

ОСНОВНІ НАПРЯМИ, СТРУКТУРА ТА РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ З БІОТЕХНОЛОГІЇ ВІДТВОРЕННЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

О.Б.Сушко, О.Д.Бугров
Інститут тваринництва УААН

У статті викладено основні напрями досліджень в Україні в галузі біотехнології та репродуктології сільськогосподарських тварин у системі Української академії аграрних наук та сільськогосподарських вузів країни. У семи науково-дослідних інститутах УААН та восьми вузах працюють у цьому напрямі 17 докторів наук та 38 кандидатів наук.

біотехнологія, дослідження, відтворення, тварини, координація

В Україні основний обсяг науково-дослідних робіт з проблем репродуктивної біотехнології виконується в рамках підпрограми “Відтворення сільськогосподарських тварин”. Робота виконується Інститутом тваринництва УААН (головна установа), Інститутом розведення та генетики УААН, Інститутом тваринництва Центральних районів УААН, Інститутом тваринництва “Асканія-Нова” УААН, Інститутом птахівництва УААН, Інститутом свинарства УААН, Черкаським інститутом агропромислового виробництва. Усього у виконанні робіт з даного напрямку в Академії аграрних наук нині задіяні 47 наукових співробітників, у тому числі 7 докторів і 20 кандидатів наук, а всього працює 17 докторів та 38 кандидатів наук.

У цьому напрямі у 2004 році вивчалось 39 питань. З них Інститутом тваринництва УААН – 27. По цій проблемі в Інституті тваринництва працює відділ біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин, вона умовно розділена на дві групи питань:

Фприкладні репродуктивні біотехнології;

Фновітні біотехнології відтворення.

Основними напрямками прикладної репродуктивної біотехнології є:

- розробка удосконалених методів заготівлі та кріоконсервації сперми, статевих і ембріональних клітин великої рогатої худоби, коней, овець, птиці, свиней;
- розробка та “адаптація” сучасного кріогенного обладнання для технологій відтворення тварин, птиці та свиней;
- розробка сучасних методів інтенсифікації відтворної функції та штучного осіменіння самиць сільськогосподарських тварин та птиці;
- розробка та вдосконалення методів підвищення ефективності суперовуляції та приживаність ембріонів;
- створення кріобанків сперми та ембріонів великої рогатої худоби, коней, овець, свиней.

Основними напрямками новітніх біотехнологій відтворення є:

- розробка і удосконалення методів мікроманіпуляцій з гаметами та

ембріонами ссавців, методів впливу на ці об'єкти електромагнітним полем, а також розробка та удосконалення необхідних для цього мікроінструментів, обладнання і апаратури;

- розробка й удосконалення методів культивування ооцитів і ембріонів *in vitro*, екстракорпорального запліднення дозрілих *in vivo* та *in vitro* ооцитів для їх подальшого використання у ембріоінженерних дослідженнях;
- розробка й удосконалення методів одержання ембріональних стовбурових клітин з їх подальшою генетичною трансформацією для створення тварин з цілеспрямовано зміненим геномом;
- застосування методу полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) для діагностики збудників інфекційних захворювань у статевих продуктах та визначення походження індивідуумів плідників;
- застосування трансфекції чоловічих гамет з метою отримання генетично модифікованих тварин.

Відділ біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин складається із 4 дослідницьких лабораторій.

Лабораторія штучного осіменіння є однією з найстаріших дослідницьких структур з проблем відтворення сільськогосподарських тварин, яка заснована ще у 1932 році.

Основним напрямом діяльності її є створення сучасних технологій отримання, кріоконсервації сперми плідників, розробка модернізованих методів штучного осіменіння самиць та прийомів інтенсифікації відтворення сільськогосподарських тварин.

Лабораторія відома тим, що її співробітники першими розпочали широко застосовувати метод штучного осіменіння як зоотехнічний прийом поліпшення племінних якостей сільськогосподарських тварин. Ще в 30-ті роки минулого сторіччя за наукового забезпечення лабораторії були створені перші мережі пунктів штучного осіменіння в Лебединському районі Сумської області, Валківському районі Харківської області, Геніченському районі Запорізької області.

