

ИТОГИ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ РЕПРОДУКТИВНЫХ ТЕХНОЛОГИЙ В ВОСПРОИЗВОДСТВЕ МЕЛКИХ ЖВАЧНЫХ

А.-М.М. АЙБАЗОВ, Т.В. МАМОНТОВА, И.Г. СЕРДЮКОВ, М.А. ГУБАХАНОВ
ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр»

RESULTS AND PROSPECTS OF THE USE OF ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNOLOGIES IN REPRODUCTION OF SMALL RUMINANTS'S ANIMAL

A.-M.M. AIBAZOV, T.V. MAMONTOVA, I.G. SERDYUKOV, M.A. GUBAKHANOV
Federal State Budgetary Scientific Institution «North Caucasus Federal Scientific Agrarian Center»

Аннотация. В статье рассматриваются наиболее распространенные вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), такие как искусственное осеменение, криоконсервация спермы и создание хранилищ, индукция и синхронизация половой охоты, а также ВРТ, используемые в редких случаях (технология индукции суперовуляции и трансплантации эмбрионов, получение эмбрионов *in-vitro*, криоконсервация эмбрионов, трансгенез). Изложены результаты собственных многолетних исследований по разработке биотехнологических методов и приёмов повышения воспроизводительных качеств овец и коз. Приводятся причины редкого использования в практике отечественного овцеводства и козоводства программ множественной овуляции и эмбриотрансплантации (МОЭТ). Даются рекомендации по использованию ВРТ для сохранения генофонда и повышения эффективности использования генетических ресурсов высокоценных животных, увеличивающих масштабы их участия в процессе воспроизводства овец и коз.

Ключевые слова: мелкие жвачные, воспроизводительная функция, синхронизация, криоконсервация, эмбрионы, трансплантация, трансгенез.

Summary. The article discusses the most common ART (artificial insemination, cryopreservation of sperm and creation of storage facilities, induction and synchronization of sexual reproduction), as well as ART used in rare cases (technology of superovulation induction and embryo transfer, *in-vitro* embryo production, embryo cryopreservation, transgenesis). The author presents the results of own long-term research on the development of biotechnological methods and methods of increasing the reproductive qualities of sheep and goats. The reasons for the rare use of multiple ovulation and embryotransplantation programs (MOET) in domestic sheep and goat breeding practice are given. Recommendations on using MOET to preserve the gene pool and to increase the efficiency of using genetic resources of high-value animals, increasing their participation in the sheep and goat reproduction process, are given.

Keywords: small ruminants, reproductive function, synchronization of estrus, cryopreservation, embryos, transplantation, transgenes.

Овцеводство является одной из ведущих отраслей животноводства в мире, насчитывает более 1 миллиарда голов овец [1]. По данным Росстата, поголовье

овец и коз в России на начало 2021 г. составило 21 млн 937,8 тыс. голов. Первое место по численности мелкого рогатого скота занимает Северо-Кавказский федеральный округ – 8 млн 163 тыс. голов овец и коз, второе место у Южного федерального округа – 5 млн 823,6 тыс. голов [2].

Актуальной экономической задачей всех отечественных сельхозтоваропроизводителей, независимо от форм собственности, от крупных племенных и товарных ферм до небольших фермерских хозяйств и сельских подворий, является увеличение продуктивности овец и коз и, как следствие, повышение производства продукции и снижению ее себестоимости. Выполнению указанных задач может способствовать интенсивная разработка и широкое использование современных биотехнологических методов и приемов воспроизводства, в первую очередь, вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ). Этот термин является общепринятым в научном сообществе и используется для описания процедур, связанных с манипулированием репродуктивными циклами животных, гаметами или эмбрионами [3]. В статье рассматриваются наиболее распространенные вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), такие как искусственное осеменение, криоконсервация спермы и создание хранилищ, индукция и синхронизация половой охоты, а также ВРТ, используемые в редких случаях (технология индукции суперовуляции и трансплантации эмбрионов, получение эмбрионов *in-vitro*, криоконсервация эмбрионов, трансгенез).

Результаты и их обсуждение. В течение последних 200 лет были разработаны несколько поколений таких технологий для использования на домашних животных, включая искусственное осеменение (ИО); технологию сохранения спермы, в т.ч. криоконсервацию половых клеток; множественную овуляцию, получение и трансфер эмбрионов (МОЭТ), клонирование и трансгенез.

