

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ В РЕШЕНИИ СОВРЕМЕННЫХ ПРОБЛЕМ РЕПРОДУКЦИИ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

Л.В. Голубец¹, А.С. Дешко¹, М.П. Старовойтова¹,
Е.К. Стецкевич¹, И.С. Кысса², Ю.А. Якубец², М.В. Попов³

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

² – СООО «Бел-Симекс»,

г. Минск, Республика Беларусь

³ – Учебно-практический центр биотехнологий ОАО «Почапово»,
г. Пинск, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 15.06.2013 г.)

Аннотация. Перечисленные биотехнологические направления интенсификации использования генетического ресурса высокопродуктивного скота в республике, дополняя и расширяя друг друга, должны стать неотъемлемым звеном повышения эффективности селекционного процесса, расширения возможности использования репродуктивного потенциала не только быков-производителей, но и материнского стада.

Summary. The listed biotechnological directions of an intensification of use of a genetic resource of highly productive cattle, in the republic supplementing and dilating each other, should become the integral part of rising of efficacy of selection process, dilating the possibility of use of breeding potential not only of sires, but also of maternal herd.

Введение. С разработкой технологии искусственного осеменения, позволившей получать от одного производителя десятки тысяч потомков, роль быков в совершенствовании стада резко возросла. В то время как роль маток осталась на прежнем уровне. Так как крупный рогатый скот относится к одноплодным видам млекопитающих, то от одной коровы можно получить, в лучшем случае, одного теленка в год, а за всю свою продуктивную жизнь в условиях промышленной технологии она может произвести в среднем не более 3-6 потомков. С внедрением современных интенсивных технологий, строительством новых комплексов, на которых концентрация поголовья достигает 800-1000 голов, при отсутствии пастбищ и активного моциона, сроки продуктивного использования коров сокращаются до 2-3 лактаций.

Кардинальное решение проблемы повышения эффективности воспроизводства состоит в повышении интенсивности использования маток. Дело в том, что в яичниках половозрелых коров количество потенциальных яйцеклеток, по некоторым данным, может достигать несколь-

ких сот тысяч, в то время как при традиционной системе воспроизводства за продуктивную жизнь в виде потомства может реализоваться всего лишь несколько [2]. Поэтому исследования многих ученых, начиная еще с конца 19 века, были направлены на решение этой проблемы – максимального использования этого огромного репродуктивного потенциала. Одним из ее решений стала разработка на основе углубленных исследований репродуктивных функций технологии трансплантации эмбрионов, начало которой было положено в 1891 году, когда английский ученый Неаре W. [7] из Кембриджского университета трансплантировал оплодотворенную яйцеклетку от крольчихи-донора к крольчихе-реципиенту другой породы. Родившийся крольчонок генетически принадлежал крольчихе-донору. В 1950 году в научно-исследовательском центре Висконсин Rowson L., et.al. [12] разработали технологию хирургического извлечения и пересадки эмбрионов, а в 1951 году в результате использования данной технологии был получен первый теленок. В 1964 году Mutter M. [11], используя пипетку для искусственного осеменения, успешно пересадил эмбрион от донора реципиенту, в результате чего родился теленок после нехирургической пересадки. К началу 70-х годов прошлого столетия были разработаны основные методики трансплантации эмбрионов и началось их внедрение в производство.

Цель работы – определение роли биотехнологических методов в решении современных проблем селекции и воспроизводства крупного рогатого скота.

Материалы и методы исследований. Исследования проводились путем анализа и синтеза научных материалов, опубликованных в зарубежных источниках.

