

## ЕМБРІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗУЛЬТАТІВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

**І. М. Люта**, аспірантка

Науковий керівник – С. І. Ковтун, доктор с.-г. наук, проф.,  
член-кор. НААН

Миколаївський національний аграрний університет

*Розглянуто питання впливу «прямої пересадки» кріоконсервованих ембріонів на тільність телиць-реципієнтів. Показано, що збільшення строку перебування ембріонів у рідкому азоті не впливає суттєво на життєздатність ембріонів. Аналіз експериментальних даних свідчить, що метод «прямої пересадки» є досить ефективним і дозволяє отримати тільних реципієнтів на рівні 40,0%.*

**Ключові слова:** трансплантація ембріонів, жовте тіло, кріоконсервовані ембріони, телиці-реципієнти, тільність.

**Постановка проблеми.** Метод трансплантації ембріонів значно розширює одержання потомства від однієї високопродуктивної корови протягом господарського використання [1,2]. Світовий досвід свідчить, що трансплантація ембріонів прискорює селекційний прогрес у молочному скотарстві в 6-7 разів, порівняно із звичайними методами розведення [2,4,6,8].

Кріоконсервація ембріонів з метою їх подальшого зберігання дозволяє надійно підтримувати різноманітність та розгалуженість генеалогічної структури, а також зберігати генофонд аборигенних, поліпшених та поліпшуючих порід шляхом створення банку ембріонів [8,9]. Також стримуючим чинником впровадження біотехнології трансплантації ембріонів у селекційну практику є необхідність істотних капіталовкладень для будівництва приміщень, придбання вартісного обладнання, біопрепаратів, навчання і розширення штату працівників господарств тощо. Зниження зазначених витрат сприятиме поширенню даного біотехнологічного методу [9]. Останнім часом дуже популярним є метод «прямої пересадки» заморожено-розморожених ембріонів великої рогатої худоби, коли трансплантацію зародків реципієнтам здійснюють відразу після розморожування без вилучення із пайєти і від-

© Люта І. М., Ковтун С. І., 2016

мивання від кріопротектора. У цьому випадку як кріопротектор використовують 1,5 М розчин етиленгліколю. Недоліком методу «прямої пересадки» є ризик використання для трансплантації недостатньо оцінених ембріонів, але перевагою є зменшення кількості операцій [3,4,7,9]. Тому для спрощення та здешевлення трансплантації ембріонів доцільно здійснювати їх «пряму пересадку».

**Мета досліджень.** При застосуванні методу «прямої пересадки» ембріонів морфологічна оцінка зародків після їх розморожування відсутня, тобто вплив якості ембріонів на тільність реципієнтів не розглядається [1,2,4]. Виходячи з цього, метою нашого дослідження було вивчити рівень приживлення ембріонів залежно від стадії їх розвитку (морули, ранні бластоцисти) та чіткого підбору телиць-реципієнтів.

**Матеріали і методика досліджень.** Трансплантацію ембріонів великої рогатої худоби голштинської породи німецької селекції (чорно-ряба масть) було проведено у господарстві ТОВ «Крок-УкрЗалізБуд» (Чернігівська обл.). Здійснено 25 пересадок ембріонів. Реципієнтами були телиці після стимульованої охоти, синхронізованих за статевим циклом (12 голів) та телиць зі спонтанною (природною) охотою (13 голів) за наявністю жовтого тіла, діаметром не менше 1,0 см. Розвиток жовтих тіл було досліджено за допомогою пальпаторної діагностики яєчників. Для синхронізації охоти реципієнтів дворазово з інтервалом в 10 днів проводили ін'єкцію «Естрофану» (аналог простагландину F2b) у дозі 2 мл. Ембріони розморожували за таких умов: 10 сек. на повітрі, 20 сек. у водяній бані при температурі +25°C (за рекомендаціями німецької фірми-виробника ембріонів «VOSt-ET»). Реципієнтам проводили низьку сакральну анестезію, після чого здійснювали пересадку ембріона у верхівку рогу матки. Через 3 місяці після пересадки реципієнтів перевіряли на тільність за допомогою ректального методу та фіксували народження телят-трансплантантів.

**Виклад основного матеріалу досліджень.** Протягом 2014 року було здійснено 25 пересадок ембріонів голштинської породи німецької селекції. Проведено контроль тільності телиць-реципієнтів, зареєстровано тільність та народження

телят у 40,0% тварин (табл. 1). Аналіз результатів літературних даних [4,5,6,9] та власних досліджень свідчать, що тривалість зберігання ембріонів у рідкому азоті (-196°C) під час перевірки рівня імплантації кріоконсервованих зародків, які перебували в замороженому стані (від 11 до 19 років), не впливає на приживлення ембріонів після їх нехірургічної пересадки. Так, тільність після пересадки ембріонів, що зберігалися у рідкому азоті протягом 14 років була 100%, 11 років – 33,3%, а після розморожування зародків через 12 років – 50%.