История вспомогательных репродуктивных технологий начинается с 1784 г. когда впервые было применено успешное искусственное осеменение собаки. Затем спустя более 100 лет (1890 г.) был проведен первый

успешный эмбриотрансфер – перенос эмбрионов у кролика. В начале XX века быстрое развитие получает искусственное осеменение крупного рогатого скота, овец и коз. Настоящий научный прорыв в развитии вспомогательных репродуктивных технологий случился в середине прошлого столетия, когда отечественными учеными была выяснена способность спермиев животных переносить глубокое замораживание (1947 г.), появился первый теленок, родившийся после переноса эмбрионов (1950 г.), родился первый теленок от искусственного осеменения замороженной спермой (1951 г.), проведено первое успешное экстракорпоральное оплодотворение у кролика (1959 г.). В последующем была разработана методика нехирургического переноса эмбрионов крупного рогатого скота (1970 г.), родился первый теленок после переноса замороженного эмбриона (1973 г.), первый теленок, родившийся после ЭКО (1981 г.). В дальнейшем интенсивное развитие получили технологии трансгеноза. Был получен первый трансгенный скот с помощью пронуклеарной инъекции (1985 г.), через год было проведено клонирование овец путем переноса ядра с использованием эмбриональных клеток (1986 г.), сообщено об успешной сортировке сперматозоидов по полу методом проточной цитометрии (1989 г.). В 1996 г. мировой сенсацией стало получение первого млекопитающего (овца Долли) с помощью SCNT с использованием взрослых донорских клеток, а спустя год – появление первой трансгенной овцы, полученной с помощью SCNT – донорская клетка – эмбриональный фибробласт, трансфицированный геном, кодирующим фактор свертывания крови IX человека [4].

Первоначально смысл вспомогательных репродуктивных технологий на домашних видах с.-х. животных был связан с генетическим улучшением или производством, направленным на то, чтобы животноводческая отрасль могла реагировать на постоянно растущие потребности в повышении продуктивности и качества (например, производство большего числа потомства от ценного животного, чем это было бы возможно при обычном спаривании). Поэтому среди домашних видов наибольшее распространение получили ВРТ для крупного рогатого скота, чем для других видов, что отражает их экономическую важность в производстве продуктов питания. Однако очень быстро многие методы ВРТ были адаптированы и применены к другим видам домашних животных. Кроме того, ВРТ предложили потенциальные решения для сохранения редких или находящихся под угрозой исчезновения пород или видов животных.

В последние годы использование определенных методов, таких как перенос ядра соматической клетки (SCNT) и редактирование генома, открыло возможности для применения в области биомедицинских моделей. Биомедицинские применения ВРТ, особенно перенос ядер соматических клеток и культивирование стволовых клеток, изучались на домашних млекопитающих в качестве потенциальных моделей болезней человека и для разработки стратегий возможных терапевтических вмешательств.



Рис. 1. Вспомогательные репродуктивные технологии, используемые для интенсификации генетического улучшения овец и коз

Fig. 1. Assisted reproductive technologies used to intensify the genetic improvement of sheep and goats

Следует признать, что, несмотря на более чем вековые исследования и разработки, некоторые ВРТ (искусственное осеменение, криоконсервация спермы, синхронизация половой охоты) получили достаточно широкое распространение, другие вспомогательные технологии, такие как технология индукции суперовуляции и трансплантации эмбрионов, получение эмбрионов in-vitro и криоконсервация эмбрионов, используются в редких случаях [5].

Лаборатория воспроизводства и репродуктивных технологий ВНИИОК в течение последних десятилетий успешно разрабатывает ряд биотехнологических методов и приемов, повышающих эффективность использования генетических ресурсов высокоценных овец и коз, увеличивающих масштабы их участия в процессе воспроизводства. Цель данной статьи – провести анализ некоторых современных биотехнологических методов и приемов управления репродуктивной деятельностью с тем, чтобы дать четкое представление о биологической и экономической ценности каждого, а также составить прогноз о перспективах их дальнейшего применения.

Технология осеменения овец/коз охлажденной транспортированной спермой. Современные реалии отечественного овцеводства и козоводства таковы, что большая часть (до 80-85%) производства продукции отрасли сосредоточена в крестьянско-фермерских (КФХ) и личных подсобных (ЛПХ) хозяйствах. Не все КФХ и ЛПХ в силу ряда причин могут позволить себе приобретение дорогостоящих высокоценных производителей, обеспечивая надлежащее кормление, уход и содержание в течение всего года. К примеру, стоимость мясных баранчиков в возрасте 4-6 мес. в стране разведения (Франция, Великобритания, Голландия) составляет от €500 до €1000. К этому необходимо добавить стоимость карантинных мероприятий и перевозку животных.

