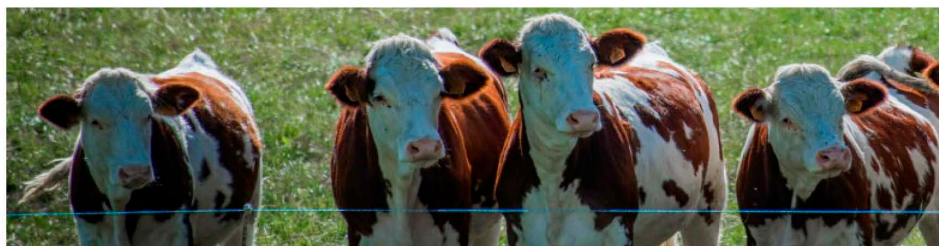


**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН ІМЕНІ М.В.ЗУБЦЯ**

ФОРМУВАННЯ ГРУПИ КОРІВ-ДОНОРІВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ



Чубинське, 2022

**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН ІМЕНІ М.В.ЗУБЦЯ**

**ФОРМУВАННЯ ГРУПИ КОРІВ-ДОНОРІВ ДЛЯ
ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ**

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Чубинське, 2022

Методичні рекомендації розробили:

С. І. Ковтун, доктор с.-г. наук, професор, академік НААН;
О. В. Щербак, кандидат с.-г. наук, ст. наук. співробітник;
С. Ю. Демчук, кандидат с.-г. наук, ст. наук. співробітник;
П. А. Троцький, кандидат с.-г. наук, ст. наук. співробітник
Г. С. Шарапа, кандидат біол. наук, ст. наук. співробітник;
(Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН).

Методичні рекомендації розглянуто і схвалено вченою радою Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН (протокол № 11 від 03.11.2022 року).

Формування групи корів-донорів для трансплантації ембріонів :

Ф 79 метод. рек. / *С. І. Ковтун, О. В. Щербак, С. Ю. Демчук, П. А. Троцький, Г. С. Шарапа*. Чубинське, 2022. 28 с.

У рекомендаціях узагальнено методичні підходи щодо біотехнологічних та лабораторних методів, спрямованих на відтворювальну здатність майбутніх корів-донорів, фізіологічного стану слизової оболонки матки та контролю за перебігом інволюції матки, діагностики прихованих ендометритів та функціональної активності яєчників. Досліджено формування групи корів-донорів для трансплантації ембріонів української червоно-рябої породи великої рогатої худоби, отримано високий вихід придатних для трансплантації ембріонів які були трансплантовані реципієнтам і отримано теличок-трансплантантів.

Рекомендації розраховані на спеціалістів з біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин, науковців, викладачів, студентів і аспірантів закладів вищої освіти біологічного й аграрного профілів, а також для зооветеринарних спеціалістів, операторів штучного осіменіння та трансплантації ембріонів великої рогатої худоби.

Рецензенти:

Войтенко Світлана Леонідівна – доктор с.-г. наук, професор, завідувач відділу інтелектуальної власності, маркетингу інновацій та аспірантури Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН.

Копилов Кирило В'ячеславович – доктор с.-г. наук, професор, головний науковий співробітник відділу генетики та біотехнології тварин Інституту розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН.

УДК 636.2.082.4:57.089.3:591.3

© Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН, 2022 р.

ЗМІСТ

	Стор
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП.....	5
1. СТАН ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА ЧИННИКИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА ЇЇ РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ	7
2. КОНТРОЛЬ ЗА ПЕРЕБІГОМ ОТЕЛЕНЬ.....	9
3. ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЗА ПЕРЕБІГОМ ІНВОЛЮЦІЇ МАТКИ.....	11
4. ДІАГНОСТИКА ПРИХОВАНОГО ЕНДОМЕТРИТУ.....	13
5. ДІАГНОСТИКА ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЯЄЧНИКІВ.....	14
6. ВІДБІР КОРІВ-ДОНОРІВ ЕМБРІОНІВ.....	16
7. ОДЕРЖАННЯ ТА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ЕМБРІОНІВ ДЛЯ ЗБІЛЬШЕННЯ ЧИСЕЛЬНОСТІ ПОГОЛІВ'Я.....	17
ВИСНОВКИ І ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	24
ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	25