У 1949-1951 рр. уперше в світі були отримані нащадки (11 ягнят та 5 телят) від самиць, яких осіменяли спермою, що була попередньо кріоконсервована та певний час зберігалася в зрідженому азоті. Це наукове досягнення було здійснено науковим співробітником лабораторії І.В.Смірновим.

Колективом вчених під керівництвом академіка УААН, професора Ф.І.Осташка на підставі проведених глибоких фундаментальних та прикладних досліджень була створена Харківська технологія асептичного отримання, кріоконсервації сперми бугаїв-плідників та штучного осіменіння корів і телиць. Технологія захищена кількома авторськими свідоцтвами і патентами, впроваджена в ряді областей України та Російської Федерації.

Лабораторією проводяться активні дослідження в напрямі модернізації та підвищення ефективності методів кріоконсервації сперми та штучного осіменіння великої рогатої худоби; вдосконалення методик корекції репродуктивної функції корів. Проведено розробку основних принципів

елементів технологічної лінії для отримання, розфасовки, кріоконсервації спермопродукції жеребців-плідників та штучного осіменіння кобил. Розробка спрямована на створення вітчизняного технологічного портативного обладнання для експедиційної заготівлі сперми жеребців.

Проводяться випробування безазотного методу кріоконсервації спермопродукції. Проходять апробацію посудини Д'юара нового покоління (Ф.І.Осташко, О.Б.Сушко, О.В.Соклакова, М.С.Савельєва, В.І. Мірошніченко та ін.).

Лабораторія трансплантації ембріонів і тканин створена в 1985 році. Її організатором і першим завідувачем був професор О.Д. Бугров. Під його керівництвом була розроблена і апробована українська технологія трансплантації ембріонів великої рогатої худоби, яка широко впроваджена в племзаводах і племпідприємствах України. Технологія створена на основі оригінальних конструкторських рішень і авторських методик і забезпечила багаторазове (до 23 разів) використання корів-донорів, одержання 12-14 ембріонів і яйцеклітин, у тому числі 5-8 повноцінних ембріонів на одне вимивання, забезпечила ефективну мікробну деконтамінацію ембріонів і промивних середовищ, кріоконсервування і тривале збереження ембріонів, приживлюваність на рівні – 40-50%.

Співробітниками лабораторії нині розробляються удосконалені схеми премидикації та основної обробки корів-донорів з використанням нейротропних, гормональних та вітамінних препаратів для збільшення виходу якісних зародків. Апробуються методи підвищення приживлюваності ембріонів, у тому числі отриманих в результаті культивування поза організмом, реконструйованих та ін.

Запропоновано метод виявлення субклінічних ендометритів у самиць сільськогосподарських тварин. Апробація методу показала його точність на рівні 97%. Опрацьовано вдосконалений метод виявлення ембріональної смертності у корів (О.Д.Бугров, М.К.Дібіров, Г.С.Зверева, В.М.Хмельков).

Лабораторія кріоконсервації статевих та ембріональних клітин. Лабораторія кріоконсервації статевих клітин та ембріонів заснована у 1991 році. Її очолив М.Д.Безуглий. З 1998 року лабораторією керує Л.В.Горбунов.

Вагомий внесок у теоретичні та практичні питання сучасної кріоконсервації статевих клітин та ембріонів у різні роки внесли М.Д.Безуглий, Л.В.Горбунов, О.В.Медведовський, Н.О.Гордієнко. Співробітниками лабораторії розроблено пристрій для заморожування ембріонів великої рогатої худоби, що ґрунтується на пасивному охолодженні термоблоку у горловині посудини Д'юара з середньою швидкістю $0,3^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ (Осташко Ф.І., Безуглий М.Д., Валігура К.Г., Горбунов Л.В., 1991). Запропоновано програмне забезпечення обробки відеосигналу для визначення геометричних характеристик яйцеклітин і ембріонів та одержання їх зображення на екрані дисплея. Встановлено явище формування системи пасивного тран-

спорту гліцерину типу полегшеної дифузії протягом раннього ембріогенезу. Запропоновано фізико-математичну модель для розрахунку ступеня насичення біооб'єктів та їх тривалості, величину концентраційного кроку.