Далее, анализ показывает, что даже при создании максимально благоприятных условий отход завезенного

поголовья составляет в первый год до 30%. Таким образом, стоимость выбывших животных ложится на себестоимость оставшихся животных, что дополнительно удорожает продукцию от них. Но даже имеющиеся высокоценные производители используются для повышения продуктивности отечественных овец и коз не рационально и от них в среднем получают в лучшем случае по 400-600 потомков в год. Происходит это по причине использования разных вариантов естественной случки и игнорирования фермерами наиболее прогрессивного метода воспроизводства – искусственного осеменения. В некоторых случаях ситуация складывается так, что производители находятся на значительном расстоянии от места осеменения овец. Эта ситуация возникает, как правило, в КФХ и ЛПХ, так как у них зачастую содержится малоценное разнородное маточное поголовье при отсутствии высокопродуктивных производителей определенной направленности продуктивности для коренного улучшения собственного поголовья.

Таким образом, остро стоит проблема масштабирования использования генофонда имеющегося поголовья высокоценных производителей мясных пород с целью получения максимального количества потомства. Этого можно достичь организацией осеменения овец сохраняемой и транспортируемой на значительные расстояния спермой. Принципиальные моменты технологии краткосрочного (в течение 12-72 часов) сохранения спермы разных видов домашних животных были разработаны в середине прошлого века. Биологической основой для разработки способа осеменения разбавленной охлажденной спермой послужили исследования, в которых было установлено, что при охлаждении до температуры, близкой к нулю, обмен веществ в сперме заметно снижается, и энергетические ресурсы расходуются спермиями гораздо медленнее. В результате выживаемость половых клеток вне организма значительно повышается. После краткосрочного хранения сперма без существенных потерь восстанавливает подвижность и оплодотворяющую способность. Сотрудниками лаборатории были разработаны и запатентованы среды для разбавления спермы, которые обеспечивают выживаемость охлажденной спермы во внешней среде более 72 ч. и высокую (65-80%) оплодотворяемость овец и коз [5].

Сохранение и рациональное использование генофонда высокоценных производителей. Способность гамет сохранять биологическую полноценность в замороженном виде открыла практически неограниченные возможности для ученых и практиков. Многолетними собственными исследованиями были выяснены видовые особенности проявления воспроизводительных функций самцов и самок, влияние сезонных факторов на половую активность, уровень и качество спермопродукции, биологических свойств спермиев баранов и козлов, детально изучены основные факторы, вызывающие структурные и функциональные повреждения половых клеток при криоконсервации и дефростации, приводящие к гибели или снижению биологической полноценности спермиев. На основе выявленных теоретических закономерностей

были разработаны новые синтетические среды и технологические приемы замораживания и оттаивания спермы [6, 7, 8]. Эксперименты на большом поголовье овец показали, что оплодотворяющая способность спермы, замороженной по предложенной нами технологии, составляет от 45 до 55% при общепринятом цервикальном осеменении. Технология нехирургического внутриматочного осеменения методом лапароскопии позволила повысить оплодотворяемость овец и коз от первого осеменения замороженной спермой до 75%. [9].

Уникальные разработки легли в основу создания генофондного банка (хранилища) спермы, в котором в настоящее время хранятся десятки тысяч доз замороженной спермы от выдающихся баранов и козлов-производителей отечественных и импортных пород, в том числе сохраняемые уже около 50 лет [10].

Усовершенствование организации воспроизводства овец и коз. При существующей системе искусственного осеменения овец и коз, которая сложилась в 30-е годы прошлого столетия, случка овец и коз, основанная на спонтанной половой охоте, обычно продолжается 1,5-2,0 мес., результатом чего является слишком растянутый период ягнения / козления. Наличие в отарах разновозрастных ягнят и козлят создает большие трудности в сохранении и выращивании молодняка и, в конечном счете, приводит к снижению темпов воспроизводства стада. Более того, хотя сроки случки растянуты (35-45 дней), нагрузка на одного ценного производителя за сезон составляет, как правило, не более 200-300 маток. Например, в племязаводах Ставропольского края в 2020 г. в среднем одним бараном-производителем осеменено около 350 овец.

Одним из путей интенсификации процесса воспроизводства является метод синхронизации полового цикла. Сотрудниками лаборатории разработаны и предложены на практике эффективные, простые и недорогие способы синхронизации полового цикла у овец и коз [11, 12]. Основной идеей этого биотехнологического приема является возможность управлять воспроизводством, целенаправленно воздействуя и изменяя проявление тех или иных репродуктивных процессов. Тем самым достигается сразу несколько целей.

Во-первых, нет необходимости ждать начала спонтанного прихода животных в охоту. Как известно, овцы и, в меньшей степени, козы, относятся к животным с четко выраженным половым циклом. Однако в пределах полового цикла (конец августа – декабрь) начало прихода маток в охоту может значительно варьировать в зависимости от многих и разнообразных условий, в основном, хозяйственных и климатических. Метод синхронизации позволяет преодолеть этот биологический барьер и внести элемент четкой плановости в проведении случки.