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ВРХ	велика рогата худоба
г	грам
ГСЖК	гонадотропін сироватки жеребих кобил
мл	мілілітр
нг/мл	нанограм на мілілітр
см	сантиметр
тис.	тисяча
ФСГ	фолікулостимулюючий гормон
шт.	штука

ВСТУП

Низька природна плодючість великої рогатої худоби, мала кількість нащадків обмежують можливості створення нових порід та стад високопродуктивних корів. Основним методом удосконалення існуючих порід великої рогатої худоби є штучне осіменіння корів з використанням спермопродукції високопродуктивних бугаїв. Прискорення процесу тиражування корів з високими параметрами продуктивності забезпечує біотехнологічний метод трансплантації ембріонів. Науковці стверджують: отримати племінне стадо за рік і суттєво покращити продуктивність худоби можливо завдяки застосуванню трансплантації ембріонів великої рогатої худоби. Нова система селекційно-племінної роботи, що ґрунтується на біотехнологічних методах розмноження тварин, дає змогу максимально використовувати потенційні резерви репродуктивної функції, що не реалізуються за природного розмноження [6, 10, 11].

Із запровадженням у практику тваринництва методу штучного осіменіння стало можливим осіменяти за рік спермою одного бугая близько 100 тисяч корів і телиць. Однак за все своє життя корова народжує не більше 6–10 телят, і з них лише половина телички. Метод трансплантації ембріонів значно розширює ці рамки, дозволяючи одержувати від однієї високопродуктивної корови 100 і більше телят впродовж року.

Трансплантація ембріонів – це біотехнологічний метод відтворення шляхом пересаджування ембріонів, отриманих від генетично високоцінних корів-донорів менш цінним гінекологічно здоровим телицям-реципієнтам. Він включає цілий комплекс клінічних, біотехнологічних та лабораторних методів, спрямованих на викликання суперовуляції у донорів, їх осіменіння, вимивання у них ембріонів та пересаджування їх реципієнтам, одержання від них телят-трансплантантів, які поєднують у собі високі племінні та продуктивні якості донора та плідника [2, 23, 25].

Ефективне відтворення маточного поголів'я є базовою складовою рентабельності молочного скотарства. За останні роки в молочному скотарстві відзначається суттєвий ріст продуктивності дійних стад, однак показники відтворення мають сталу тенденцію до зниження.

Ефективність застосування методу трансплантації ембріонів значною мірою залежить від клінічного та фізіологічного стану корів,

їх здатності реагувати на екзогенні гонадотропіни та виділяти достатню кількість якісних зародків. Дослідженість анатомо-фізіологічних особливостей репродуктивної функції корів і телиць є фундаментальною засадою управління відтворенням стада і, врешті-решт, підвищення рентабельності всієї галузі скотарства [5, 7, 16].

На сучасному фоні суттєвих досягнень трансплантації у світі ембріонів великої рогатої худоби, як складової частини біотехнології репродукції, залишаються невирішеними питання вдосконалення методик добору тварин з технологічно високими та стабільними властивостями до продукування ранніх якісних ембріонів.

Сьогодні, не зважаючи на значні досягнення репродуктивних біотехнологій великої рогатої худоби, постає гостра проблема постійного зниження фертильності маточного поголів'я в усіх країнах з розвиненим молочним скотарством.

Найбільшого практичного використання серед біотехнологічних методів, пов'язаних з маніпуляціями ембріонів, набула їх трансплантація телицям-реципієнтам. Стимувальними чинниками інтенсифікації методу є недостатня кількість морфологічно придатних до трансплантації ембріонів, незначна або відсутня реакція суперовуляції у корів-донорів під час її стимуляції екзогенними гонадотропними гормонами. Тому удосконалення способів добору корів, у якості донорів ембріонів є актуальною, оскільки дає змогу підвищити економічну та селекційну ефективність методу трансплантації ембріонів [13, 14, 20, 24].

1. СТАН ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ТА ЧИННИКИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА РЕЗУЛЬТАТИВНІСТЬ ТРАНСФЕРУ ЕМБРІОНІВ

Цільовими параметрами стратегії розвитку тваринництва України до 2030 року визначено нарощування чисельності корів до 2,6 млн. голів та істотне підвищення їх продуктивності до 7 600 кг у сільськогосподарських підприємствах («Тваринництво України: стан, проблеми, шляхи розвитку (1991 – 2017 – 2030 рр.)», 2017). Для досягнення таких показників, в тому числі завдяки власному відтворенню генетично цінних корів, трансплантації ембріонів необхідно надати перевагу та використовувати як один із шляхів збільшення високопродуктивного поголів'я.