Таблиця 1

**Приживлення ембріонів у реципієнтів після їх трансплантації**

Показники	Значення
Кількість реципієнтів, гол.	25
Кількість пересаджених ембріонів, шт.	25
Кількість тільних реципієнтів, гол.	10
% тільності та народження телят	40,0

Отже, збільшення строку перебування ембріонів у рідкому азоті не виявляє суттєвого впливу на наступну життєздатність ембріонів. Тому наші дослідження було спрямовано на врахування стадій розвитку ембріонів та чіткий підбір телиць-реципієнтів для досягнення максимально високого відсотка приживлення ембріонів. Для досліду було використано телиць, синхронних за охотою з віком заморожених ембріонів. Під час відбору за допомогою ректального методу досліджувалися яєчники і матка реципієнтів. Шийка матки чітко виражена, діаметром від 2,5 до 3,0 см і довжиною від 7 до 12 см. Яєчники округлої чи овальної форми, мають щільну консистенцію. Дослідженнями встановлено, що використання гормонального препарату «Естрофан» для синхронізації еструсу у телиць-реципієнтів істотно дозволяє підвищити кількість телиць, придатних для ембріотрансплантації. Відбирали телиць з жовтими тілами статевого циклу відмінної та доброї якості. Пересадки ембріонів реципієнтам з сумнівним жовтим тілом не проводились.

Тварини, які приходили в охоту спонтанно (без ін'єкцій «Естрофану»), мали показати кращі результати приживлюваності ембріонів, проте показники виявились однаковими.

Реципієнтів відбирали з розрахунком 2-4 голови на один ембріон. Отримані результати показали, що чіткий відбір телиць-реципієнтів має істотний вплив на результати трансплантації ембріонів великої рогатої худоби.

Таблиця 2

**Залежність приживлення ембріонів від стадії їх розвитку**

№ п/п	№ телиць-реципієнтів	Дата трансплантації ембріонів	Стадія розвитку ембріону	Тільність	Теличка/бугаєць	Рівень тільності залежно від стадії розвитку ембріону, %
1	2	3	4	5	6	7
1	6085	26. 05. 2014	Рання бластоциста	-	-	Рання бластоциста – 57,1 Морула – 20,0
2	0242		Рання бластоциста	+	бугаєць	
3	6027		Рання бластоциста	-	-	
4	6029		Морула	+	бугаєць (аборт)	
5	6068		Морула	-	-	
6	2950		Рання бластоциста	-	-	
7	6052		Рання бластоциста	+	теличка	
8	2845		Морула	-	-	
9	0403		Рання бластоциста	+	теличка	
10	6007		Морула	-	-	
11	6091		Рання бластоциста	+	теличка	
12	0294		Морула	-	-	

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5	6	7
13	2959	03. 07. 2014	Морула	+	теличка	Морула – 66,7
14	6012	07. 07. 2014	Морула	+	бугаєць	
15	6059	22. 07. 2014	Морула	-	-	
16	6063	23. 07. 2014	Рання бластоциста	-	-	
17	6032	19. 08. 2014	Морула	+	теличка	Морула – 100,0
18	6067	19. 08. 2014	Рання бластоциста	-	-	
19	6031	19. 08. 2014	Рання бластоциста	-	-	
20	7522	30. 10. 2014	Морула	+	теличка	Морула – 100,0
21	0402	05. 11. 2014	Морула	-	-	Морула – 20,0
22	0572	05. 11. 2014	Морула	-	-	
23	0562	13. 11. 2014	Морула	+	теличка	
24	7537	13. 11. 2014	Морула	-	-	
25	6097	13. 11. 2014	Морула	-	-	
Рання бластоциста - 10			4		40,0	
Морула - 15			6		40,0	

Під час дослідження було також вивчено вплив стадії розвитку ембріонів на ефективність їх приживлення після трансплантації реципієнтам. Серед використаних зародків ( $n = 25$ ) 60,0% були на стадії пізньої морули і 40,0% - ранні бластоцисти. Виявлено, що після трансплантації ранніх бластоцист тільність телиць-реципієнтів була на рівні 40,0% (4 із 10), пересаджені пізні морули також імплантувалися на рівні 40,0% (6 із 15) (табл. 2).

Це вказує на необхідність врахування стадій розвитку зародка перед трансплантацією. Виходячи з цього, можна спрог-

нозувати рівень приживлення ембріонів при трансплантації, роблячи детальний аналіз стадій їх розвитку.

**Висновки.** Аналіз експериментальних даних свідчить, що метод «прямої пересадки» є досить ефективним і дозволяє отримати тільних реципієнтів на рівні 40,0% (10 із 25). Рівень тільності наближається до вітчизняного і світового під час пересадки кріоконсервованих ембріонів великої рогатої худоби. В результаті проведених досліджень отримано в господарстві ТОВ «Крок-УкрЗалізБуд» сім теличок і два бугайці.