Во-вторых, метод синхронизации позволяет регулировать количество ежедневно приходящих в охоту животных, что также делает искусственное осеменение прогнозируемым. Доказано, что после синхронизации половая охота проявляется одновременно в течение 36-48 часов после обработки у 90-100% животных, что

позволяет планировать начало случки, а также регулировать количество маток в охоте.

В-третьих, при хорошо организованной синхронизации нет необходимости держать на маточной отаре плодовых пробников и проводить ежедневную трудоемкую выборку маток в охоте. При этом очень важно, что весь приплод будет гарантированно получен от назначенных в случку производителей.

В-четвертых, значительно сокращаются сроки искусственного осеменения и, соответственно, ягнения и козления. В зависимости от возможностей и желания сельхозпроизводителя, а также условий хозяйствования, осеменение отары (600-650 маток) проводится за 8-10 дней (вместо обычных 35-40). При этом ягнение (козление) продолжается 15-20 дней (вместо традиционных 40-50).

При применении метода синхронизации незначительное повышение затрат на обработку животных компенсируется значительным снижением трудозатрат, повышением технологичности проведения осеменения и ягнения (козления), отсутствием затрат на содержание пробников. В результате прямые затраты на проведение осеменительной кампании снижаются в среднем на 50-60%. При этом оплодотворяемость овец и коз сохраняется на довольно высоком уровне (80...90%) при плодовитости 120-130%.

Индукция полиовуляции и трансплантация эмбрионов овец и коз. Метод трансплантации эмбрионов позволяет получать несколько десятков потомков от выдающихся родителей в течение короткого времени и тем самым ускорить селекционный прогресс. Однако трансплантация эмбрионов у овец и коз – сложная многокомпонентная технология, требующая доработок и усовершенствований.

На основе детального изучения закономерностей нейрогуморальной регуляции полового процесса самок сотрудниками лаборатории разработаны и апробированы методы стимуляции множественной овуляции у овец и коз с применением различных гормональных препаратов («СЖК», «ФСГ», «Крестар», «Фоллитропин», «Фоллигон» и др.), обеспечивающие получение от одного донора 12-18 эмбрионов, пригодных для трансплантации [13]. Отработана техника извлечения эмбрионов из рогов матки и яйцепроводов при результативности 75-90%. Проведено более 300 эмбриопересадок на разных стадиях их развития с приживляемостью 55-65%. Изучена возможность кратковременного (в течение 24-36 часов при температуре 2...4°C) и длительного (вифрификация – при 196°C) хранения 2-4 бластомерных эмбрионов в разработанных средах. Приоритетность исследований лаборатории в этом направлении защищены патентами на изобретения и полезные модели [14].

Несмотря на очевидные успехи, программы множественной овуляции и эмбриотрансплантации (МОЭТ) у мелких жвачных обычно ограничиваются несколькими странами и в подавляющем количестве случаев все еще остаются уделом экспериментаторов. Это явилось следствием того, что в практическом плане метод МОЭТ нельзя считать эффективным, хотя

он в некоторой степени и обеспечивает недорогой вариант экспорта генетического материала через международные границы. Неэффективность трансплантации детерминирована в основном одной, но очень значимой проблемой: успех этой техники непредсказуем из-за многих ограничивающих факторов, влияющих на общие результаты. К основным лимитирующим факторам можно отнести сезонность репродукции с длительным естественным периодом анэструса, высокую вариабельность яичникового ответа на гормональные обработки, низкую оплодотворяемость, необходимость использования (как правило, одноразово) высокоценных маток в качестве доноров эмбрионов, необходимость и негативные моменты хирургического вмешательства для сбора и переноса гамет и эмбрионов. Эти негативные параметры в сочетании с высокими затратами на приобретение гормональных препаратов и их использование препятствовали широкомасштабному использованию технологии трансплантации эмбрионов у овец и коз, и до сих пор данный метод считается недостаточно надежным для применения в крупномасштабных системах разведения. Поэтому выглядит вполне резонным, что многие ученые и практики считают МОЭТ у мелких жвачных одной из самых разочаровывающих вспомогательных репродуктивных технологий.

Контроль репродуктивного состояния стада.

Известно, что оплодотворяемость овец и коз от первого осеменения при использовании свежеполученной спермы высокого качества не превышает 75-80%. Более того, существуют критические стадии развития эмбриона и под воздействием определенных неблагоприятных факторов может наблюдаться ранняя эмбриональная смертность. Поэтому важное значение имеет четкий контроль репродуктивного состояния стада. Своевременная и ранняя диагностика беременности предотвращает экономические потери, связанные с содержанием бесплодных животных, недополучением приплода и продукции. Этот вопрос наиболее существенен для овцеводческих и козоводческих хозяйств, так как овцы и козы – животные с выраженным половым сезоном и, в случае неплодотворного осеменения, важно успеть повторно осеменить животное в течение эстрального периода и тем самым иметь возможность оперативного включения в воспроизводство бесплодных овец.

