

***МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ***

***ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ВЕТЕРИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ ІМЕНІ С.З. ГЖИЦЬКОГО***

***КАФЕДРА АКУШЕРСТВА, ГІНЕКОЛОГІЇ ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ  
ВІДТВОРЕННЯ ТВАРИН ІМЕНІ Г.В ЗВЕРЄВОЇ.***

**ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ЕМБРІОНІВ  
СІЛЬСЬКОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН**

***МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ***

для здобувачів другого рівня вищої освіти (магістр) спеціальність 211  
«Ветеринарна медицина»

***ЛЬВІВ – 2022***

## УДК 619:618.636.2

Розробники:

Стефанік В.Ю.- доктор ветеринарних наук, професор кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Костишин Є.Є.- кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Кава С.Й.- кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Дмитрів О.Я. - кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Кацараба О.А. - кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Івашків Р.М. - кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Івахів М.А. - кандидат ветеринарних наук, доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Басараб Т.П. - аспірантка доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Костишин Л.-М.Є.- аспірантка доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького  
Шаран О.М. - аспірантка доцент кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В. Зверєвої ЛНУВМ імені С.З.Гжицького

Рецензент: Остапів Д.Д., доктор сільськогосподарських наук, завідувач лабораторії молекулярної біології та клінічної біохімії Інститут біології тварин НААН

Стефанік В.Ю., Костишин Є.Є., Кава С.Й., Дмитрів О.Я., Кацараба О.А., Кудла І.М., Івашків Р.М., Івахів М.А., Басараб Т.П...Методичні вказівки з дисципліни «Акушерство,гінекологія та біотехнології відтворення тварин» для здобувачів другого рівня вищої освіти (магістр) спеціальності 211 «Ветеринарна медицина».

Львів: ЛНУВМБТ імені С.З Гжицького, 2022, 32с.

Рішення про доцільність публікацій прийнято на засіданні кафедри акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин імені Г.В.Зверєвої

Протокол № 8 від 15.06. 2022 року

Розглянуто і рекомендовано до друку навчально – методичною радою факультету ветеринарної медицини Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З.Гжицького ( протокол № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2022р.)

## Зміст

Збільшення виробництва молока і м'яса тісно пов'язано з високою племінною якістю тварин, а тому у всіх країнах світу з високо розвинутим тваринництвом наукові дослідження напрямлені на покращення генетичного потенціалу тварин.

Вдосконалення технології трансплантації ембріонів як метод більш повного використання генетичного потенціалу особливо цінних племінних корів, в той час, як штучне осіменіння є метод широкого використання найбільш цінних бугаїв–плідників.

Якщо врахувати, що від одного донора можна одержати ембріони чотири - п'ять разів за рік, то це вказує на очевидність реальної можливості одержувати від однієї корови-донора не менше 20-25 телят трансплантантів, що прискорить селекційну роботу стада в 5-6 разів а то і більше.

Із запровадженням у практику тваринництва методу штучного осіменіння стало можливим осіменяти за рік спермою одного бугая раніше нечувану кількість тварин (25-50, а то й 100-150 тисяч корів і телиць). Але участь самки в процесі відтворення залишалася такою ж, як сотні тисяч років тому. Протягом репродуктивного життя корова, якою б високопродуктивною вона не була, народжує в середньому 6-10 телят, із них лише половина буде теличками. Трансплантація ембріонів дозволяє значно розширити ці можливості.

З використанням технології трансплантації ембріонів пов'язані такі біотехнологічні прийоми, як одержання організмів – химер і мозаїк, трансгенних тварин, клонування.

Освоєння технології трансплантації ембріонів можливе лише на основі базових знань з акушерства, гінекології та біотехнології відтворення тварин.

## ЗНАЧЕННЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ У РОЗВЕДЕННІ ТВАРИН

Трансплантація ембріонів- це новий біотехнологічний метод пересаджування ембріонів, вимитих від генетично високоцінних корів (донорів) менш цінним тваринам (реципієнтам). Він включає цілий комплекс клінічних, біотехнологічних та лабораторних методів, скерованих на викликання поліовуляції у донорів, їх осіменіння, вимивання у них ембріонів та пересаджування їх реципієнтам, одержання від них телят - трансплантантів, що поєднують у собі високі племінні та продуктивні якості самки - донора та самця - плідника.

Використання в селекції високопродуктивних корів – рекордисток і племінних бугаїв-плідників є основною умовою високої вірогідності одержання приплоду бажаної якості .

Виробництво нині вимагає не лише високопродуктивних, стійких до захворювань, а й стандартних за продуктивністю тварин. Низька плодючість великої рогатої худоби та мала кількість нащадків у самок обмежують темпи генетико-селекційної роботи, розтягують на довгий час створення високопродуктивних стад.

Перші кроки в створенні такої біотехнології були зроблені ще в тридцятих роках. В її основу було закладено штучне осіменіння та гормональне стимулювання плодючості, з часом сюди ввійшла і трансплантація ембріонів.

Перше теля від трансплантації ембріонів отримали тут у 1977 р. Згодом було створено, в той час, Всесоюзний та республіканські біотехнологічні центри, організовано, хоч і малочисельну, мережу пунктів з трансплантації ембріонів. Трансплантація ембріонів великої рогатої худоби завойовувала права громадянства, хоч для забезпечення її ефективності потрібно було зробити ще дуже багато. Економічна криза 90-х років дещо сповільнила роботу з трансплантації ембріонів.

В Україні за період 1992-2003 рр., в основному за міжнародними проектами, було проведено 5109 пересаджувань ембріонів (у 45 господарствах 19 областей).

Трансплантація ембріонів - це принципово новий метод біотехнологічного керування відтворення стада, ефективний спосіб інтенсифікації відтворення та прискорення генетичного прогресу у скотарстві. Користуючись цим методом, можна отримати максимальну кількість нащадків від високопродуктивних корів і за рахунок цього комплектувати маточні стада та поголів'я плідників лише видатними тваринами. Це значно прискорить селекцію за бажаними ознаками.

Біотехнологи планували з часом створювати цілі стада високопродуктивних тварин на основі генетичного матеріалу високопродуктивних тварин, що походять лише від однієї пари батьків. Свою гіпотезу вони підтверджують такими розрахунками: звичайно за одну гормональну обробку від корови-донора отримують біля п'яти ембріонів. Якщо ж донора використовувати по 4-5 разів на рік, то цю цифру можна довести до 20-25. Маючи лише 10-20 корів рекордисток, можна створити протягом одного року ремонтне стадо у 100-200 голів, тоді як у звичайних умовах від цих корів за цей же час можна отримати лише 5-10 теличок. За два роки від вказаних корів можна створити цілу родину. Ефект трансплантації різко зростає при використанні бугайців-трансплантантів у якості плідників при штучному осіменінні.

Метод трансплантації ембріонів в поєднанні з кріоконсервацією дозволяє зберігати ембріони від племінних тварин, а також генофонд локальних, зникаючих порід і відтворити їх. В перспективі, генофонд зникаючих порід може бути використаний для відновлення цінних якостей, які були втрачені в інших породах при інтенсивній селекції.

Проте трансплантація ембріонів лише збільшує шанси на генетичне поліпшення стада, але не гарантує його.