Результаты исследований и их обсуждение. В настоящее время до 85-90% быков-производителей, работающих на станциях по искусственному осеменению в странах Евросоюза, Северной Америки и Канады, получены именно путем трансплантации эмбрионов. Трансплантация дает значительный импульс к повышению роли семейств в селекционно-племенной работе. Так, если при искусственном осеменении от каждой коровы за всю ее продуктивную жизнь получают двух-трех телочек, рожденных в разные годы, трансплантация эмбрионов позволяет получать от маток до 5-10 потомков в год и тем самым обеспечивает ускоренное обновление стада, повышение его качества, а также более достоверную генетическую оценку матери по качеству потомства. При этом генетический прогресс при ее использовании достигается прежде всего за счет повышения интенсивности отбора среди матерей. Так, если при традиционных способах воспроизводства матерями следующего поколения становятся обычно 90-100% коров, то при использовании

трансплантации эмбрионов для получения следующего материнского поколения из популяции можно отобрать всего лишь 10% лучших животных. Получение от донора 9-10 телят в год позволяет обеспечить девятикратное увеличение темпов селекции среди матерей будущих матерей коров ($imk = 1,75$ против $0,195$ при традиционном отборе) [13].

В материалах исследований Schaeffer L.R. [13] приведены интересные результаты, полученные при моделировании селекции молочного скота. В основу использованной модели были заложены данные о 2000 коров племенного центра. Анализ полученных результатов показал, что с увеличением пригодных для трансплантации эмбрионов и повышением процента стельности коров генетический прогресс возрастает. Однако этот процесс происходит нелинейно. В этой же работе приведены данные по генетическому сдвигу молочной продуктивности при разных методах воспроизводства и селекции молочного скота. При этом сравнивались результаты общепринятой программы селекции, результаты трансплантации эмбрионов и результаты трансплантации эмбрионов при интенсивном отборе быков.

Полученные данные показали, что генетический прогресс по молочной продуктивности существенно повышается при использовании трансплантации эмбрионов, увеличивающей интенсивность селекции по материнской линии, особенно среди матерей быков. Ее использование позволяет повысить темпы генетического прогресса с $94,3$ до $124,8$ кг молока в год, т.е. на 32%, а при повышении интенсивности селекции быков-производителей в сочетании с использованием трансплантации эмбрионов генетический прогресс повышается до $148,2$ кг молока в год, т.е. на 57% [1].

В настоящее время благодаря последним достижениям в области биологии размножения открылись новые возможности интенсификации процессов воспроизведения высокоценных генотипов сельскохозяйственных животных. Было установлено, что ооциты, извлеченные из фолликулов, при создании соответствующих условий способны возобновлять мейоз и созреть до стадии оплодотворения (МII). Оплодотворение созревших вне организма яйцеклеток позволяет получать эмбрионы на разных стадиях развития, а их пересадка реципиентам предоставляет возможность получать племенной молодняк.

Выполняя ту же самую роль, что и трансплантация эмбрионов (максимально использовать репродуктивный и генетический потенциал), технология получения эмбрионов в культуре *in vitro* имеет и ряд преимуществ. В первую очередь она не требует гормональной обработки, т.е. гормонального вмешательства в половой цикл животного и не удлиняет сервис-период. Отпадает необходимость в такой трудоемкой опера-

ции, как ежедневной, в течение 4-х дней, по два раза в день через 12 часов инъекции гонадотропина. Использование метода трансвагинальной аспирации ооцитов, или по международной классификации OPU (ovum pick up), позволяет получать клетки без гормонального вмешательства независимо от стадии полового цикла до двух раз в неделю и даже в первые три месяца стельности без ущерба для здоровья животного. Извлекать ооциты у молодых телочек с шестимесячного /6/, а по некоторым данным даже с двухмесячного возраста [3, 4, 5]. Кроме этого, ооциты можно получать на конвейере мясокомбината после убоя животного. Все это открывает новые возможности для массового производства эмбрионов с целью быстрого и качественного обновления или создания высокопродуктивного стада, формирования племенного ядра. Кроме этого, использование клеточных технологий открывает возможность реконструирования генома животного и придания ему заранее заданных свойств. В связи с этим технологии *in vitro* дано сыграть важную роль в получении трансгенных животных-продуцентов биологически активных веществ, различных лекарственных препаратов – дешевых и экологически безопасных. Так, сегодня одним из наиболее интенсивно развивающихся направлений фармакологии считается фармакогенетика, т.е. использование методов генной инженерии для получения новых лекарственных препаратов. По мнению многих исследователей, трансгенные животные вскоре станут реальной альтернативой на рынке лекарственных препаратов, а наиболее подходящей основой для получения таких животных является технология *in vitro*. Объясняется это тем, что оптимальной фазой введения чужеродного генетического материала является стадия зиготы до слияния пронуклеусов. Именно встраиванием генов в пронуклеус обеспечивается наибольшая вероятность успеха. При использовании существующих методов зиготы получают от предварительно стимулированных и оплодотворенных доноров оперативным путем. Но это очень сложный и трудоемкий способ, связанный с операцией на животном и не всегда приводящий к успеху (трудно «поймать» тот момент, когда необходимо провести операцию, чтобы получить именно зиготу). Технология *in vitro* снимает эту проблему, поскольку позволяет получать, в принципе, неограниченное количество ооцитов, оплодотворять их в культуре *in vitro* и в любой момент времени получать любое количество зигот на нужной стадии.

