С. 28-29.

3. Мельничук Д.О., Гузеватий О.Є. Перспективи біотехнології у тваринництві// Вісник аграр-

ної науки. – 2002. – № 12. – С. 5-11.

4. Осташко Ф.И., Безуглый Н.Д., Валигура Е.Г [и др.]. Устройство для замораживания эмбрионов// А.с. СССР № 1802700, приоритет от 29.03.1991 г.

5. Суллер И. Уровень затрат при получении быков-производителей в зависимости от источников комплектования// Молочное и мясное скотоводство. – 1999. – № 8. – С. 24-25.

6. Яблонський В.А. Біотехнологія відтворення тварин. – К.: Арістей, 2004. – 296 с.