Співробітниками лабораторії (Горбунов Л.В., Морозова І.А., Саліна А.С., Антоненко Т.С.) за останні 10 років розроблені технологічні пристрої та режими заморожування різних типів статевих клітин і ембріонів тварин при повільних швидкостях теплообміну, як у лабораторних, так і в польових умовах у діапазоні - (0,1-135 °C/хв.) до різних кінцевих температур охолодження (0÷-100 °C); - пристрій для кріоконсервації статевих клітин тварин при надвисоких швидкостях теплообміну (24000 °C/хв.), який дає змогу реалізовувати необхідне співвідношення швидкості відтавання до швидкості заморожування ($\geq 1,5$), що виключає процес рекристалізації; метод вітрифікації ооцитів і ембріонів ссавців при надвисоких швидкостях теплообміну в закритих витягнутих соломінах з різним зовнішнім діаметром; - пристрої та термокондуктометричний метод кількісного визначення імовірності кристалоутворення кріоконсерванта; - кількісний метод оцінки ефективності проведення кріоконсервації ембріонів і спермій тварин з урахуванням впливу індивідуальних властивостей біооб'єктів на рівень їх кріорезистентності; - визначено щільність розподілу температури внутрішньоклітинної кристалізації при охолодженні спермій і ембріонів риб за рівнем виживаності; - запропоновано широкий спектр способів виміру температури від +40 до -196 °C та швидкості її зміни (0,1÷24×10³ °C/хв.) у середовищі, що містить біооб'єкт.

Лабораторію клітинної та молекулярної біології створено в 2004 році у складі Інституту тваринництва УААН на базі трьох лабораторій Харківського біотехнологічного центру: клітинної інженерії, отримання гамет і ембріонів *in vitro* та молекулярної генетики.

Фахівці лабораторії виконують науково-дослідну та дослідно-конструкторську роботу в галузі ембріональної інженерії та молекулярної генетики.

Основними напрямками роботи лабораторії є:

- розробка та удосконалення методів мікроманіпуляцій з гаметами та ембріонами ссавців, методів впливу на ці об'єкти електромагнітним полем, а також необхідних для цього мікроінструментів, обладнання та апаратури (В.О.Шигимага, В.І.Лісін, К.Г.Лісіна);
- розробка та удосконалення методів культивування гамет та ембріонів *in vitro*, методів отримання та подальшої генетичної трансформації ембріональних стовбурових клітин та методів молекулярно-генетичних досліджень біооб'єктів (А.О.Колеснікова, О.В.Щербак, М.І.Яковлева, О.Ю.Ткаченко, М.С.Сербін).

Дослідження в цих напрямках ведуться з метою подальшого використання отриманих розробок у сучасних ембріональних технологіях (отримання клонованих, химерних та трансгенних ембріонів і нащадків від них) та в інших прикладних напрямках розведення, відтворення та ветеринар-

ного забезпечення тварин (зокрема, діагностика збудників інфекційних захворювань та визначення походження тварин з використанням методу полімеразної ланцюгової реакції О.В.Щербак, Н.М.Шкавро).

Серед кращих розробок лабораторії є запатентована (2001р) конструкція робочого місця для мікроманіпуляцій з біооб'єктами (В.І.Лісін, В.О.Шигимага, М.Д.Безуглий). У співпраці з лабораторією трансплантації ембріонів і тканин вперше в Україні отримано телят “з пробірки” та нащадків після пересадки ембріонів, реконструйованих шляхом пересадки ядер (М.Д. Безуглий, В.І.Лісін, Г.В.Жернокльов, О.В.Щербак, В.О.Шигимага, В.М.Хмельков, В.С.Кот та ін.).

Значний об'єм робіт виконується співвиконавцями підпрограми – науково-дослідними інститутами Української академії аграрних наук.