С внедрением данных биотехнологий в практику животноводства появилась возможность определения пола животного на ранних стадиях развития эмбриона, что также очень важно в селекции и разведении крупного рогатого скота. Первые опыты в этом направлении были проведены в 1988 году. Точность оценки при этом составляла около 50%,

а уже через 10 лет использование ДНК-технологий позволило повысить точность метода до 93-98%. В дополнение к этому в 2003 году многолетние исследования американских и английских ученых завершились разработкой и внедрением в производство технологии определения пола спермы. Основанный на этой технологии метод размножения крупного рогатого скота позволяет получать на 100 отелов 90-95 телочек или бычков (по желанию заказчика) [6]. Появилась возможность определять наследственные заболевания на ранних стадиях развития зародыша.

Сокращение интервала между поколениями является одним из ключевых элементов в достижении заметного генетического прогресса у крупного рогатого скота. В обычных условиях сократить генерационный интервал в основном можно только за счет сокращения межотельного периода и времени оценки производителя по качеству потомства. Пересадка эмбрионов, в особенности эмбрионов *in vitro*, открывает новые возможности сокращения интервала между поколениями за счет ускоренного обновления стада и раннего использования молодых животных [8, 9, 10]. Хорошо известно, что яичники телочек уже в двухмесячном возрасте содержат ооциты, способные к созреванию, развитию и оплодотворению в культуре *in vitro*. Извлечение ооцитов у таких телочек и получение на их основе эмбрионов позволяет значительно сократить интервал между поколениями (таблица).

Как видно из таблицы, рождение первых телят с использованием технологии *in vitro* происходит в то время, когда их генетической матери исполняется 11 месяцев, при трансплантации эмбрионов – 21 месяц, а после искусственного осеменения – 27 месяцев. При этом у телочек, с которыми работали по технологии *in vitro*, появляется уже второе поколение.

Несложные расчеты показывают сравнительную эффективность воспроизводства при использовании различных методов получения потомства. Искусственное осеменение позволяет получать одного теленка в год. При трансплантации в среднем от каждого донора получают 5 жизнеспособных эмбрионов. Эмбрионы у постоянных доноров можно извлекать 4 раза в год. Следовательно, от каждого из них можно получить 20 эмбрионов и сделать 20 пересадок. При уровне стельности 50% за год можно получить 10 телят, или примерно одного теленка в месяц.

При использовании технологии *in vitro* на каждую аспирацию можно получить до 20 ооцитов. При проведении в месяц всего лишь 2-х аспираций можно получить 40 ооцитов. При выходе 25% биологически полноценных зародышей за месяц можно получить 10 эмбрионов. При приживляемости 40% получим четыре стельности и четыре теленка.

ка. Другими словами, при соответствующей организации и соблюдении всех параметров технологии каждую неделю можно получать одного теленка.