Зважаючи на значну світову тенденцію поширення біотехнології трансплантації ембріонів великої рогатої худоби в країнах з розвинутим тваринництвом за останні роки, актуальність проблеми вивчення чинників, що впливають на результативність методики нехірургічного трансферу ембріонів реципієнтам суттєво зростає.

Обсяги виробництва ембріонів великої рогатої худоби у світі щорічно сягають у Європі – 140 тис. шт., Японія – 112 тис. шт., США – 255 тис. шт., Канада – 65 тис. шт., Австралія – 7 тис. шт., Африка – 4 тис. шт. Продаж ембріонів у світі на рівні 25 тис. шт. у рік. Найбільш вдалим прикладом державного підходу щодо реформування молочного скотарства є Бразилія. На зростання частки молочних корів голштинської породи у 200-мільйонному поголів'ї великої рогатої худоби переважно м'ясного напрямку, починаючи з 2005 року спрямована діяльність з ембріотрансплантації фірми «In vitro Brazil». Наразі фірма налічує 37 лабораторій, з яких 17 є філіалами за межами країни. Із щорічного одержання в останні роки 380 тис. ембріонів 92% сформовані поза організмом і за собівартістю дешевші наполовину, порівняно із вилученими від корів-донорів. Імпорт нетелей вважається нераціональним і занадто дорогим для країни, яка бореться з бідністю, створює робочі місця та розвиває свою науку.

У цих країнах в зв'язку з розвитком мобільного біотехнологічного сервісу трансплантація ембріонів від кращих корів-донорів потрібної породи стала доступною процедурою для стада кожного фермера, чого поки, що не можна сказати щодо країн пострадянського простору.

Під час відбору донорів доцільно проводити разову індукцію поліовуляції у потенційних донорів з метою з'ясування реакції-відповіді яєчників на введення гонадотропіну, після чого робиться остаточний висновок щодо придатності тварини для використання в технології трансплантації.

Нині добір корів проводять на підґрунті прогнозування результатів суперовуляції після гормональної обробки донорів. Яєчники корів, як ключові органи репродуктивної системи, вивчають уже упродовж багатьох років. Одні автори вважають функцію парних гонад симетричною та взаємозамінною, інші наводять результати щодо анатомічної та морфологічної асиметрії гонад великої рогатої худоби, але дані різних джерел досить суперечливі [17, 19, 21].

Важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патології яєчників у корів з метою підвищення ефективності відбору потенційних донорів ембріонів є внутрішньошкірне введення стероїдних гормонів (прогестерону, естрадіолу-дипропіонату і фолікуліну).

Розроблено значну кількість різних способів визначення морфо-функціонального стану яєчників, що дає змогу прогнозувати реакцію тварин на введення гонадотропних гормонів. Так, добір донорів з концентрацією естрадіолу у крові на 6-й день статевого циклу на рівні 2,3 нг/мл і подальше його зниження на 7-й день у 1,5–4,5 рази є гарантією позитивних результатів суперовуляції.

У результаті досліджень встановлено, що корови-донори, у яких перед синхронізацією статевої охоти верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника на 0,5 см і більше, краще реагують на ГСЖК і в такому випадку від них можна отримати на 26 – 36% більше придатних до пересаджування ембріонів.

Запропоновані способи добору корів у донори потребують врахування функціонального стану яєчників, який оцінюють за динамікою статевих гормонів та алергічною реакцією на їх внутрішньошкірне введення. Ці трудомісткі способи потребують додаткових затрат та використання лабораторного обладнання [8].

Наразі не існує надійної методики відбору корів для ембріодонації, оскільки даний показник має значну індивідуальну відмінність. Чисельні фактори, що впливають на рівень ембріопродуктивності та якість ембріонів корів-донорів, вивчаються вже упродовж тривалого періоду, проте у корів залишаються доки ще нез'ясованими чисельні біологічні закономірності процесу

фолікуло-, лютео- та ембріогенезу, розуміння яких може сприяти підвищенню результативності репродукції великої рогатої худоби, у т. ч. методами трансплантації ембріонів [3, 9, 15, 18].