Известно, что для диагностики суягности используют метод пальпации плодов сквозь брюшную полость, рефлексологический, радиографический и лабораторные методы (определение концентрации прогестерона в крови или молоке, исследование цервикальной слизи). Однако все они имеют определенные недостатки. Рефлексологический (повторная выборка с помощью баранов-пробников) метод используют на 12-19 дни после осеменения. Но он не является надежным диагностическим методом, поскольку не определяет беременных самок, а лишь фиксирует отсутствие признаков половой охоты. Метод пальпации используется на поздних стадиях фетогенеза (не ранее 3-го месяца после осеменения, а некоторые авторы рекомендуют использовать этот метод с 100-го дня беременности). Радиографический

метод базируется на определении окостенения скелета плода во время «просвечивания» беременного животного рентгеновскими лучами. По литературным данным, этот метод эффективен (90-95%) с 3-го мес. после осеменения, но не получил широкого распространения из-за высокой стоимости оборудования и невозможности диагностики беременности на ранних сроках.

В предыдущих экспериментах мы установили, что перспективным (эффективность около 85%) является метод определения концентрации прогестерона в крови или молоке на 17-19 дни после осеменения. Недостатком его является существенная трудоемкость манипуляций (необходимы значительные затраты реагентов, времени и труда). Еще одним довольно простым лабораторным методом является исследование цервикальной слизи, но его лучше использовать после 7-22 недель суягности, а точность, по данным некоторых исследователей, варьирует в широких пределах (от 60 до 95%).

Приведенные данные свидетельствуют о том, что традиционные методы исследования не позволяют быстро и объективно диагностировать раннюю беременность у овец.

В последнее время на практике для оценки состояния репродуктивной системы самок широко используется сонография – метод прижизненной визуализации внутренних органов и тканей с использованием ультразвуковых аппаратов. Высокая разделительная способность ультразвуковых приборов, относительная простота и скорость обследования позволяют широко использовать сонографию для определения беременности и ее сроков, а также своевременной диагностики патологий внутренних половых органов. Поскольку все приборы работают в режиме реального времени, стало возможным проведение качественного исследования половой системы и наблюдение за развитием отдельных процессов в ней.

Сотрудники лаборатории в течение последних трех лет провели несколько тысяч УЗИ – диагностики беременности у овец и коз разных пород на разной стадии беременности. Для диагностики использовали портативный аппарат УЗИ – сканер EDAN DUS60 VET, настроенный на В-режим (получение двухмерного изображения 2D) и частоту 5,0 МГц. Обследование овец и коз проводили транскутанно, используя конвексный абдоминальный (брюшной) датчик, и трансректально, используя ректальный линейный зонд.

При применении ректального линейного зонда матка у беременных в ранние сроки и заведомо небеременных визуализируются практически одинаково и прослеживаются в виде удлиненных образований средней эхогенности, без обнаружения в них эмбриональных пузырей. Однако у животных с предполагаемым сроком беременности в 20-25 дня в матке достаточно четко визуализируются эмбриональные пузыри и эмбрионы. При предполагаемой беременности более 30 дней достоверность ее определения возрастает до 90%.

Напротив, использование конвексного абдоминального датчика при этих сроках не дает однозначных положительных результатов. В то же время при сроке

гестации в 35-40 дней конвексный абдоминальный датчик визуализирует беременность с 90% достоверностью. Видны пузыри с околоплодной жидкостью и эмбрионы. Перемещая датчик, можно сосчитать количество эмбрионов и в некоторых случаях определить размер эмбриона.

При сроке беременности более 1,5 мес. практически со 100% достоверностью можно регистрировать суягности. В дальнейшем визуализация плода еще больше возрастает и возможно определение карункулов и даже некоторых линейных показателей (длина плода, состояние плаценты, объем околоплодных вод и некоторые другие показатели).

В то же время, при высоких сроках беременности (более 1,5 мес.) использование ректального линейного зонда дает большую погрешность достоверности. По-видимому, это связано с тем, что в эти сроки гестации матка располагается на границе тазовой и брюшной полостей, плоды небольшого размера можно было спутать с содержимым кишечника или почками. Поэтому по результатам этого этапа исследований мы не можем рекомендовать использование трансректального метода в эти сроки беременности.

Таким образом, ультразвуковая диагностика позволяет определять беременность у овец по наличию эмбриональных пузырей на 22-25-й день после осеменения, при этом преимущественным является использование трансректального зонда. При предполагаемых сроках беременности более 60 дней предпочтительным является транскутанная абдоминальная сонография с применением конвексного датчика.

Результаты исследования показали, что УЗИ-тест можно проводить как в стационарных, так и в полевых условиях и безопасно диагностировать беременность у 400-500 маток в день.