Таблица 1 – Сравнительная эффективность получения следующего поколения при разных методах воспроизводства

Поколение	Возраст, мес.	Аспирация ооцитов	Извлечение эмбрионов	Искусственное осеменение
G1	2	Получение ооцитов у элитных телочек и трансплантация полученных эмбрионов реципиентам	-	-
G2	11	Рождение телят после пересадки эмбрионов, полученных от телочек G1	-	-
	12	-	Извлечение эмбрионов у телок G1	-
	13	Получение ооцитов у двухмесячных телочек G2 и трансплантация полученных эмбрионов реципиентам	-	-
	18	-	-	Искусственное осеменение телок G1
	21	-	Рождение телят после пересадки эмбрионов, полученных от телочек G1	-
G3	22	Рождение телят после пересадки эмбрионов, полученных от телочек G2	-	-
	24	Получение ооцитов у 2-х месячных телочек G3 и трансплантация полученных эмбрионов реципиентам	-	-
	27	-	-	Рождение телят после искусственного осеменения телок G1

Таким образом, при искусственном осеменении можно получить 1 теленка в год, при трансплантации эмбрионов – 1 теленка в месяц, а при использовании технологии *in vitro* 1 теленка в неделю.

В отношении пользовательных животных трансплантация предоставляет возможность получения до 40% телят-двоен и производства животных мясных пород в стадах молочных коров, создает более благоприятные условия для использования мировых генетических ресурсов путем транспортировки вместо животных, глубоко замороженных эмбрионов, устраняет многие ветеринарные препятствия в международной торговле, исключает необходимость адаптации импортированных животных к новым условиям среды, обеспечивает получение идентичных близнецов, создание криохранилища эмбрионов редких и исчезающих пород и видов животных.

Заключение. Таким образом, перечисленные выше биотехнологические направления интенсификации использования генетического ресурса высокопродуктивного скота в республике, дополняя и расширяя друг друга, должны стать неотъемлемым звеном повышения эффективности селекционного процесса, расширения возможности использования репродуктивного потенциала не только быков-производителей, но и материнского стада.

ЛИТЕРАТУРА

1. Завертяев, Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота / Завертяев, Б.П. Агропромиздат, 1989. – 255 с.
2. Эрнст, Л.К. Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных / Л.К. Эрнст, Н.И. Сергеев. - М.: Агропромиздат, 1989. – 312 с.
3. Armstrong, D. Gonadotropin stimulation regimes for follicular aspiration and *in vitro* embryo production from calves oocytes / D. Armstrong // *Theryogenology*, 1994. – 42. – P. 1227-1236.
4. Brogliatti, V. Transvaginal ultrasound guided oocytes collection in 10 to 16 weekes of age calves / V. Brogliatti // *Theryogenology*, 1995. – 43. P. 177.
5. Fry, R. Ultrasonically guided transvaginal oocytes recovery from calves treated with or without GnRH / R. Fry // *Theryogenology*, 1998. – 49. – P. 1077-1082.
6. Gordon, I. Laboratory production of cattle embryos / I. Gordon // CAB, International, 1994.- 672 p.
7. Heape, W. Prelimery note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother / W. Heape // *Proc. R. Soc. Lond. Biol. Sci.*-1991. - 48. - P. 457-459.
8. Looney, C. Use of prepubertal heifers as oocytes donors for IVF:effect of age and gonadotropin treatment / C. Looney, et.al. // *Therigenology*, 1995. – 43. - P. 269.
9. Majerus, H. Production of blastocysts from prepubertal calves oocytes recovered by ovum pick-up / H. Majerus, et.al. // *Theryogenology*, 1998. – 49. P. 291.
10. Majerus, A. Embryoproduction by ovum pick-up in unstimulated calves before and after puberty / A. Majerus, et.al. // *heryogenology*, 1999. – 52. – P. 1169-1179.
11. Mutter, M. Successful non-surgical ovine embryo transfer / M. Mutter // *Artif. Insem. Digest*, 1964. - V. 12. - P. 3.
12. Rowson, L. An apparatus for the extraction of fertilized eggs from the living cow / L. Rowson, D. Dowling // *The Vet. Rec.*, 1999. - V.61. - P. 191-197.
13. Shaeffer, L. Effects of embryo transfer in beef cattle on genetic evaluation methodology / L. Shaeffer // *Jornal of animal science*, 1989. - vol. 67. – P. 10.