Позитивні сторони трансплантації можуть бути реалізовані у тваринництві лише при використанні в якості донорів генетично цінних тварин, перевірених за якістю нащадків та визнаних поліпшувачами стада; при забезпеченні тварин повноцінною годівлею, належним утриманням, високій культурі ведення галузі; при наявності кваліфікованих кадрів, що досконало володіють методом; при повному забезпеченні відповідним обладнанням, реактивами та гормональними препаратами.

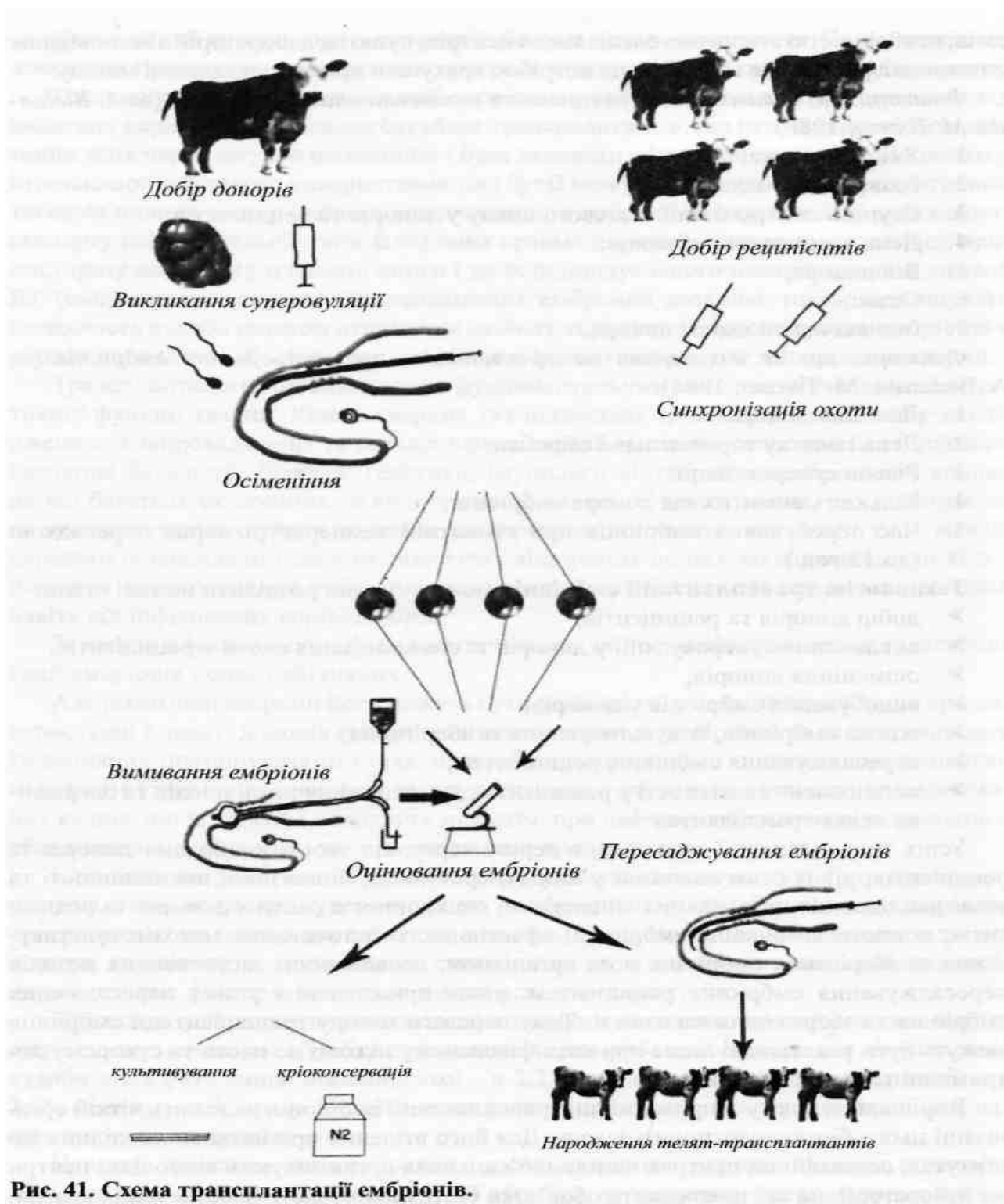
**Технологію трансплантації ембріонів** можна умовно розділити на такі етапи:

- > добір донорів та реципієнтів;
- > викликання поліовуляції у донорів та синхронізація охоти у реципієнтів;
- > осіменіння донорів;
- > видобування ембріонів у донорів;
- > оцінка ембріонів, їх культивування та зберігання;
- > пересаджування ембріонів реципієнтам;
- > встановлення вагітності у реципієнтів, виношування ними плодів та одержання телят-трансплантантів.

Слід мати на увазі, що не всі високопродуктивні корови можуть бути донорами, частина з них не реагує поліовуляцією на гормональну обробку. До того ж, рівень поліовуляції не можна передбачити, він сильно коливається в залежності від віку породи, кормового та лактаційного статусу корови, її індивідуальних особливостей, імунологічних факторів і багатьох інших невідомих факторів.

Проведені у Франції порівняльні дослідження показали, що найменшою чутливістю до гормональної обробки тут володіє чорно-ряба худоба, реакція лімузинської худоби в 2,1 разу вища, нормандської- в 2,2, шароле - в 2,5, білої аквітанської- в 3,65, менажу- в 3,8 разу. Подібні міжпородні відмінності спостерігаються і між нашими породами худоби.

Отже, трансплантація ембріонів є досить складним і дорогим заходом, що пов'язане зі складністю схем біотехнологічної обробки, дорожнечою застосовуваних препаратів, необхідністю створення спеціальних центрів, пунктів, лабораторій з відповідним штатом співробітників і т. п. Все це потрібно врахувати при запровадженні методу.



**Рис. 41. Схема трансплантації ембріонів.**

## **Добір корів-донорів реципієнтів та бугаїв – плідників для трансплантації ембріонів**

Добір корів на донорів проводять комісійно, з оформленням ветеринарного свідоцтва в господарствах, безпечних по таких заразних хворобах, як паратуберкульозний ентерит, хламідійний аборт, лептоспіроз, лейкоз, бруцельоз, туберкульоз, інфекційний ринотрахеїт, трихомоноз, пустульозний вульвовагініт, кампілобактеріоз, ящур. Тварини повинні бути вакцинованими відповідно до планів протиепізоотичних заходів для даної зони.

В якості донорів використовують корів з молочною продуктивністю, і жирністю молока не менше 220% від стандарту породи за найбільшу лактацію (305 днів )

*Донор* (від латинського - *dono* дарую) - це корова чи телиця парувального віку з високою племінною цінністю, від якої після гормонального стимулювання полірвуляції та осіменіння спермою видатного бугая - плідника отримують ембріони.

Донорами можуть бути фізіологічно зрілі тварини з високим генетичним потенціалом, з нормальним перебігом статевих циклів, при спаровуванні яких з елітними плідниками планується одержати цінних в племінному відношенні нащадків. Тварини, які не реагують на гормональні обробки полівуляцією, вибраковують з числа донорів. Корів в якості донорів використовують не раніше 2-х місяців після попередньої гормональної обробки.