Работы по ранней экспресс-диагностике беременности у овец ультразвуковым методом будут продолжены, т.к. на сегодняшний день отсутствует четкая систематизация и интерпретация полученных параметров при эхографическом исследовании, мы не обладаем критериями раннего эмбриогенеза у различных пород овец. Требуется уточнения способы дешифровки полученной информации для определения возраста плода (его длина, масса, состояние плаценты, объем околоплодных вод и некоторые другие показатели) в зависимости от породной принадлежности. По результатам исследований актуализировалась научная идея о накоплении массива данных, разработке программы ультразвуковой диагностики сроков беременности у овец различных пород по комплексу морфофункциональных изменений эмбриофетоплацентарного комплекса и созданию на этой основе «УЗИ-атласа эмбрио- и фетогенеза у овец разных пород».

Создание животных с заданными свойствами. Достижения молекулярной генетики, позволившие конструировать и клонировать рекомбинантные ДНК, вводить эту генетическую информацию в геном животных, открыли принципиально новые возможности направленного изменения их наследственности.

Трансгенозом называется перенос генов из одной биологической системы в другую с целью получения организмов с измененным геномом. Трансгенные животные – это экспериментально полученные животные, содержащие во всех клетках своего организма дополнительную, интегрированную с хромосомами и экспрессирующуюся чужеродную ДНК (трансген), которая передается по наследству. Исследования по трансгенезу были начаты в 1974 г., когда было получено первое трансгенное животное (мышь). В дальнейшем было предложено несколько технологий трансгенеза, но основным в настоящее время является метод микроинъекций ДНК в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки, находящейся на стадии двух пронуклеусов. Эта технология является многоступенчатой, важнейшими этапами которой являются конструирование гена интереса (рекомбинантной ДНК); получение оплодотворенных и находящихся на стадии двух пронуклеусов яйцеклеток; микроинъекция чужеродной ДНК (трансгена) в пронуклеус (как правило, в мужской вследствие его больших размеров и лучшей визуализации); культивирование микроинъекцированных зигот в условиях *in vitro* до стадии предимплантационного зародыша; трансфер эмбриона в половые органы суррогатной матери; диагностика беременности и мониторинг ее течения; получение приплода и идентификация особей, экспрессирующих трансген.

В России первые трансгенные животные были получены в 1987 г. – академик Л.К. Эрнст и соавторы сообщили о рождении трансгенных кроликов, содержащих ген поверхностного антигена вируса гепатита В человека.

Первые опыты по получению трансгенных животных были предприняты сотрудниками лаборатории в рамках совместного российско-австрийского международного проекта «Химозин». Цель работы заключалась в получении первичных трансгенных овец – продуцентов молока с ферментом прохимозином, используемым в сыроделии [15].

В течение последних 10 лет международным коллективом ученых (ВНИИОК, Институт биологии гена РАН, РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству») проводятся экспериментальные работы по получению первичных животных – коз продуцентов, содержащих ген лактоферрина человека. Получены значимые результаты, исследования продолжаются [16, 17].

Заключение. В практике воспроизводства вспомогательные репродуктивные технологии получили широкое распространение и играют важную роль, в особенности при разведении крупного рогатого скота. Что касается мелких жвачных, то утверждать о широком применении биотехнологических приемов регуляции репродуктивной функции не приходится. Развитие и совершенствование некоторых вспомогательных репродуктивных технологий (искусственное осеменение, криоконсервация спермы и создание биоресурсных коллекций) получили широкое распространение. Другие же (синхронизация половой охоты, технология индукции суперовуляции и трансплантации эмбрионов, получение

эмбрионов *in-vitro* и их криоконсервация) используются в редких случаях. У мелких жвачных животных программы множественной овуляции и эмбриотрансплантации обычно ограничиваются несколькими странами и все еще в подавляющем количестве остаются уделом экспериментаторов. В первую очередь это объясняется высокой финансовой затратностью на проведение манипуляций и низкой экономической эффективностью. По-видимому, успехи в применении ВРТ будут зависеть от удешевления себестоимости, а также возможности проведения геномного анализа экономически продуктивных показателей овец и коз. В качестве альтернативы программам МОЭТ, могущей вывести эту технологию из статуса исследования в лаборатории в полевые условия, некоторые ученые считают технологию *in vitro* производства эмбрионов (IVP), предполагающую забор яйцеклеток от живых взрослых и молодых доноров женского пола с последующим их культивированием и оплодотворением гамет. Прогнозируется, что использование этой технологии производства эмбрионов и последующего замораживания может существенно расширить распространение ценного генетического материала в популяциях мелких жвачных. Кроме того, считается, что эта технология более приемлема для создания популяций без риска передачи болезней. Еще одним положительным моментом является потенциально существенный вклад в сохранение исчезающих видов или пород, а также при создании генофондных банков представителей дикой фауны, потенциально привлекательных для интродукции в сельскохозяйственное производство.