Список використаних джерел:

1. Бугров А. Д. Приживляемость эмбрионов крупного рогатого скота в зависимости от их качества, стадии развития и дня начала гормональной обработки / А. Д. Бугров, Н. В. Тарасенко, И. В. Ткачева // Актуальные проблемы биологии в животноводстве: материалы 4-ой междунар. конф. – Боровск, 2006. – С. 224-225.
2. Оценка качества эмбрионов крупного рогатого скота/ Кауффольд П., Тамм И., Шихов И. Я. и др. — М. : Агропромиздат, 1990 – 56 с.
3. Ковтун С. І. Наукове обґрунтування і удосконалення генетичних методів дослідження раннього ембріогенезу сільськогосподарських тварин : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. сільськогосподарських наук : спец. 03. 00. 15 "генетика" / Ковтун С. І. – с. Чубинське Київської області, 2008. – 34 с.
4. Стан та перспективи трансплантації ембріонів великої рогатої худоби / О. В. Щербак, А. Б. Зюсюн, І. М. Люта, С. І. Ковтун. // Матеріали Міжнародної наук. -практ. конф. «Аграрна наука-освіта-виробництво: сучасний стан, проблеми та перспективи інтеграції» - Миколаїв, 2014. – С. 124-125.
5. Мадисон В. Искусство трансплантации эмбрионов / В. Мадисон, Л. Мадисон / Тваринництво сьогодні. — 2014. — №2. - С. 67-73.
6. Руководство по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / [Н. И. Сергеев, Н. М. Решетникова, А. И. Абилов и др. ]. – Дубровицы : Издательство РУЦ ЭБТЖ, 2008. – 114 с. : ил., табл.
7. Шаловило С. Г. Удосконалення надшвидкого методу заморожування і деконсервації ембріонів без відмивання і виведення кріопротекторів/ С. Г. Шаловило, М. М. Шаран, М. Д. Пасіцький // Матеріали Міжнародної наук. -вироб. конф. "Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин". – Асканія-Нова, 1997. – С. 87-88.
8. Шаран М. М. Застосування трансплантації ембріонів у молочному і м'ясному скотарстві / М. М. Шаран. — Львів, 2009. – С. 6-9.
9. Юлевич О. І. Біотехнологія / О. І. Юлевич, С. І. Ковтун, М. І. Гиль. – Миколаїв : МДАУ, 2012. – 476 с.

**Подяки.** Робота виконана за фінансової підтримки ТОВ «Крок-УкрЗалізБуд» в рамках договору з Інститутом розведення і генетики тварин імені М. В. Зубця НААН та спільно з науковцями інституту: кандидатом сільськогосподарських наук В. Ф. Стаховським, кандидатом сільськогосподарських наук О. В. Щербак та науковим співробітником А. Б. Зюсюн.

**И. Н. Лютая. Эмбриологическая характеристика результатов трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.**

Рассмотрены вопросы влияния «прямой пересадки» криоконсервированных эмбрионов на стельность телок-реципиентов. Показано, что увеличение срока пребывания эмбрионов в жидком азоте существенно не влияет на следующую жизнеспособность эмбрионов. Анализ экспериментальных данных показывает, что метод «прямой пересадки» является весьма эффективным и позволяет получить тельных реципиентов на уровне 40,0%.

**Ключевые слова:** трансплантация эмбрионов, желтое тело, криоконсервированные эмбрионы, телки-реципиенты, стельность.

**I. Liuta. Legislative features of the accounting support of expenses and income of enterprises.**

*The question of the impact of "direct transplantation" cryopreserved embryos in cows pregnancy recipient.*

*Transplantation of cattle embryos breed German Holstein breeding (black and pockmarked suit) was held at the farm of "Krok-UkrZalizBud" (Chernihiv region. ). Done 25 transplants of embryos used 25 heifers' recipients who underwent non-surgical embryo transplantation. The embryos were frozen under the following conditions: 10 seconds in the air for 20 seconds in a water bath at + 25°C (the recommendations of the German manufacturer embryos «VOST-ET»). It is shown that increasing the term of embryos in liquid nitrogen did not affect significantly the viability of embryos. Research has found that the use of hormones "Estrofan" to synchronize estrus in heifers' recipients can increase significantly the number of heifers suitable for transplantation embryos. Chosen for heifers with yellow bodies, sexual cycle excellent and good quality. Embryo transplant recipients with questionable luteum is carried out. Animals that come to heat spontaneously (without injection "Estrofan") have to show better survival rate of embryos, but the figures were the same. The results showed that a clear selection heifer's recipient has a significant impact on the transplant of embryos in cattle. During the investigation, it was also under the influence of embryos the efficiency of engraftment following transplant recipients. Among the used embryos (n = 25) was 60. 0% at the late morula stage and 40. 0% - early blastocyst. Revealed that early blastocysts transplant recipient heifers pregnancy was at 40. 0% (4 of 10), transplanted late morula also settled down at 40. 0% (6 of 15). Analysis of experimental data shows that the method of "direct transplantation" is very effective and can get tional recipients at 40. 0%. Pregnancy rate close to domestic and international during transplantation of cryopreserved embryos in cattle. As a result of research obtained at the farm of "Krok-UkrZalizBud" seven heifers and three bulls (one of whom was stillborn).*

**Key words:** transplantation of embryos, the corpus luteum, cryopreserved embryos, recipient- heifers, pregnancy.