

VITRIFICATION AS A STAGE IN HORSE EMBRYO TRANSFER TECHNOLOGY. L. Lebedeva, N. Sidorova

To develop a new method of cryoconservation of 8 days old horse blastocysts it was approbated the vitrification method using milk-yolk medium (MYM) and dimethylsulphoxide (DMSO) as a cryoprotector. Culture and transfer of vitrified embryos to recipient mares had no positive results.

УДК 591.3:636.2

Л.В. МАДІСОН*

Національний аграрний університет

Є.Є. ЗАБЛУДОВСЬКИЙ**

Інститут розведення і генетики тварин УААН

**РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ
ЕМБРІОНІВ І ТРИВАЛІСТЬ ЕМБРІОНАЛЬНОГО
РОЗВИТКУ ТЕЛЯТ-ЕМБРІОТРАНСПЛАНТАТІВ
ПОРОДИ АБЕРДИН-АНГУС**

На прикладі телят-ембріотрансплантатів породи абердин-ангус показано, що найбільшу частку мінливості ознаки тривалості ембріонального періоду визначають умови зовнішнього середовища, які опосередковані організмом реципієнта. Встановлено, що порода реципієнта незначною мірою впливала на приживлюваність ембріонів.

Трансплантація ембріонів, тривалість ембріогенезу, приживлюваність, реципієнт, велика рогата худоба

На сьогодні немає єдиної думки щодо співвідношення внеску спадкових і неспадкових чинників у мінливість ознаки тривалості

* Науковий консультант — доктор сільськогосподарських наук В.І. Шеремета.

** Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук Б.Є. Подоба.

© Л.В. Мадісон, Є.Є. Заблудовський, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.

ембріогенезу тварин [3]. За висловлюванням О.В. Квасницького та його співавторів (1988), неоціненним інструментом у руках експериментатора при визначенні частки впливу генотипу і середовища у формування фенотипу став метод трансплантації ембріонів [5]. Використання даного підходу для дослідження закономірностей мінливості тривалості ембріонального розвитку відкриває можливість диференційованого вивчення впливу генотипу плода на прояв даної ознаки незалежно від безпосереднього впливу інших факторів. Цьому питанню було присвячено низку наукових робіт закордонних і вітчизняних дослідників, проте одержані нами результати є суперечливими і недостатніми для остаточного розв'язання проблеми.

Метою даної роботи було дослідити реалізацію генетичної інформації щодо тривалості періоду ембріонального розвитку у телят-ембріотрансплантатів (телят-ЕТ), яких одержали з генетично однорідної групи ембріонів, але в різних агроєкологічних умовах, а також вивчити вплив окремих факторів на ефективність ембріопересаджень.

Матеріал і методика досліджень. Використовували ембріони породи абердин-ангус селекції США і виробництва Державного сільськогосподарського підприємства «Головний селекційний центр України» від 145 корів-донорів і 4 бугаїв-плідників: Тревелера 71 (n=884), Покетса 0045 (n=479), Тревелера 0164 (n=417), Каміла 11690026 (n=89). Реципієнтами були телиці парувального віку чорно-рябої, червоно-рябої, симентальської, червоної степової худоби та помісі симентальської із голштинською ($1/2Г \times 1/2С$) у 11 господарствах з 8 областей України.

Тривалість ембріогенезу розраховували за даними одержання 460 телят-ЕТ; обчислювали за різницею між датою народження трансплантата і датою проведення ембріопересадження, проводячи корекцію шляхом додавання показника, що відображає цикл корів-донорів на дату вимивання ембріонів у днях. Не зважаючи на достовірність вихідного матеріалу, з метою зменшення похибки при проведенні статистичної обробки використовували дані в межах $M \pm 3\sigma$, що відповідає діапазону нормального розподілу для досліджуваної ознаки.

Частку мінливості, зумовлену впливом врахованих факторів (η^2_x), знаходили за результатами однофакторного дисперсійного аналізу. Вірогідність різниці середніх показників визначали за коефіцієнтом Фішера (F). Біометричну обробку даних виконували за допомогою програмного забезпечення MS Excel'2003.