ЛИТЕРАТУРА

1. FAOSTAT, 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/#-data/QL>. Accessed 31 March, 2021.
2. Поголовье овец в хозяйствах всех категорий [электронный ресурс] // РОССТАТ, 2021. <https://rosstat.gov.ru/opendata/7708234640-VSHP2016524> (дата обращения: 31.10.2021).
3. Findlay J.K. Reproductive science and the future of the planet / J.K. Findlay, M.K. Holland B.B.M. Wong // *Reproduction*. – 2019. – 158. – Pp. 91-96.
4. Daly J. Towards Improving the Outcomes of Assisted Reproductive Technologies of Cattle and Sheep, with Particular Focus on Recipient Management / J. Daly, S. Hayley, Mc G.A. Hayley, Kind L. Karen and van Wettere H.E.J. William // *Animals*. – 2020. – 10. – 293.
5. Айбазов М.М. Биотехнология воспроизводства овец и коз: Монография / М.М. Айбазов, В.В. Абонеев, М.И. Селионова – Ставрополь, 2004. – 330 с.
6. Патент 1755431 СССР А 61 Д 19/02. «Среда для разбавления спермы баранов»/ А.-М.М. Айбазов, Н.П. Галаган, В.И. Богомаз и др. (СССР). – № заявки 4702977; Заявлено 18 апреля 1989 г.; опубликовано 15 апреля 1992 г. – 4 с.
7. Патент 2115386 РФ 6 А 61 Д 19/02. «Среда Сан-Лакт для замораживания спермы барана» / С.Н. Слипченко А.-М.М. Айбазов, К.К. Ашурбегов и др. – Заявка № 97104558; Заявлено 24.03.1997 г. Зарегистр. 20 июля 1998 г.; Приоритет 24.03.1997 г. РФ. – 5 с.
8. Патент на изобретение «Среда для криоконсервации спермы козлов»/П.В. Аксенова А.-М.М. Айбазов/RU2436299,

заявка № 2010118373/13, приоритет изобретения 06.05.10 г., зарег. в гос. реестре 20.12.11 г. Бюл. № 35.

9. Айбазов А.-М.М. Применение лапароскопии при внутриматочном осеменении и трансплантации эмбрионов у овец // Вестник ветеринарии. – 1998. – № 5 (11). – С. 51-55.

10. Айбазов А.-М.М. Создание биоресурсных коллекций – необходимое условие сохранения и рационального использования генетических ресурсов животных / А.-М.М. Айбазов, Т.В. Мамонтова // Сельскохозяйственный журнал. – 2018. – № 2 (11). – С. 54-62.

11. Аксенова П.В. Рациональное использование генофонда зааненских производителей / П.В. Аксенова, А.-М.М. Айбазов, Д.В. Коваленко // Зоотехния. – 2011. – № 9. – С. 6-7.

12. Айбазов А.-М.М. Синхронизация половой охоты у молочных коз / А.-М.М. Айбазов, Л.С. Малахова, П.В. Трубникова // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2006. – № 2. – С. 32-33.

13. Трубникова П.В. Результаты индукции множественной овуляции у зааненских коз / П.В. Трубникова, М.М. Айбазов, Д.С. Милошенко // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. Спец. выпуск. – Изд. «КолосС». – 2007. – С. 37.

14. Аксенова П.В. Оценка качества и устойчивости к криоконсервации эмбрионов коз в зависимости от стадии развития / П.В. Аксенова, М.М. Айбазов, М.С. Сеитов // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2013. – № 6 (44). – С. 85-87.

15. Мороз В.А. Перспективная биотехнология получения трансгенных овец / В.А. Мороз А.-М.М. Айбазов // Вестник Ветеринарии. – 1997. – № 6. – С. 92-99.

16. Айбазов А.-М.М. Лактоферрин человека от трансгенных коз. 1. Особенности репродукции молочных коз зааненской породы // А.-М.М. Айбазов, П.В. Аксенова // Вестник ветеринарии. – 2010. – № 54 (3/2010). – С. 59-62.

17. Рудак А.Н. Селекционная работа со стадом трансгенных коз в Республике Беларусь / А.Н. Рудак, Ю.И. Герман, А.И. Бudevич, Н.Л. Заремба, В.М. Айбазов // Овцы, козы, шерстяное дело. – 2021. – № 1. – С. 43-46.

REFERENCES

1. FAOSTAT, 2021. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QL>. Accessed 31 March, 2021.

2. The number of sheep in farms of all categories [electronic resource] // ROSSTAT, 2021. <https://rosstat.gov.ru/open-data/7708234640-VSHP2016524> (accessed 31.10.2021).