Кожного донора піддають старанному клінічному дослідженню. В його анамнезі не повинно бути важких родів, затримання посліду, маститів, післяродових захворювань. При ректальному дослідженні тварини визначають розміри та тонус матки, стан яєчників, наявність у них жовтих тіл, фолікулів, кіст і т. п. Тварин з невеликими яєчниками, їх спайками з навколишніми тканинами, кістами яєчників (фолікулярними та лютеїновими), їх гіпофункцією, ендометритами, розладами обміну речовин,



а також виснажених корів, з ознаками остеомалаяції, захворюваннями кінцівок, патологічними виділеннями з родових шляхів виключають з числа донорів. Якщо донори поступають з інших господарств, то їх попередньо карантинують.

Гормональну обробку донорів розпочинають не раніше 2-3-х місяців після отелення. За підібраними донорами ведуть спостереження, визначаючи у них перебіг і тривалість статевих циклів (роблячи відповідні записи) і не осіменяючи їх. За цей час повинно проявитися не менше двох статевих циклів. Тварин з неповноцінними статевими циклами виключають з числа донорів.

При плануванні трансплантації виходять з можливості отримання від кожної корови за одну обробку не менше п'яти ембріонів, з них мінімум чотири повинні бути повноцінними. Кількість вимивань протягом року регулюють, залежно від реакції на обробки і від потреби в ембріонах. Якщо на 7-й день після вимивання обробити донора простагландином (щоб виключити небажану вагітність), пропустити після цього два статевих цикли і тоді з 8-12-го дня чергового циклу приступити до нової обробки, то протягом року можна провести від 3-х до 5-ти вимивань.

Складною проблемою трансплантації ембріонів була і залишається варіабельність реакції донорів на гормональну обробку. Біля 20-30 % корів-донорів або не реагують на обробку, або ж не продукують повноцінних ембріонів.

*Реципієнт* (від латинського *recipio* - той, що отримує, приймає) - менш продуктивна тварина, яку використовують для виношування ембріонів.

Головними критеріями при доборі корів на донорів є висока їх генетична цінність і здатність передавати бажані ознаки нащадкам. Тому при доборі донорів враховують їх походження, продуктивність батьків, тривалість господарського використання, наявність у родоводі видатних предків, їх відтворні якості. Продуктивність донора за декілька лактацій повинна бути

на 50-60 % вище стандарту по породі, а вміст жиру в молоці - таким же чи вищим стандарту.

Реципієнтом можуть бути фізіологічно зрілі тварини з нормально розвинутим статевим апаратом, що забезпечує нормальний перебіг родів.

Реципієнтами можуть служити малоцінні в племінному відношенні корови чи телиці. Звичайно на реципієнтів відбирають телиць, які в 16-18-місячному віці повинні мати масу тіла не менше 350-380 кг, бути клінічно здоровими, без видимих ознак розладів обміну речовин, з добре вираженою статевою циклічністю.

Ефективність трансплантації ембріонів у значній мірі залежить від синхронності статевої циклічності у донорів та реципієнтів, тому необхідно точно визначити тривалість та регулярність статевого циклу у донорів та реципієнтів, час появи у них охоти.

### **Синхронізація стадії збудження донорів та реципієнтів і викликання у донорів поліовуляції в яєчниках.**

У великих стадах щоденно буває певна кількість тварин в стані охоти, проте важко передбачити, у скількох з них і коли вона наступить. Тому, в практичних умовах звичайно вдаються до штучної синхронізації охоти різними методами. Наприклад, в практичній ветеринарії давно застосовується енуклеація (вилущування) жовтого тіла. Приблизно через 4 дні у тварин відновлюється статева циклічність. Проте енуклеація жовтого тіла може ускладнюватися травмами тканин яєчника, утворенням спайок і навіть загибеллю тварини від крововиливу. Тому ширше застосування знаходять інші методи, в основі яких лежить стимулювання та пролонгація функції жовтого тіла чи, навпаки, пригнічення її.

В першому випадку застосовують введення прогестерону чи його синтетичних аналогів-прогестагенів (хлормадіонацетат, КАП; медроксипрогестерон - МПА, меленгестролацетат - МГА, мегестролацетат, амол, діамол, ІСІ-79939, ІСІ-80996 та ін.). які блокують гонадотропну

функцію гіпофізу, не порушуючи синтезу ФСГ та ЛГ, підтримуючи існування жовтого тіла та високий рівень прогестерону в крові. Фолікули при цьому дозрівають лише до другої стадії, але тічка, охота та овуляція гальмуються. Припинення введення тваринам прогестерону чи прогестагенів супроводжується інтенсивним виділенням гіпофізарних гормонів і появою у них статевого збудження. Правда, час настання тічки, охоти та овуляції у тварин широко варіює, від 2 до 6 днів, знижується і заплідненість яйцеклітин. Тому в практиці трансплантації ембріонів цей метод не знайшов застосування, його витіснили простагландини.

Увага до простагландинів типу ПГ-F2 $\alpha$  значно зросла після того, як було виявлено, що синтез та обмін їх у матці, матковій вені та яєчниковій артерії в кінці лютеальної фазистатевого циклу у овець та корів супроводжується різким зниженням концентрації прогестерону в корові. З'ясувалося, що ПГ- F2 $\alpha$  є єдиним лютеолітичним фактором, що синтезується в матці і викликає регресію жовтого тіла і контролює таким чином тривалість статевого циклу.

Осіменіння самок проводять в стадію збудження статевого циклу, яка супроводжується тічкою, загальним збудженням, охотою і овуляцією.

Синхронізація стадія збудження донора та реципієнта забезпечує утворення однакового нейрон-гуморального стану організму і зокрема статевого апарату цих тварин.

Ефективність трансплантації ембріонів у значній мірі залежить від синхронності статевої циклічності у донорів та реципієнтів, тому необхідно точно визначити тривалість та регулярність статевого циклу у донорів та реципієнтів, час появи у них охоти.

Нормальна відтворна здатність та отримання добре розвиненого приплоду забезпечуються, перш за все, повноцінною збалансованою годівлею тварин, з врахуванням їх фізіологічного стану та продуктивності. Найвідповідальнішим періодом у годівлі корів-донорів є сухостійний період (якщо їх використовують для отримання приплоду) і перші 3—4 місяці після

отелення, оскільки вони співпадають з максимальним збільшенням маси плода та найвищою молочною продуктивністю. Неповноцінна годівля тварин викликає у них розлади обміну речовин та відтворної здатності, погіршення якості ембріонів. Відповідно до деталізованих норм годівлі тварин їх раціон повинен бути збалансованим за енергією, протеїном, вуглеводами, макро- та мікроелементами та іншими біологічно активними речовинами. Годують донорів за індивідуальними раціонами, які включають доброякісне сіно, концентровані корми та мінімальні кількості соковитих чи зелених кормів. Структура раціону повинна бути оптимальною, на одну кормову одиницю в ньому повинно припадати 95-105 г, а у сухостійних 110 г перетравного протеїну та 120 г цукру. Раціон повинен містити оптимальну кількість клітковини (від 22-24 % при добовому надої 10 кг; до 16-18 % при надої до 30 кг).