Зокрема *Інститутом розведення та генетики тварин* проводяться дослідження спрямовані на розробку вдосконаленої методики отримання in vitro ембріонів з деконсервованих ооциткумулюсних комплексів корів та свиноматок (О.Є.Гузеватий, С.І.Ковтун, П.А.Троцький).

Інститутом тваринництва Центральних районів розробляються способи підвищення відтворювальної здатності великої рогатої худоби. Запропоновано використання препарату гумінату як кормової добавки для профілактики післяпологових ускладнень. Показана ефективність механічних приладів – подразників рецепторів внутрішніх статевих органів, лікувальної грязі в комплексі з окситоцином та інших засобів для стимуляції відтворювальної функції (В.С.Козир, В.І.Барабаш, А.Г.Сізенцев, В.О.Буров, Л.В.Тіхонова, В.І.Логвіненко).

Інститутом свинарства УААН ім. О.В.Квасницького розроблялися вдосконалені методи штучного осіменіння і підвищення рівня заплідненості свиней. Запропоновано новий інструментарій для введення сперми в статеві шляхи свиноматок. Розроблено осциляторний метод культивування ооцитів поза організмом корів (В.Ф. Коваленко, Н.А.Мартиненко, П.В.Денисюк, Чирков О.Г., В.О.Лобченко).

Інститутом тваринництва “Асканія-Нова” розроблялася система раціонального використання племінних баранів-плідників і вівцематок на основі біотехнологічних методів. Опрацьовувались режими охолодження та відтавання сперми баранів у поліпропіленових пайетах та відкритих гранулах. Оптимізовувалось синтетичне середовище для розбавлення сперми. Розроблялися методи низькотемпературного заморожування і зберігання зародків овець та методика культивування ембріонів поза організмом (І.В.Лобачова, І.С.Шинкаренко, Н.О.Корінець та ін.).

У *Інституті біології тварин УААН* ведуться дослідження по розробці об'єктивних методів оцінки сперми та ембріонів, зберігання сперми та ембріонів у зрідженому азоті, трансплантації ембріонів корів, норок, песців, кроликів та нутрій, методів підвищення відтворювальної функції сільськогосподарських тварин та звірів (І.І.Розгоні, С.Г.Шаловило, А.В.Мадич, Б.М.Чухрій, В.Є.Шовкун).

Черкаський інститут агропромислового виробництва розробляє

методи оцінки сперми бугаїв, та системи раціонального використання плідників – М.І.Ващенко, А.Ф.Гончар.

Одночасно великий об'єм науково-дослідних робіт по біотехнології відтворення в поєднанні з навчальним процесом проводиться у вищих учбових закладах аграрного профілю.

Так, у *Львівській ветеринарній академії ім.Гжицького* сформувалась добре відома школа акушерів та біотехнологів, засновниками якої була Г.В.Зверева. - С.П. Хомин, В.І.Завірюха.

У *Харківській державній зооветеринарній академії* працює кафедра акушерства, штучного осіменіння, біотехнології заснована Д.Д.Логвиновим - В.П.Кошевий, М.П.Павленко, П.М.Скляров, М.М.Іванченко, А.О.Масс, А.М.Хохлов.

У *Білоцерківському державному аграрному університеті* працює кафедра акушерства, штучного осіменіння, біотехнології під керівництвом Г.Г.Харута - Д.В.Подвалюк, М.М.Ордин, В.В.Власенко, О.А.Хуцка, С.С.Волков, А.І.Раєвський.

У *Кам'янець-Подільському державному сільськогосподарському університеті* - на кафедрі акушерства, штучного осіменіння та біотехнології працює В.А.Яблонський.

У *Сумському державному сільськогосподарському університеті* – на кафедрі акушерства, хірургії та біотехнології працює М.І.Харенко.

У *Полтавському державному сільськогосподарському університеті* - кафедра акушерства та біотехнології - В.П.Плугатарьов, В.Ф.Довгопол.

У *Одеському державному сільськогосподарському університеті* - кафедра фізіології сільськогосподарських тварин – Б.В.Смолянінов.

У *Луганському державному сільськогосподарському університеті* кафедра акушерства, хірургії, біотехнології заснована І.Г.Морозом, - В.С.Кот, Г.В.Жернокльов.