3. Findlay J.K. Reproductive science and the future of the planet / J.K. Findlay, M.K. Holland B.V.M. Wong // Reproduction. – 2019. – 158. – Pp. 91-96.

4. Daly J. Towards Improving the Outcomes of Assisted Reproductive Technologies of Cattle and Sheep, with Particular Focus on Recipient Management / J. Daly, S. Hayley, Mc G.A. Hayley, Kind L. Karen and van Wettere H.E.J. William // Animals. – 2020. – 10. – 293.

5. Aibazov M.M. Biotechnology of sheep and goat reproduction: Monograph / M.M. Aibazov, V.V. Aboneev, M.I. Selionova. – Stavropol, 2004. – 330 с.

6. Patent 1755431 USSR A 61 D19/02. Medium for dilution of ram sperm / A.-M.M. Aibazov, N.P. Galagan, V.I. Bogomaz et al. (USSR). – Application number 4702977; applied on April 18, 1989; published on April 15, 1992. – 4 p.

7. Patent 2115386 RU6 A 61 D19/02. San-Lact medium for freezing of semen of rams / S.N. Slipchenko A.-M.M. Aibazov, K.K. Ashurbegov et al. – Application № 97104558; stated 24.03.1997. Registered July 20, 1998; Priorite. July 20, 1998; Russian Federation Priority 24.03.1997. – 5 p.

8. Patent 2436299 RU Environment for cryopreservation of semen of goats / P.V. Aksenova A.-M.M. Aibazov / Application № 2010118373/13, priority of invention 06.05.10; registered in the State Register 20.12.11. – 5 p.

9. Aibazov A.-M.M. Application of laparoscopy in intrauterine ossification and embryo transplantation in sheep // Vestnik Veterinary. – 1998. – № 5 (11). – Pp. 51-55.

10. Aibazov A.-M.M. Creation of bio-resource collections – a prerequisite for the conservation and rational use of genetic resources of animals / A.-M.M. Aibazov, T.V. Mamontova // Agricultural Journal. – 2018. – № 2 (11). – Pp. 54-62.

11. Aksenova P.V. Rational use of the gene pool of Saanian producers / P.V. Aksenova A.-M.M. Aibazov, D.V. Kovalenko // Zootechnika. – 2011. – № 9. – С. 6-7.

12. Aibazov A.-M.M. Synchronization of oestrus in dairy goats / A.-M.M. Aibazov, L.S. Malakhova, P.V. Trubnikova // Sheep, goats, woolen business. – 2006. – № 2. – Pp. 32-33.

13. Trubnikova P.V. Results of induction of multiple ovulation in Zaanen goats / P.V. Trubnikova, M.M. Aibazov, D.S. Miloshenko // Russian veterinary journal. Farm animals. Special issue. – Ed. “KolosS”. – 2007. – P. 37.

14. Aksenova P.V. Assessment of quality and resistance to cryopreservation of goat embryos depending on the stage of development / P.V. Aksenova, M.M. Aibazov, M.S. Seitov // Proceedings of the Orenburg State Agrarian University. – 2013. – № 6 (44). – Pp. 85-87.

15. Moroz V.A. Prospective biotechnology for obtaining transgenic sheep / V.A. Moroz A.-M.M. Aibazov // Vestnik Veterinary. – 1997. – № 6. – Pp. 92-99.

16. Aibazov A.-M.M. Human lactoferrin from transgenic goats. 1. Peculiarities of reproduction of dairy goats of Zaanese breed // А.-М.М. Айбазов, П.В. Аксенова // Vestnik Veterinary. 2010. – № 54 (3/2010). – Pp. 59-62.

17. Rudak A.N. Breeding work with herd of transgenic goats in the Republic of Belarus / A.N. Rudak, Y.I. German, A.I. Budevich, N.L. Zarembo, V.M. Aibazov // Sheep, goats, woolen business. – 2021. – № 1. – Pp. 43-46.

Айбазов Али-Магомет Муссаевич, доктор с.-х. наук, профессор, гл. науч. сотрудник лаборатории воспроизводства и репродуктивных технологий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь; тел.: (938) 351-01-02, e-mail: velikii-1@yandex.ru;

Мамонтова Татьяна Васильевна, канд. с.-х. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории воспроизводства и репродуктивных технологий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: (928) 318-96-33;

Сердюков Игорь Геннадиевич, канд. с.-х. наук, вед. науч. сотрудник лаборатории воспроизводства и репродуктивных технологий ВНИИОК-филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: (918) 749-21-00;

Губаханов Мугутдин Абдурахманович, мл. науч. сотрудник лаборатории воспроизводства и репродуктивных технологий ВНИИОК – филиала ФГБНУ «Северо-Кавказский федеральный научный аграрный центр», г. Ставрополь, тел.: (961) 499-85-49.