2. КОНТРОЛЬ ЗА ПЕРЕБІГОМ ОТЕЛЕНЬ

Відбір майбутніх корів-донорів ембріонів повинен розпочинатися уже з контролю за перебігом отелень. Адже відтворювальна здатність майбутніх корів-донорів в значній мірі залежить від їх перебігу, які у корів відбуваються під час найбільш несприятливих умов із-за непрямой умовної осьової лінії тазу. Крім цього для виведення за межі організму значної маси плоду та навколоплідних вод потребується реалізація багатьох енергетичних резервів організму. Вважається, що чим енергійніше відбувається акт родів, тим рідше виникають ситуації, що загрожують здоров'ю матері й плоду. При цьому потрібний координований перебіг отелень з досягненням у певні періоди необхідних якісних показників: до кінця першої стадії отелень – розкриття шийки матки та установа плоду, потім самостійне розривання плідних оболонок і максимальна скорочувальна діяльність матки. Особливо відповідальними періодами отелень є виведення плоду та посліду. Від їх тривалості багато в чому залежить характер відновлення статевих органів після отелення та подальша відтворна здатність породіллі. Важливо враховувати те, що отелення у корів триває 12–14 годин. Розпочинається воно періодичними занепокоєннями породіллі. Вони часто обмахуються хвостом, переступають з ноги на ногу, оглядаються. Корови лягають на бік, витягують ноги та голову. В результаті перейм і потуг з'являється плідний міхур, який через деякий час розривається, після цього корова відпочиває приблизно 15–20 хвилин. Після появи голови теляти породіллям інколи надають допомогу (підтягують теля мотузками, накладеними на ноги). Допомогати корові можна лише під час потуг. Потрібно пам'ятати, що виведення плоду у корів може тривати від 15-30 хвилин до 3–4-х годин. В зв'язку з цим ні в якому разі не можна прискорювати отелення передчасною допомогою з насильницьким витягуванням плоду з родових шляхів. Таке некваліфіковане втручання призводить, як правило, до ушкодження родових шляхів та післяродових ускладнень. Надавати допомогу породіллі необхідно тільки тоді, коли процес родів не прогресує впродовж декількох годин після розривання навколоплідного міхура.

Тривалість родів визначається у основному характером та інтенсивністю скорочувальної функції матки в разі повної відповідності розмірів плоду та таза. Закінчується отелення відділенням посліду. У процесі отелення організм породіллі втрачає багато води. Тому для нормалізації водно-сольового балансу корові потрібно дати 1–1,5 відра теплої підсоленої води (50–60 г солі на відро води). Найкращим є проведення отелень в окремих денниках, куди корів переводять за 1-2 дні до ймовірного терміну отелення. Надалі в післяотельний період відбувається значна трансформація структур матки та яєчників, правильний хід якої забезпечує нормальну репродуктивну здатність та придатність до трансплантації ембріонів. Нижче наведено показники інволюції матки за нормального та патологічного перебігів післяродового періоду та лабораторні методи його контролю (табл. 1). У післяотельний період відбувається відновлення функціональної здатності матки та активності яєчників з послідуєчим еструсом. У цей же час від корови

1. Показники інволюції матки у корів

Показники	Перебіг післяродового періоду	
	нормальний	патологічний
Строки виділення лохій	12-16 днів	17 днів і більше
Місцезнаходження матки та її розміри через місяць після отелення	Тазова порожнина	Черевна порожнина
Скорочувальна здатність матки під впливом масажу	Чітко виражена	Відсутня реакція на масаж
Якісна реакція на муко-полісахариди в лохіях та тічковому слизі	Негативна до 7-11 дня після отелення і позитивне далі	Негативна впродовж післяродового процесу
Кількісна оцінка насиченості організму корів естрогенами за каріопікнотичним індексом	Зростання величини каріопікнотичного індексу до 70 % через місяць після отелення	Стабільно низькі (менше 50%) показники каріопікнотичного індексу

отримують велику кількість молока, що, в свою чергу, може супроводжуватися негативним енергетичним балансом. Така сукупність одночасних фізіологічних процесів в організмі самки, у більшості випадків, викликає певну дисфункцію репродуктивної здатності.