Утримують корів-донорів у світлих сухих приміщеннях, в індивідуальних боксах (3,5 x 4 м), а реципієнтів - у просторих стійлах.

Щоденно корів чистять і роблять їм 3<sup>4</sup>-х годинний вільний чи примусовий моціон.

У тваринницьких приміщеннях і на території двора забезпечують високу санітарну культуру і дотримуються ветеринарних вимог щодо приміщення закритого типу.

Синхронізація буває природня - це коли реципієнтам беруть тварину охота в якій співпадає з днем першого осіменіння донора після викликання в нього поліовуляції в яєчниках. Також можна статеве збудження, тічку охоту, овуляцію планувати в реципієнта після введення аналогів простагландинів (естрофан, ремофан, суперфан ін.), що приводить до лізису жовтого тіла.

Поліовуляція – викликання розвитку та дозрівання багатьох третинних фолікулів в яєчниках самок та виділення з них яйцеклітин. Для цього використовують гонадотропні гормони, які в основному, одержують з крові жереб них кобил (КЖК, СЖК, ГСЖК, фолігон) та з гіпофізів

свиней і великої рогатої худоби (ФСГ, фолітропін, фолікотропін, графолон). Ці гормони вводять тваринам донорам за спеціально розробленими схемами гормональної обробки (гормонограми).

Гонадотропні гормони застосовують коровам-донорам в фазу активного жовтого тіла, тобто приблизно на 8-10 день після закінчення тічки та охоти під час яких тварину не осіменяли. Нульовим днем вважають день прояву тічки та статевої охоти.



Рис.2. Реакція яєчника на гормональну обробку

Гормони – похідні сироватки жереб них кобил вводять одноразово, а через 48 годин застосовують простагландин. Враховуючи те, що гонадотропні гормони гіпофізарного походження мають значно менший

Таблиця 1

**Вплив сульфату цинку на ефективність полювання у корів-донорів /п-10/**

Групи корів-донорів	№±м р	К-сть жовтих тіл в яєчниках %	К-сть неовульованих фолікулів	Вимито ембріонів і яйцеклітин			
				всього	в тому числі		
					нормальних ембріонів	Дегенерованих ембріонів	яйцеклітин
Дослідна /сульфат цинку	№±м/р	12,1±1,1 0,02	1,4±0,47 0,05	8,7±1,0 0,02	7,5±0,88 0,001	0,9±0,31 0,05	0,3±0,15 0,5
Контрольна	№±м	8,6±0,63	2,7±0,53	5,6±0,63	3,1±0,48	2,0±0,36	0,4±0,22

період розпаду в організмі донора, їх потрібно вводити 2 рази на день протягом 4-5 днів, а обробку простагландинами проводять на 3-4 день від початку введення гормональних препаратів.

Для підсилення гормональної активності гонадотропінів нами було застосовано 1% розчин сульфату цинку, який вводили 1 раз в день по 10 мл в перший і другий день гормональної обробки.

Переважно через 48-56 годин після введення простагландинів у корови-донора проявляється стадія збудження статевого циклу – тічка, загальне збудження, охота. Стадію збудження виявляють за зовнішніми ознаками, а оптимальний час осіменіння визначають з допомогою бугая-пробника.

Таблиця 2

### Метод синхронізації стадії збудження у донорів і реципієнтів

День статевого циклу у донора	Обробка донора	Методи синхронізації реципієнта		
		при спадінні спонтанної статевої охоти з охотою донора	при співпадінні спонтанної статевої охоти з охотою донора	при невідомому дні статевого циклу
Нульовий	Вітамін А 150000 МО Вітамін Е 100 мг санація матки	Тривіт -15 мл	Тривіт -15мл Простогландин 500-30мкг-мг	
10-12	ФСГ Тривіт			
12-14	Простогландин 500-30мкг-мг	Простогландин 500-30мкг-мг Тривіт-15мл		
14-16	Тічка, охота, осіменіння	Тічка, охота,	Тічка, охота,	Тічка, охота,
21-22	Вимивання ембріонів	Пересадка ембріонів	Пересадка ембріонів	Пересадка ембріонів

Осіменяють донорів трьохразово з інтервалом 8-12 годин глибоко-цервікальним способом з ректальною фіксацією шийки матки, використовують для цього сперму високопродуктивних бугаїв-плідників. В дозі сперми для осіменіння має бути не менше 45-50 млн. активних

сперміїв, що є в 3 рази більше від дози яку застосовують для осіменіння

Таблиця 3

**Методи викликання поліовуляції у донорів**

День статевого циклу	Послідовність роботи та препарати	Доза препарату
1	2	3
Нульовий	<b>Схема 1</b> Вітамін А Вітамін Е Йодистий калій Санація матки	150000 МО 100мг 100-200мг 100-150мг
10-12	ГСЖК Вітамін А Вітамін Е	2500-3000 ІО 750000 ІО 50мг
12-14	Простагландин	500-30мкг-мг
14-16	Тічка, охота, осіменіння	
21-23	Вимивання ембріонів їх пересадка або підсадка	
24-26	Простагландин	500-30мкг-мг
Нульовий	<b>Схема 2</b> Вітамін А Вітамін Е Санація матки	150000 МО 100мг 100-150мг
1	2	3
10-12	ГСЖК Вітамін А Вітамін Е	2500-3000 ІО 750000 ІО 50мг
12-14	Простагландин	500-30мкг-мг
14-16	Тічка, охота, осіменіння Гонадотропін релізінггормон при другому осіменінні	1-2мг
21-23	Вимивання ембріонів і їх пересадка або відсадка	
24-26	Простагландин	500-30мкг-мг
Нульовий	<b>Схема 3</b> Вітамін А Вітамін Е Санація матки	150000 МО 100мг 100-150мг
10-12	ФСГ	14мг
11-13	ФСГ ФСГ	13мг 12мг
12-14	Простагладин	500-30мкг-мг
13-15	ФСГ	11мг
14-16	Тічка, охота, осіменіння	
21-22	Вимивання ембріонів і їх пересадка або відсадка	
24-26	Простагландин	500-30мкг-мг

корів і телиць без полі овуляції. Це пов'язано з тим, що полі овуляція впливає на зміну фізико-хімічного складу церві кально – маткового слизу, що може вплинути негативно на запліднюючу здатність сперміїв, а також запліднення багатьох яйцеклітин вимагає збільшення дози активних сперміїв.

### **Середовища для вимивання, культивування та заморожування ембріонів**

Ефективність методу трансплантації ембріонів залежить в першу чергу від якості ембріонів, а також від умов їх зберігання і правильного виконання маніпуляцій при роботі з ними. Важливим кільцем в цьому ланцюгу є приготування відповідних середовищ в яких перебуває ембріон поза маткою. І тому підготовці робочих розчинів надається особливо велике значення.

Розчини для вимивання, короткочасного зберігання, культивування і заморожування ембріонів готують заздалегідь з врахуванням часу і об'єму запланованої роботи. Основою для цих розчинів є середовище Дюльбекко (ФБС) і відповідні добавки. Всі реактиви для виготовлення робочих розчинів повинні бути високого ступеня чистоти.