У *Житомирському державному сільськогосподарському університеті* кафедра акушерства та хірургії заснована Н.Г.Калиновським.

Отже в Україні є достатньо висококваліфікований кадровий потенціал наукових співробітників по репродуктології, біотехнології, акушерству та гінекології домашніх та сільськогосподарських тварин, які можуть вирішувати проблеми біотехнології і репродукції в області тваринництва.

ОСНОВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ, СТРУКТУРА ТА РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО БИОТЕХНОЛОГИИ ВОСПРОИЗВОДСТВА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

А.Б.Сушко, А.Д.Бугров

Институт животноводства УААН

В статье приведены основные направления исследований в Украине в области биотехнологии и репродуктологии сельскохозяйственных животных в системе Украинской академии аграрных наук и сельскохозяйственных вузах страны.

*THE MAIN TRENDS, STRUCTURE AND THE RESULTS OF THE INVESTIGATIONS ON
THE BIO-TECHNOLOGY OF THE AGRICULTURAL ANIMALS REPRODUCTION*

O.B.Sushko, O.D.Bugrov

The institute of animal science UAAS

This article highlights the main trends of investigations in Ukraine in the sphere of biotechnology and reproduction of agricultural animals in the system of the Ukrainian academy of agrarian sciences and agricultural higher educational establishments of the country. 17 doctors of science and 38 candidates of science develop this trend in 7 scientific-research institutes of the UAAS and 8 higher educational establishments of Ukraine.

УДК 636.22/.28.082.4-089.843

**РОЗРОБКА І ВИКОРИСТАННЯ УКРАЇНСЬКОЇ
ТЕХНОЛОГІЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ
РОГАТОЇ ХУДОБИ У ПЛЕМЗАВОДАХ УКРАЇНИ**

**О.Д.Бугров, В.М.Хмельков, Г.С.Тихона, М.В.Тарасенко, В.А.Коркін,
С.Ю.Шеховцов, О.Ю.Шеховцова, І.В.Ткачова, О.Ф.Гончар,
А.О.Масс, О.Н.Скляр**

Інститут тваринництва УААН

У статті викладено результати багаторічних досліджень з розробки й використання Української технології трансплантації у скотарстві України.

Встановлені оптимальні параметри відбирання корів-донорів, початку їх гормональної обробки (10-11 доба статевого циклу для разових, 11-12 – для багаторазових) з використанням ФСГ різних виробників і їх поєднань, при чотириразовій схемі обробки. Наведено дані про разовий і тринадцятикратні використання корів як донорів ембріонів, про заходи деконтамінації ембріонів, одержання гетерозиготних, гомозиготних і химерних телят і їх розвиток. На прикладах трьох племзаводів одержані високі показники: одержано у середньому на 1 донора 12,6-15,8 ембріонів і яйцеклітин, у тому числі 6,8-8,7 повноцінних, одержано 40-42 телят-трансплантатів на 100 пересадок. Наведено матеріали про молочну продуктивність трансплантатів й ін. дані.

**корова-донор, гормональна обробка, трансплантація, яйцеклітина,
ембріон, молочна продуктивність**

Понад п'ятдесят років відокремлює нас від дня, коли О.В Квасницький у 1949 році в Полтавському інституті свинарства одержав перших у світі поросят-трансплантатів.

Розпочаті роботи з трансплантації ембріонів свиней були успішно продовжені на ембріонах овець і в 1950 році А.В.Лопирінім і Н.В.Логіною були отримані ягнята-трансплантати. Становленню ембріотрансплантації сільськогосподарських тварин передували піонерські роботи, проведені в "Асканія-Нова" М.М.Завадовським у 1930-1938 роках, по гормональній стимуляції множинної овуляції у овець, корів із використанням сироватки жеребних кобил. Ці роботи, а також праці його учнів і послідовників Ю.Д.Клинського, В.Е.Даровських, Л.Розгоні, Г.В.Звєревої, М.В.Косенка, В.Е.Шавкуна, актуальні й нині.