3. ЛАБОРАТОРНІ МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЗА ПЕРЕБІГОМ ІНВОЛЮЦІЇ МАТКИ

Реакція яєчників на гормональну обробку та якість ембріонів залежить від фізіологічного стану слизової оболонки матки, який можна контролювати за станом виділень після отелення або під час тічки. Ефективним і простим лабораторним методом є реакція на муцини (мукополісахариди) за І. С. Нагорним. Для її проведення відбирають вміст шийки матки за допомогою полістиролового катетера для ректоцервікального способу осіменіння довжиною 45 см та приєднаного до нього шприца 2 мл.

Пробу переносять у чисту пробірку і додають 2–5 мл однопроцентного розчину оцтової кислоти. Суміш струшують декілька хвилин і залишають відстоюватися на 10 хвилин. Реакцію вважають позитивною, коли в пробірці утворюється згусток, який не руйнується під час струшування, а осаджувана рідина залишається прозорою. Це свідчить про нормальну секреторну функцію слизової оболонки матки.

Коли вміст пробірки розбивається на пластівці, то це вказує на відсутність муцинів. В разі запалення слизової оболонки матки відбувається руйнування білків до поліпептидів або навіть до амінокислот, тобто наявність у тічковому слизі амінокислот є непрямим показником запалення.

Підвищена кількість амінокислот у вмісті матки відбувається не тільки внаслідок посиленого їх синтезу та виділення, а і внаслідок дистрофії епітелію, розкладу тканин. Значна частина амінокислот, абсорбованих муцинами, залишається в захисному шарі слизу, який вкриває ендометрій. Ці амінокислоти згубно діють на сперматозоїди.

Проба на сірковмісні амінокислоти за Г. М. Калиновським виконується так: в пробірку до 4 мл 0,5% розчину оцтовокислого свинцю, струшуючи, додають краплями 20% розчин їдкого натрію до появи білого осаду гідрату окису свинцю та надалі до його розчинення. Потім в пробірку додають 1,5–2,0 мл лохій (рис. 1, 2) суміш нагрівають, не доводячи до кипіння. Позитивною вважають реакцію, коли реагуюча суміш потемніла, як 1% розчин іхтіолу.



Рис. 1. Витікання густих лохій (фото із архіву авторів)

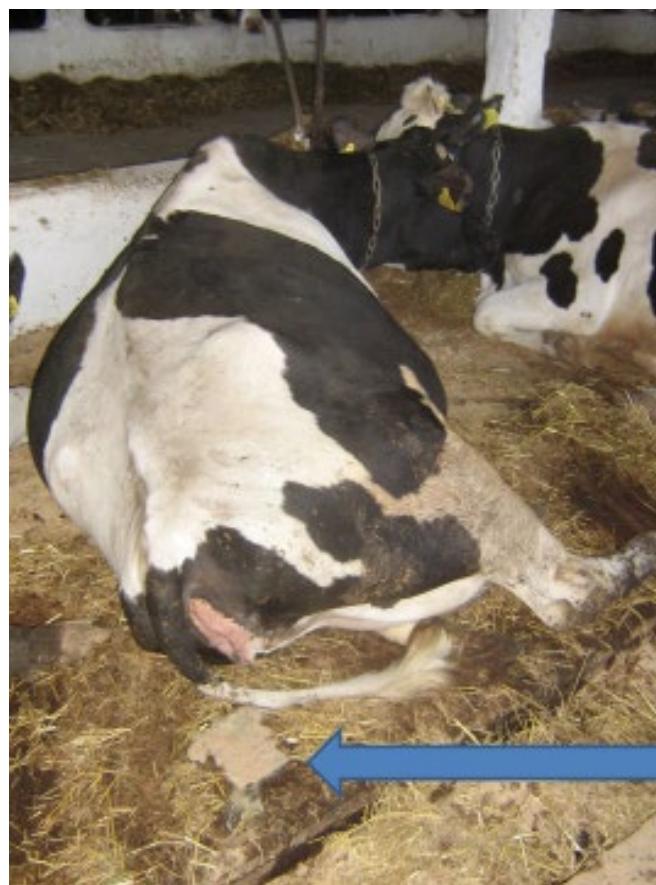


Рис. 2 Витікання лохій з домішками гною (фото із архіву авторів)