Таблиця 4

#### **Склад фосфатно-буферного сольового розчину**

Речовина	Г/л	Розчини
Фенол червоний	8,0	А
	0,20	А
	2,90	А
	0,20	А
	0,01	А
	0,13	Б
	0,10	В

Примітка: А- розчинити в 800мл тридистильованої води

Б- розчинити в 100мл тридистильованої води

В- розчинити в 100мл тридистильованої води



Таблиця 5

**Схема виготовлення розчину гліцерин**

Концентрація гліцерину	Співвідношення розчинів
10%	4мл гліцерину + 33 мл середов. ФБС
8,3%	10мл 10% р-ну гліцерину + 2мл серед. ФБС
6,7%	8мл 10% р-ну гліцерину + 2мл серед. ФБС
5,0%	6мл 10% р-ну гліцерину + 2мл серед. ФБС
3,3%	4мл 10% р-ну гліцерину + 2мл серед. ФБС
1,7%	2мл 10% р-ну гліцерину + 2мл серед. ФБС

Таблиця 6

**Схема виготовлення розчину ДЖСО**

Концентрація розчину	Співвідношення розчинів
3 М	1574мл середовища ФБС + 4,26 ДЖСО
1,5 М	5 мл 3М р-ну ДЖСО+ 3мл ФБС + 2мл сироватки крові теляти
1,25 М	1 мл 1,5М р-ну ДЖСО + 1мл 1,0М ДЖСО
1,0М	2 мл 1,5М р-ну ДЖСО+ 1мл ФБС з сироватки крові теляти /20%/
0,75М	1,5 мл 1,5М р-ну ДЖСО+ 1,5мл ФБС з сироватки крові теляти /20%/
0,5М	1 мл 1,0 р-ну ДЖСО+ 1,0мл ФБС з сироватки крові теляти /20%/
0,25М	1 мл 0,75М р-ну ДЖСО+ 2мл ФБС з сироватки крові теляти /20%/

**Вимивання ембріонів**

Ефективність трансплантації ембріонів у значній мірі залежить від досконалості застосованого методу видобування їх з геніталій донора. Із сказаного вище можна зробити висновок, що на 4-5-ту добу основна кількість ембріонів у великої рогатої худоби попадає в ріг матки. Проте полі овуляція значно розтягується в часі і не всі ембріони одночасно

з'являються у розі матки, частина з них може затримуватися в яйцепроводі до 8-го дня. Поступово ембріони переміщаються від верхівки рогу матки : його середньої і передньої частини.

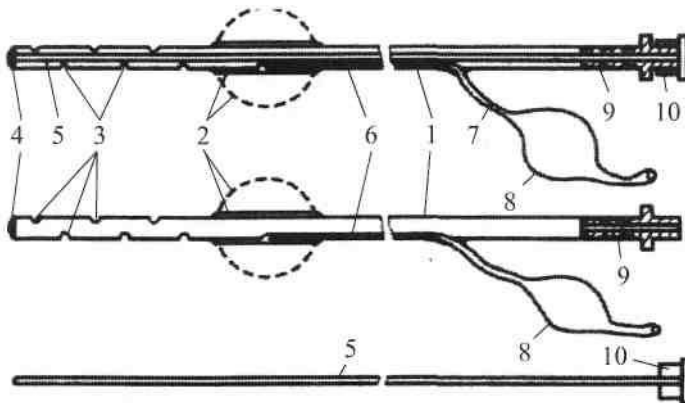
Змінюється з часом і життєздатність ембріонів. У яйцепроводі практично всі вони нормальні, проте в міру переміщення їх у матку і збільшення строку перебування їх в умовах маткового середовища (що не повністю відповідає віку усіх ембріонів), зростає кількість дегенерованих ембріонів.

Вимивання ембріонів здійснюють хірургічним та не хірургічними методами на 7-8 день після осіменіння донорів. Хірургічний метод вимивання ембріонів проводиться після проведення лапаротомії по білій лінії або в області голодної ямки, можна доступ до матки здійснювати і через розріз в верхній стінці піхви. Операцію проводять з застосуванням як загального наркозу, так і при місцевій анестезії.

Після проведення розрізу черевної стінки, матку та яєчники підтягують до рівня розрізу, в яєчниках підраховують кількість жовтих тіл, і проводять вимивання ембріонів. Для цього зі сторони великої кривизни 10-12 см від матково-трубного з'єднання роблять невеликий прокол стінки матки в який вставляють спеціальний катетер Фолея і для фіксації його в матці нагнітають повітря в гумовий балончик. Вимивання ембріонів проводять середовищем Дюльбекко з 1% вмістом фетальної сироватки крові теляти. Рідину вводять з допомогою шприца, голку якого вколюють в верхівку рогу, або безпосередньо в яйцепровід. Середовище Дюльбекко проходячи в напрямку катетера Фолея промиває верхівку рогу матки, а ембріони разом з рідиною збирають в спеціальний, стерильний, скляний посуд.

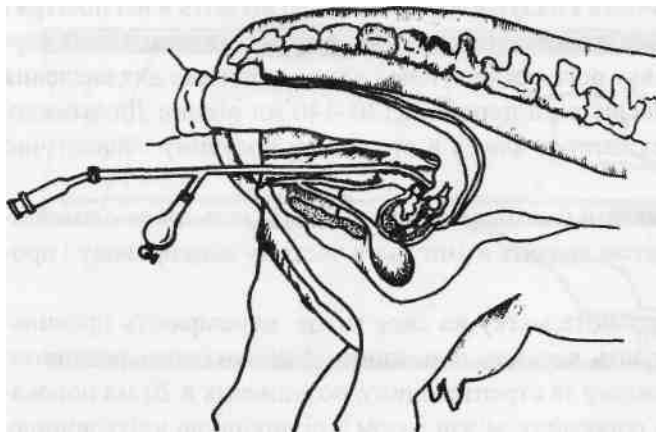
В центрах і пунктах по трансплантації ембріонів переважно використовують нехірургічний метод вимивання ембріонів. Він є більш простий у виконанні, не вимагає великих затрат і підвищує кратність використання донорів.

Для виконання не хірургічного вимивання ембріонів донора фіксують у станку, пряму кишку рукою звільняють від мас, прощупують яєчники і встановлюють наявність жовтих тіл.



**Гумовий катетер для нехірургічного вимивання ембріонів:**

1 - гумова трубка, 2 - надувна кулька, 3 - отвори для введення та виведення рідини, 4 - гумова "заглушка", 5 - сталевий стилет, 6, 7 - надувний канал, 8 - розширення каналу, 9 - зовнішній кінець катетера із замковим вузлом (10).



Зовнішні статеві органи, корінь хвоста і оточуючі їх частини тіла миють теплою водою з милом та обробляють дезінфікуючим розчином (марганцевокислого калію,

фурациліну, фуразолідону ін.) Перед вимиванням епідурально вводять 5-7 мл 2% розчину новокаїну. Коли наступить знедолення в пряму кишку вводять руку, фіксують шийку матки, а в піхву вставляють металевий трьохходовий катетер фірми ІМВ (Франція), або гумовий двохходовий катетер Фоля (Німецького, Чеського або вітчизняного виробництва). Катетер через канал шийки матки проводять по чергово в кожний з рогів матки, просувають його до верхівки рогу і надувають гумовий балончик на кінці катетера, таким чином, перекривають верхівку рогу, що дає можливість промивати верхню його частину де як правило знаходяться

ембріони. Після чого до канюлі катетера приєднують пластиковий шприц з рідиною Дюльбекко і промивають верхівку рогу. Рідину по 30-50 мл вводять в ріг матки і відсмоктують назад в шприц і зливають в стерильну скляну посудину. Для промивання кожного рогу матки використовують 300-500 мл розчину Дюльбекку.