Результати досліджень. Установлено, що порода реципієнтів впливала незначною мірою на приживлюваність ембріонів – тільність становила 49–59%. Телиці-реципієнти симентальської породи порівняно з іншими породними групами виявились істотно гіршими із збереженням приплоду – втрати сягали близько 16% (табл. 1).

1. Вплив породи реципієнта на приживлюваність ембріонів

Показник	Червоно-ряба	Чорно-ряба	Симентальська	Червона степова	$\frac{1}{2}\Gamma \times \frac{1}{2}\text{С}$	Усього
Проведено пересаджень	79	1020	37	393	226	1755
Кількість тільних, гол.	39	550	19	233	116	957
Приживлюваність, %	49,4	53,9	51,4	59,3	51,3	54,5
Втрати: гол.	2	40	3	10	6	61
%	5,1	7,3	15,8	4,3	5,2	6,4

Слід відмітити, що пори року при організації пересаджування вирішального значення не мають (табл. 2). Досвід показав, що рівень приживлюваності в господарствах визначається не стільки сезоном року, скільки забезпеченням телиць повноцінними кормами, особливо у період синхронізації охоти, трансплантації ембріонів і перших місяців тільності [1, 2].

2. Вплив пори року на приживлюваність ембріонів

Показник	Місяці року											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Проведено пересаджень	128	275	108	261	206	210	113	0	0	144	270	54
Кількість тільних, гол.	63	136	66	131	126	129	74	0	0	79	132	29
Приживлюваність, %	49,2	49,5	61,1	50,2	61,2	61,4	65,5	0	0	54,9	40,9	53,7

Середня тривалість ембріогенезу телят-ЕТ породи абердин-ангус становила 282 дні ($281,6 \pm 0,25$; $n=452$; $lim=268-302$), що відповідає ustalеному середньому показникові для породи абердин-ангус північноамериканської селекції [7].

У літературі зустрічаються відомості про факт подовження, а іноді й скорочення тривалості внутріутробного розвитку телят-трансплантатів, одержаних *in vivo*, порівняно із одержаними шляхом штучного осіменіння [4, 6, 8]. Проте специфіка наявного у нас матеріалу не дає змоги нам ні спростувати, ані підтвердити ці дані.

Нами не встановлено впливу породності реципієнта на тривалість ембріонального розвитку телят-ЕТ ($\eta^2_x=1,5\%$; $P<0,90$), проте дослідженнями за належністю реципієнтів до певного стада (господарства) помічено істотно відмінності (табл. 3) із силою впливу фактора господарства $12,9\%$ ($P>0,999$).

3. Тривалість ембріонального розвитку телят-трансплантатів, народжених у різних господарствах

Господарство (область)	Тривалість ембріогенезу				
	n	M \pm m	Cv	lim	інтервал
«Україна» (Волинська обл.)	23	277,5 \pm 0,96	1,7	268-286	18
СЦ «Авангард» (Чернігівська обл.)	20	279,1 \pm 0,70	1,1	272-285	13
«Ковельське» (Волинська обл.)	39	279,4 \pm 0,65	1,5	270-288	18
«В.Олександрівка» (Київська обл.)	21	279,7 \pm 0,70	1,2	274-285	11
СЦ «Росія» (Житомирська обл.)	17	280,2 \pm 1,10	1,6	272-287	15
«Прут-Генетик» (Івано-Франківська обл.)	33	280,5 \pm 0,79	1,6	273-290	17
ПЗ «Бортничі» (Київська обл.)	11	280,7 \pm 1,52	1,8	275-290	15
ім. Щорса (Київська обл.)	100	281,9 \pm 0,58	2,1	271-295	24
«Роздольне» (Кіровоградська обл.)	115	282,9 \pm 0,40	1,5	273-295	22
«Зоря» (Полтавська обл.)	56	283,3 \pm 0,91	2,4	268-302	34
«Привільне» (Рівненська обл.)	17	286,7 \pm 1,44	2,1	273-298	25

У наших попередніх дослідженнях, проведених на одержаному від штучного осіменіння поголів'ї великої рогатої худоби, ми жодного разу не спостерігали таких значних коливань тривалості ембріогенезу у тварин однієї породи залежно від їхньої стадної належності, як це відзначено нами на даному матеріалі.