4. ДІАГНОСТИКА ПРИХОВАНОГО ЕНДОМЕТРИТУ

Використовувати в якості донорів потрібно тільки клінічно здорових корів або телиць. Але нерідко (до 12–18%) у корів, особливо в першу охоту після отелення, можуть бути приховані ендометрити. Осіменіння таких тварин не закінчується заплідненням. Більше того, це може стати причиною імунологічної неплідності в разі неодноразових осіменінь самки або хронічного ендометриту. Своєчасне виявлення запального процесу в матці, її санація під час охоти або лікування забезпечать швидке відновлення відтворної здатності тварини [1, 4, 22].

Існує декілька способів (клінічних, фізико-хімічних, бактеріологічних) діагностики прихованого ендометриту, але найпростішими для практичного застосування й ефективними є такі:

1. Клінічний спосіб полягає в пальпації стінки рогів матки та візуальній оцінці густоти та прозорості тічкового слизу. В разі наявності прихованого ендометриту роги матки гіпотонічні, слабо реагують на їх пальпацію через пряму кишку, їх стінка потовщена, тістуватої консистенції. Потрібно провести масаж матки та визначити прозорість слизу із рогів матки. В разі запалення він буде мутний, інколи з домішками ексудату.

2. В Інституті розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН розроблено спосіб виявлення субклінічних форм ендометриту реакцією на триптофан – незамінну гетероциклічну амінокислоту, що вивільнюється під час розпаду білків внаслідок запальних процесів. Ця реакція чутлива та проста. Принцип реакції оснований на тому, що сірчана кислота гідролізує сахарозу (полісахарид) до моносахаридів, які, зневоднюючись, перетворюються в оксиметилфурфурол, а останній з триптофаном дає червоне забарвлення. Для постановки реакції на чисте предметне скло або у флакон наносять краплю слизу із матки, додають краплю насиченого розчину сахарози або цукру, перемішують, а через 1–2 хв. вносять 2–3 краплини концентрованої сірчаної кислоти. В разі наявності триптофана як показника розпаду білків, з'являється червоно-фіолетове забарвлення суміші, що вказує на приховане запалення. В разі відсутності продуктів запалення суміш слизу та реактивів залишається безкольоровою або буде злегка жовтуватого кольору. Як модифікацію цього способу можна використовувати паперові фільтри, попередньо насичені розчином цукру та висушені на повітрі за

кімнатної температури. Після цього папір розрізають на смужки шириною 1 см і довжиною 3 см, вміщують в герметично закриті широкогорлі скляні баночки та витримують від 1 до 15 днів за кімнатної температури. Під час дослідження на паперові смужки наносять краплю слизу, а через 1–2 хв. – 2–3 краплини сірчаної кислоти. За наявності триптофану фільтр і його залишки забарвлюються в червоний колір різної інтенсивності. Реакцію проводять за кімнатної температури.

Проби слизу для аналізу потрібно брати із каналу шийки матки або із піхви біля шийки матки за допомогою стерильної полістиролової піпетки, з'єднаної з 10–20 мл шприцом чи пальцями руки в рукавиці. Якщо слизу мало, то потрібно провести масаж матки.

3. Спосіб Ю. М. Попова. Полягає в тому, що в пробірку до 2–3 мл тічкового слизу вносять 2 мл 4%-вого розчину натрію їдкого та нагрівають до кипіння. За наявності запалення суміш після охолодження має лимонно-жовтуватий колір. Якщо ж запалення ендометрію відсутнє, то колір суміші не змінюється.

4. Проба Катеринова. В пробірку наливають 3–4 мл дистильованої води та додають 1 мл цервікального слизу. Суміш кип'ятять 1–2 хвилини. За нормального стану матки рідина залишається прозорою, а в разі субінволюції матки або прихованому ендометриті вона стане мутною з пластівцями.

5. Біологічний спосіб. Оснований на тому, що під час змішування краплі слизу та сперми на предметному склі, під мікроскопом спостерігають швидку загибель і аглютинацію сперматозоїдів, якщо реакція позитивна.