Промивши один ріг матки, повітря з балончика випускають, а катетер переводять в інший ріг матки. Після закінчення вимивання ембріонів з обох рогів в матку вводять з допомогою цього ж катетера антибіотики для санації матки.

### **Умови роботи з ембріонами та їх пошук, оцінка і культивування**

Один з важливих етапів трансплантації ембріонів є пошук, оцінка та культивування бембріонів, тому, робота проводиться в спеціальному стерильному боксі. Персонал, який там працює повинен бути в стерильному одязі і дотримуватись правил особистої гігієни. Бокс кожного дня прибирають, миють з застосуванням дезінфікуючих засобів, а столи, обладнання, облицювальну плитку на стінах обробляють 70% спиртом. За дві години до початку роботи в боксі вмикають бактерицидні лампи для знезараження повітря.

Після промивання рогів матки промивну рідину в стерильному боксі поміщають на 20-30 хв. в термостат для відстоювання. Коли ембріони осядуть на дно банки верхню частину промивної рідини обережно відділяють методом сифону, а решту 80-100 мл розливають в 2-3 стерильні бактеріологічні чашки дно яких, для зручності пошуку ембріонів, поділене на квадрати 1x1 см. Пошук ембріонів проводять під біноклярною лупою при 15-20 разовому збільшенні, переносять їх мікропіпеткою в невеликі чашечки з середовищем Дюльбекко з вмістом від 10 до 20% фетальної сироватки крові теляти. Після пошуку і відловлювання, ембріони морфологічно оцінюють при збільшенні в 100 разів.

За життєдіяльністю ембріони поділяють на 5 категорій:

1- відмінні, ідеальні, за ступенем розвитку відповідають дню

вимивання; вони однорідні, мають округлу форму, непошкоджену прозору оболонку, ясно виражений перивітеліновий простір, однакові за величиною бластомери;

- 2- добрі, у яких декілька клітин відділились від загальної маси, бластомери не однакові за величиною, розміщені щільно і не симетрично;
- 3- задовільні, неоднорідні, в перивітеліновому просторі можуть бути включення (відділені клітини), бластомери частково ущільнені;
- 4- незадовільні, що мають прозору оболонку не визначеної форми, можуть мати дегенеровані клітини (чорного або світлого кольору), порушення зв'язку між бластомерами, ущільнення й зморщення бластомерів;
- 5- дегенеровані, які не відповідають стадії розвитку ембріона. Одночасно з ембріонами можна знайти яйцеклітини без ознак розвитку або з дегенеративними змінами.

Таблиця 7

**Показники стану ембріонів з врахуванням терміну  
осіменіння корів-донорів**

Дні після осіменіння	К-сть бластомерів	Дні після осіменіння	Стадія розвитку ембріона
2-й	2	6-й	Морула
3-й	4	7-й	Рання бластоцита
4-й	8	8-й	Бластоцита
5-й	32	9-й	Пізня бластоцита після денудації

Для визначення ступеню життєздатності ембріонів проводять їх культивування з використанням таких середовищ: 199 (Паркера), Хема – 10, В<sub>2</sub> Менезо, Дюльбекко. Осмотичний тиск поживних середовищ повинен становити 290 міліосмолів, рН-7,2-7,3. До поживних середовищ

додають 4 г бичачий альбумін на 1 л або від 10-20% фетальної сироватки крові теляти. Культивування проводять в термостаті при температурі +37<sup>0</sup> С. Період культивування ембріонів триває 48 годин. Під час культивування ембріони продовжують розвиватися, що можна помітити при збільшенні в 100 разів.

Крім культивування, ембріони оцінюють також з допомогою методу фарбування. Цей метод полягає у використанні властивості живих ембріонів не так швидко зафарбовуватися деякими барвниками тому, що фарби гірше проникають через оболонки живих ембріонів. Для фарбування використовують: акридиноранж, флуоресцеїндіацетат, 4,6-діаміно – 2 – феніл індол, 2,7 – діаміно-10-етил-9-фенілфенантридіум бромід, 1-аніліно-нафталін-8-сульфонат.

### **Короткотривале і довготривале зберігання ембріонів**

Маніпуляція з ембріонами від моменту одержання до введення в ріг матки може тривати до трьох годин. Протягом цього періоду необхідно створити умови, які забезпечують збереження всіх життєвих властивостей ембріонів.

Для такого короткотривалого зберігання ембріони після морфологічної оцінки поміщають в розчин Дюльбекко з вмістом 20% фетальної сироватки крові теляти або 4 г/л альбуміну сироватки крові бугая. Зберігання ембріонів проводять в термостаті при температурі +37<sup>0</sup> С.

Довготривале зберігання ембріонів можливе шляхом їх консервування в рідкому азоті при температурі -196<sup>0</sup> С.

Для заморожування використовують тільки свіжоодержані ембріони відмінної якості. Час підготовки ембріонів до заморожування повинен бути якнайкоротший. З метою захисту ембріонів від руйнування при заморожуванні і відтаюванні використовують спеціальні речовини (кріопротектори). Найбільш розповсюдженими з них є гліцерин і ДМСО (диметилсульфоксид). Механізм захисної дії кріопротекторів полягає в

розчиненні солей під час внутріклітинного заморожування і стабілізації клітинних мембран.

Перед заморожуванням ембріони послідовно поміщають в розчин кріопротектора різної концентрації в наростаючому порядку, а після відтаювання навпаки в порядку зменшення концентрації

Таблиця 8

**Схема витримки ембріонів в розчинах кріопротектора  
перед заморожуванням**

Порядковий номер розчину	Гліцерин		ДЖСО	
	Концентрація з ФБС	Витримка в хв..	Концентрація з ФБС	Витримка в хв..
1	3,3%	10	0,25М	5
2	6,6%	14	0,5М	5
3	10,0%	30	1,0М	5
4	-	-	1,5М	15

Після проведення ембріонів через розчини кріопротектора їх розфасовують в поліпропіленові соломинки (пайєти), пробірки або ампули. Пробірки з ембріонами закривають фольгою, скляні ампули запаюють, соломинки закривають спеціальними пластиковими корками.

Заморожування ембріонів проводять за допомогою автоматичних приладів УОП-12 (Харків), «Мінікуль» (Франція), «Планер» (Англія) і ін. підготовлені ємкості поміщають в спеціальну холодильну камеру і заморожують в такому режимі: від +20 до -6<sup>0</sup> С зі швидкістю 1<sup>0</sup> С/хв.; проводять штучну кристалізацію охолодженим в рідкому азоті пінцетом, кінчики якого доторкають до верхньої частини рідини з ембріоном, трохи подальше від самого ембріона; від -6<sup>0</sup> до -35<sup>0</sup> С охолоджують зі швидкістю 0,3<sup>0</sup> С/хв.; переносять ємкості в рідкий азот.