Подальше вивчення мінливості ознаки тривалості ембріонального періоду телят-ЕТ дало змогу встановити значні відхилення, пов'язані із впливом фактора господарства, також і у генетично більш однорідних, популяційно диференційованих вибірках напівсисбів (табл. 4). Частка мінливості, зумовлена впливом врахованого фактора, коливається у діапазоні від 1,5% у потомстві плідника Каміла 11690026 до 25,7% ($P > 0,999$) у бугая Traveler 71.

4. Вплив бугая та умов господарства на тривалість ембріогенезу телят-ембріотрансплантатів

Середня тривалість ембріогенезу в потомстві окремих плідників			Тривалість ембріогенезу при розподілі за господарствами			
Бугай	n	M±m	Господарство	n	M±m	Cv
MR High Pockets 0045	98	281,0±0,55	«Прут-Генетик»	15	277,5±0,93	1,3
			ПЗ «Бортничі»	8	278,2±1,03	1,1
			«В.Олександрівка»	21	279,7±0,70	1,2
			«Ковельське»	6	281,7±0,61	0,5
			ім. Щорса	40	281,8±1,12	2,5
			«Роздольне»	6	282,7±1,28	1,1
CSU Aggie Traveler 0164	68	281,8±0,67	ім. Щорса	31	281,3±1,02	2,0
			«Роздольне»	12	286,8±1,27	1,5
GDAR Traveler 71	213	281,2±0,32	«Україна»	19	277,7±1,13	1,8
			«Ковельське»	26	278,3±0,81	1,5
			«Зоря»	6	278,4±1,95	1,7
			СЦ «Авангард»	16	279,4±0,73	1,0
			СЦ «Росія»	10	280,9±1,42	1,6
			ім. Щорса	24	282,0±0,75	1,3
			«Роздольне»	97	282,5±0,42	1,5
«Прут-Генетик»	14	283,6±0,95	1,3			
Каміл 11690026	39	281,9±0,96	«Зоря»	32	281,5±1,07	2,2
			«Привільне»	7	283,4±2,29	2,1

Дана тенденція виявилась характерною і для повних сибсів. Так, наприклад, у ембріотрансплантатів, одержаних з ембріонів від корови-донора Basin Joy 7390 та плідника Traveler 71, але пересаджених реципієнтам у двох різних господарствах, тривалість ембріонального періоду становила 280,0 днів у «Роздольному» Кіровоградської області та 274,9 — в «Україні» Волинської області ($P > 0,90$). Частка впливу фактора господарства у цьому окремому випадку досягла 29%. Нами аналізувались й інші можливі причини підвищення рівня мінливості у народжених у різних господарствах телят-ЕТ, проте загальний фактор умов господарства лишився пріоритетним.

Установлені відмінності щодо тривалості ембріогенезу тварин-трансплантатів при розподілі їх за місцем проведення пересадження пояснюються нами не стільки генетичними особливостями реципієнтів тієї чи іншої популяції, скільки опосередкованим через реципієнта впливом умов господарства на розвиток ембріона, а також надзвичайною чутливістю пересаджених ембріонів до умов оточуючого середовища. Цією чутливістю, що, ймовірно, зумовлена біотехнологічним втручанням у процес ембріонального розвитку організму, можна пояснити суттєве зростання загального рівня мінливості у телят-трансплантатів. Місце ж, власне, особливостей біотехнологічного процесу у варіабельності досліджуваної ознаки є предметом подальшого вивчення.

Висновки. 1. Установлено, що порода реципієнтів незначною мірою впливала на приживлюваність ембріонів.

2. Доведено: одним із визначальних факторів мінливості ознаки тривалості ембріонального розвитку генетично однорідної групи телят-ембріотрансплантатів є вплив умов зовнішнього середовища, який реалізовується через реципієнта.

3. Для організації успішних пересаджень (одержання телят-ембріотрансплантатів) головне значення має не стільки сезон року, скільки повноцінна годівля й умови утримання телиць-реципієнтів.

1. *Заблудовський Є.Є.* Мінливість тривалості ембріогенезу у свійських тварин // Вісн. аграр. науки. — 2004. — № 4. — С. 74–77.