Ємкості з ембріонами маркірують і зберігають в рідкому азоті, а транспортують ембріони в посудинах Дюара типу СДС-5 місткістю 5л.

Розморозування ембріонів проводять у водяній бані при температурі +37<sup>0</sup> С протягом 10-15 сек до повного зникнення льоду.

Після відтаювання ембріони разом з середовищем поміщають на годинникове скло, відшукують їх під біноклярною лупою і проводять попередню морфологічну оцінку. Подальше відмивання ембріонів від кріопротектора проводять за нижче приведеною схемою поміщаючи їх по чергово в розчини кріопротектора в порядку зменшення концентрації.

Таблиця 9

**Схема відмивання ембріонів від кріопротектора  
після відтаювання**

Порядковий номер розчину	Гліцерин		ДМСО	
	Концентрація %	Витримка в хв..	Концентрація /моляр/	Витримка в хв.
1	8,3	10	1,5	5
2	6,7	10	1,25	5
2	5,0	10	1,0	5
4	3,3	10	0,75	5
5	1,7	10	0,5	5
6	-	-	0,25	5

Після вимивання від ДМСО ембріони двохразово по 5 хв. промивають в середовищі ФБС з 20% вмістом сироватки крові теляти.

Ембріони, після закінчення терміну перебування в останньому розчині гліцерину з найбільш слабкою концентрацією, тричі промивають в свіжих порціях середовища ФБС з 20% вмістом сироватки крові теляти, а після цього поміщають в те саме середовище на 15-20 хв.

**Технологія пересадки ембріонів**

Пересадка ембріонів коровам або телицям - реципієнтам проводиться двома методами: хірургічним та не хірургічним.

Хірургічна пересадка ембріонів проводиться після попередньої лапаротомії по білій лінії живота, та через розріз черевної стінки в області



голодної ямки.

Лапаротомія по білій лінії проводиться переважно у телиць, з використанням загального наркозу.

Після проведення розрізу виводять на зовні верхівку рогу матки в яєчнику якого виявили жовте тіло і з допомогою скляної піпетки в яку заправлено ембріон, через отвір зроблений в стінці матки вводять ембріон в порожнину матки, як можна ближче до з'єднання його з яйцепроводом. Піпетку виймають, матку з яєчником опускають в очеревину, а черевну стінку зашивають відповідно до правил хірургії.

При нехірургічному методі пересадки ембріонів реципієнта фіксують в станку, зовніші статеві органи миють теплою водою з милом і обробляють дезинфікуючим розчином. Перед введенням катетера реципієнту проводять епідуральну анестезію 2% розчином новокаїну або парасакральну новокаїнову блокаду тазового нервово сплетіння. За кордоном за 10-15хв. до пересадки реципієнтам вводять внутрішньом'язево матковий релаксант. Наші спостереження показали, що така ін'єкція сильно розслаблює м'язи матки, вона стає дряблою, що ускладнює введення катетера і створює більшу небезпеку для травмування стінки матки.

Вводять ембріон з допомогою металевого катетера вітчизняного або зарубіжного виробництва. В верхню частину катетера заправляють пайєту з ембріоном. Катетер проводять через піхву, шийку в верхівку рогу матки зі сторони якого в яєчнику є жовте тіло. Введення катетера контролюють рукою через пряму кишку. Ембріон виштовхують на слизову матки в верхню її третину.

З метою одержання двійнят реципієнтом можуть бути корови або телиці які осіменені в один час з донорами ембріонів. У таких тварин підсадку ембріона здійснюють в контлатеральний ріг яєчнику з жовтим тілом.

Реципієнтів, яким пересадили ембріони, відокремлюють від

основного стада, забезпечують тварин повноцінною годівлею, активним моціоном, відповідним мікрокліматом, а також спостерігають за проявом статевих циклів.

Подальший результат трансплантації проводять методом ректального дослідження тварин.

### **Нові напрямки біотехнології відтворення**

Великим резервом підвищення ефективності відтворення тварин є більш повне використання наявних у яєчниках овоцитів через запліднення їх поза організмом. В 1981 р. у США та в колишньому Радянському Союзі (Л. К. Ернст зі співробітниками) вдалося успішно запліднити незрілі овоцити великої рогатої худоби і отримати перших телят.

Метод багатообіцяючий і якщо в медицині його використовують сьогодні результативно, то цього не можна сказати про тваринництво.

Ооцити для запліднення поза організмом можна брати від телиць, корів, та навіть телят. Досліджуючи яєчники двох корів чорної японської породи виявили у першої корови 86 182 фолікули, з них 82 572 (95,8 %) були первинними, 2 530 (2,9 %) - примордіальними, 837 (1,0 %) - вторинними і 243 (0,3 %) - порожнинними. У другій корови виявлено 68 156 фолікулів, співвідношення яких було, відповідно, 62 990 (92,4 %), 4 058 (6,0 %), 833 (1,2 %) і 275 (0,4 %).

У яєчниках пренатальних плодів виявляли від 75 000 до 300 000 ооцитів, кількість яких з віком зменшується.

В яєчниках 5 денних телят уже виявляли фолікули діаметром 5 мм. У 7-місячних телят виявляли біля 50 фолікулів . Вчені вважають, що використання ооцитів плодів та статеві незрілих телят для запліднення *in vitro* є засобом значного генетичного прискорення процесу відтворення.

До методик полегшення контакту спермія з яйцеклітиною належать:

1. Часткове розрихлення прозорої оболонки за допомогою ензимів трипсину чи пронази, або ж видалення оболонки.

2. Порухення цілості прозорої оболонки за допомогою мікроголки чи лазера, або ж розрихлення її цівкою розчину низької кислотності (ФБС чи розчин Тіроде з рН 2,5).

3. Ін'єкції капацизованого спермія чи декількох сперміїв під прозору оболонку.

4. Ін'єкції спермія до цитоплазми ооциту. Для цього можуть бути використані будь-які спермії, в тому числі нерухомі, мертві, морфологічно змінені, окремі голівки сперміїв.

Заслуговує уваги ідея стимулювання дозрівання фолікулів у статевонедозрілих тварин, що дозволить скоротити інтервал між поколіннями і прискорити ранню оцінку тварин за нащадками.

Успіх запліднення залежить від ступеня зрілості як овоцитів, так і сперміїв. Тому цілком природними є пошуки середовищ для культивування та капацитації сперміїв.

Проводяться дослідження по заплідненню овоцитів великої рогатої худоби сперміями бугая в яйцепровадах інших видів тварин. Науково-технічний прогрес в області трансплантації ембріонів дозволяє в недалекому майбутньому перейти на визначення статі у пересаджуваних ембріонів. Запропоновано це робити за допомогою хромосомного аналізу вирізаного кусочка трофобласта, імунологічної ідентифікації на поверхні ранніх ембріонів специфічних антигенів, визначення статевих хроматинів у інтермітотичних ядрах клітин та ін., на жаль ці методики ще не доведені до практичного застосування у виробничих умовах.

Великі перспективи обіцяє розділення ембріонів на бластомери, які на початкових стадіях дроблення є тотипотентними, тобто кожен з них може розвинути в окремий зародок.

Таким чином, з одного ембріона можна копіювати (клонувати)

ідентичних (монозиготних) близнят і значно підвищити ефективність використання донорів. З цією метою користуються методами мікрохірургічного, ферментативного чи хімічного розділення ембріонів на половинки, четвертинки і т. д.

Практиків тваринництва давно цікавить можливість раннього визначення статі зародків та її регуляції.

Серед наявної інформації найбільше уваги приділяли саме таким напрямкам досліджень.

Найперспективнішим є метод розділення сперміїв на носіїв хромосоми Y та X, яке дозволяє визначати стать вже під час запліднення. Проте чисельні дослідження не дали бажаних наслідків. Окремі методики з цієї серії робіт базувалися на визначенні вмісту ДНК, вміст якої в одному спермії бугая, барана та кнура становить 3,36; 2,93 та 2,60 пг. Хромосома X є більшою і отже містить більше ДНК, ніж хромосома Y, але різниця вмісту ДНК у сперміях X і Y у бугая становить 3,9 %, кнура- 3,7 % і барана - 4,2 %, тобто, надто малі для визначення статі.

Ефективнішою виявилася методика розділення X та Y - сперміїв шляхом центрифугування чи вільно-проточного електрофорезу, використання антитіл проти відповідного типу сперміїв, цитогенетичного аналізу плодових вод, але і вони не готові до практичного використання.

Найперспективнішими на даний час є гормональні дослідження плодових вод, крові плода, а то і крові матері після імплантації зародка. Найкращі результати дає визначення тестостерону, вміст якого в алантоїсній рідині на 100-й день вагітності вище 320 пг/мл є показником чоловічої статі плода, а нижче 240 пг/мл - жіночої статі.

Перспективним є застосування полімеразно-ланцюгової реакції, що передбачає біопсію 5-10 бластомерів 6,5-7-денного зародка і екстрагування з них ДНК. Приживлення таких зародків становило 44 %.

Заслуговує на увагу ультразвукографічний метод, який базується на виявленні статевого виростка у плода, що є зачатком прутня у самців чи

клітора у самиць, і може бути виявленим на 55-й день вагітності.

В Австралії опрацьована комплексна технологія трансплантації ембріонів, що включає швидке (менш, ніж за три години) визначення статі ембріона за допомогою полімеразної ланцюгової реакції-виявлення Y - хромосоми ДНК, характерної лише для чоловічої статі. Запропоновано портативну тест-систему для визначення статі ембріона безпосередньо на фермі.

Важливими слід визнати також дослідження з отримання химерних тварин - організмів, що складаються з генетично різнорідних тварин чи клітин. Практично химери можна отримувати шляхом з'єднання двох ембріонів чи двох половинок ембріонів від різних (зразу чотирьох) батьків.

Проте методика отримання химер дуже складна. Наприклад, при мікрохірургічному отриманні химер розтинають спеціальним мікроножем прозору оболонку, видобувають тонким гачком ембріон, розрізають його на половинки і кожен такий новий половинчастий зародок пересаджують у порожні прозорі оболонки незапліднених яйцеклітин, дегенерованих зародків чи ооцитів і з них формуються бластоцисти в такому ж темпі, як і з неоперованих зародків. Нормальний розвиток зародків порушується лише після поділу їх на 4 і більше частин.

Застосовують також ін'єкції окремих бластомерів у внутрішньоклітинну масу іншого ембріона. Широко застосовуються також хімічні, фізичні, імунобіологічні методи для розчинення прозорої оболонки роз'єднання бластомерів, їх злиття і т. п.

Розділені навпіл ембріони впродовж 30-хвилинної інкубації відновлюють свої біологічні особливості.

Химеричні зародки можуть знайти застосування при отриманні міжвидових важностей або при ін'єкуванні у бластоцисту відповідних генів із стовбурових клітин.

Такі химеричні зародки лабораторних тварин інкубують певний час у відповідному середовищі, а зародки домашніх тварин - у перев'язаному

яйцепроводі вівці характерною рисою химер є унікальність кожної з них.

Прогрес у тваринництві значною мірою визначається ефективністю успадкування господарсько-корисних ознак тварин їх нащадками. Наявні на сьогодні методи дозволяють переносити генетичну інформацію з геному одного організму в інший, змінювати функцію того чи іншого власного гена за рахунок вставок в нього чи біля нього чужого гена і отримувати на цій основі трансгенних тварин. Методами молекулярної генної інженерії можна виділяти з ДНК ген, що визначає бажану ознаку у одного організму, і переносити його в інший.

Можливості генної інженерії значно розширилися після відкриття в 70-х роках мікробних ферментів-рестриктаз, які дозволяють розрізати молекули ДНК в чітко визначеному місці, відділяти необхідні ділянки молекули і штучно з'єднувати гени. Це дозволяє шляхом мікроін'єкцій в зиготи вносити бажану ДНК в геном тварини.

У 1985 р. Хаммер та ін. отримали трансгенних свиней і овець. Але результативність подібних дослідів поки що дуже низька. Так, для одержання одного трансгенного ягняти потрібно було отримати раніше 1 032 ін'єктовані зиготи, а для одержання 2-х трансгенних поросят - 2 035 ін'єктованих зигот.

Увагу дослідників останнім часом привертає тема клонування організмів. Донорами клонів можуть бути ембріони. При звичайних способах розділення ембріонів можна отримати 2-4 дентичних теляти, а застосовуючи методику виділення бластомерів з ембріонів кожен бластомер може дати початок одному з монозиготних різноманітностей. Це може стати методом швидкого розмноження генетично цінного матеріалу. Вважають, що всі бластомери з 8-18-клітинного ембріона і більшість з 32-клітинних придатні для клонування. Якщо прийняти 20 %-ну ефективність методу, то з 32-клітинного зародка можна отримати 6 ідентичних клонів, при використанні яких в якості донорів можна отримати 36 ідентичних зародків.

Одним з варіантів мікроін'єкції може бути введення очищеного

специфічного фрагменту ДНК (гену) у пронуклеус одноклітинного зародка. Такі мікрооперації проводилися у Польщі. Експериментатори вводили фрагменти ДНК гормону росту в ядра незрілих ооцитів та зигот великої рогатої худоби. Найвищий процент ембріонів отримано на стадії бластоцисти (48-63 %) при ін'єкціях двоклітинних зародків та інкубації їх у присутності моношару в середовищі Менезо В2.

### **Питання для самоконтролю**

1. Дайте визначення поняття «трансплантація ембріонів».
2. Які вимоги пред'являють до тварин при відборі їх на донорів та реципієнтів ембріонів.
3. Які знаєте методи викликання супервуляції у донорів, чим вони відрізняються?
4. Як добиваються синхронізації охоти у донорів і реципієнтів? Для чого це роблять?
5. Якими методами користуються для вимивання ембріонів?
6. У чому полягає методика не хірургічного вимивання ембріонів?
7. Охарактеризуйте ранні стадії розвитку ембріона.
8. Як проводять оцінку вимитих ембріонів?
9. Охарактеризуйте методику короткочасного зберігання ембріонів.
10. Дайте характеристику не хірургічного пересаджування ембріонів.