2. *Заблудовський Є.Є., Довганюк О.П.* Дослідження тривалості ембріогенезу телят-ембріотрансплантатів племзаводу «Червоний велетень» // *Наук.-техн. бюл. ІТ УААН.* — 2005. — № 90. — С. 136–140.

3. *К итогам* пересадок эмбрионов мясных пород скота из США в хозяйствах Украины / *И.С. Воленко, В.В. Мадисон, Л.В. Мадисон и др.* // *Вісн. аграр. науки.* — 1995. — № 6. — С. 47–56.

4. *К итогам* пересадок эмбрионов мясных пород скота из США в хозяйствах Украины (окончание) / *И.С. Воленко, В.В. Мадисон, Л.В. Мадисон и др.* // *Вісн. аграр. науки.* — 1995. — № 8. — С. 62–73.

5. *Квасницкий А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г.* Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. — К.: Урожай, 1988. — 264 с.

6. *Assessment of estrus detection by visual observation and electronic detection methods and characterization of factors associated with estrus and pregnancy in beef heifers* / *D.O. Rae, P.J. Chenoweth., M.A. Giangreco et al.* // *Theriogenology.* — 1999. — Vol. 51, Is. 6. — P. 1121–1132.

7. *King K.K., Seidel G.E., Elsdon R.P.* Bovine embryo transfer pregnancies. II. Lengths of gestation // *J. Anim. Sci.* — 1985. — Vol. 61, Is.4. — P. 758–762.

8. *Yang B.S., Im G.S., Park S.J.* Characteristics of Korean native, Hanwoo, calves produced by transfer of in vitro produced embryos // *Anim. Reprod. Sci.* — 2001. — Vol. 67, Is. 3–4. — P. 153–158.

РЕЗУЛЬТАТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТЬ ЭМБРИОНАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ТЕЛЯТ-ЭМБРИОТРАНСПЛАНТАТОВ ПОРОДЫ АБЕРДИН-АНГУС.
Л.В. Мадисон, Е.Е. Заблудовский

На примере развития телят-эмбриотрансплантатов породы абердин-ангус показано, что наибольшую долю изменчивости признака продолжительности эмбрионального развития определяют условия внешней среды, опосредованные организмом реципиента. Установлено, что порода реципиента в незначительной степени влияет на приживляемость эмбрионов.

EMBRYO TRANSFER EFFICIENCY AND GESTATION LENGTH IN ANGUS ET CALVES. *L.V. Madison, Y.Y. Zabudovsky*

The largest share of gestation length variability in angus ET calves was determined by environmental conditions through the mediation of organism of

recipients in individual farms. Recipient's breed insignificantly influenced on calving rates.

УДК 636.22/28:57.08

А. В. МАДІЧ

Інститут біології тварин УААН

РЕГУЛЯТОРНІ МЕХАНІЗМИ РАНЬОГО ЕМБРІОНАЛЬНОГО РОЗВИТКУ

*Узагальнено літературні дані та результати власних досліджень про регуляторні механізми раннього ембріонального розвитку тварин. Показано, що без розуміння складних біологічних процесів оо- та ембріогенезу, внутрішніх для системи ембріон-материнський організм факторів не можна створити загальні моделі (теорії) їхнього формування, а отже, й розробити сучасні біотехнології для управління розвитком і підтримки оптимального функціонування біологічних об'єктів *in vivo* та *in vitro*.*

Ембріональний розвиток, клітинна інженерія, ооцити, ембріони

Критичні періоди ембріонального розвитку *in vivo* та *in vitro*.

Використання методів клітинної інженерії довели існування в доімплантаційних ембріонах тварин значних регуляторних здібностей. До них відносять морфологічний потенціал окремих бластомерів до подальшого розвитку, здатність частково дегенерованих ембріонів або їхніх половинок поновлювати свою цілісність, інтегрувати додаткові клітини, секретувати специфічні молекули білкової природи тощо. Неправильне або недостатнє харчування матері, різкі температурні зміни, нестача кисню, зміна рН оточуючого ембріон середовища, хворобливі агенти — далеко неповний перелік факторів, які можуть викликати дефекти морфогенезу і загибель ембріонів *in vivo*. Із

© А.В. Мадіч, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.