Отже, процес відбору корів для використання в якості донорів ембріонів складається з багатьох компонентів. Для досягнення високих результатів трансплантації ембріонів під час відбору корів-донорів слід враховувати щонайбільше показників, які були вказані вище.

5. ДІАГНОСТИКА ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ ЯЄЧНИКІВ

Заплідненість корів-донорів за їх осіменіння тісно пов'язана з анатомо-функціональним станом яєчників, повноцінністю статевого циклу самок. Г.С. Шарапа вважає, що морфо-фізіологічний стан яєчників корів можна визначити клініко-гінекологічним способом і

прогнозувати перебіг статевих циклу. Через 10–12 днів після отелення яєчники знаходяться в стані відносного функціонального спокою. Вони частіше мають форму овалу або видовжено-сплющеного овалу величиною середньої або малої сливи. Величина одного з яєчників майже завжди більша, ніж іншого. У молодих корів (близько 75%) функціонуючим і більшим за розмірами є правий яєчник. Його консистенція майже однорідна, пружно-еластична, можна знаходити залишки жовтого тіла вагітності. Через 15–25 днів після отелення відбувається збільшення функціонуючого яєчника (4х3х2 см або 3х2х1 см), його поверхня горбиста за рахунок фолікулів різного ступеня розвитку або жовтих тіл. В разі гіпофункції яєчників вони зменшені в розмірах, мають видовжену або плоску форму та поверхню, відсутня еластичність тканини. Г.С. Шарапа та ін. вважають, що найпростішим і досить об'єктивним способом діагностики функціональної активності яєчників є визначення каріопікнотичного індексу піхвових мазків самок під час еструсу, величина якого виражається в процентному співвідношенні кількості епітеліальних клітин слизової оболонки піхви з пікнотичними ядрами (невеликими, порушеними і забарвленими) до числа підрахованих клітин. Принцип цього методу ґрунтується на тому, що під дією естрогенів яєчників підвищується проліферація усіх тканинних структур статевих органів, в тому числі і поверхневого епітеліального шару піхви. При цьому відбуваються морфологічні зміни в ядрах епітеліальних клітин. Чим більше естрогенів і вища їх активність, тим сильніше проявляються проліферативні процеси і тим більше клітин зі зміненими ядрами. Таким чином, з підвищенням естрогенної функції яєчників пропорційно збільшується каріопікнотичний індекс.

Піхвові мазки беруть з верхнього склепіння піхви з допомогою полістиролової піпетки довжиною біля 20 см, попередньо на одному з її кінців терпугом або ножом наносять кілька поперечних канавок і намотують тонкий шар білої гігроскопічної вати або марлі довжиною 1–2 см. Після підготовки зовнішніх статевих органів корови підготовлену піпетку вводять у піхву на глибину 12–15 см, обертаючи її в бік намотування вати, виймають із піхви і роблять мазок на чистому сухому предметному склі. Через 3–5 хв. мазок фарбують 0,5%-ним розчином генціанвіолету або фіолетовим чорнилом. Після висушування за кімнатної температури в мазках під мікроскопом за збільшення в 140–200 разів підраховують підряд 100 епітеліальних клітин, одночасно враховуючи клітини з пікнотичними ядрами

(забарвленими), процентна частка яких і складає величину індексу. В період еструсу (під час осіменіння) повноцінного статевого циклу корови каріопікнотичний індекс становить 48–60%. В разі морфофункціональних порушень яєчників (гіпоплазія, гіпофункція, персистентне жовте тіло, кісти, склеротичні зміни) індекс не перевищує 30–40%. За фізіологічно нормальних умов перебігу статевого циклу величина індексу змінюється у відповідності зі змінами функції яєчників.

Функціональний стан яєчників і їх гормональну активність у корів і телиць можна визначати пробою на вміст глікогену в піхвовому епітелії під час тічки й охоти за глікогеновим індексом. Для цього на предметному склі роблять мазки-відбитки із слизової оболонки присінка піхви та висушують на повітрі. Потім їх фарбують 2–3 хв. розчином Люголя та висушують за кімнатної температури.

В клітинах з глікогеном протоплазма забарвлюється в темно-коричневий, коричневий або темно-жовтий колір. За допомогою мікроскопу підраховують 100 клітин і вираховують процентне відношення забарвлених клітин до загального числа підрахованих. Якщо у корів глікогеновий індекс під час осіменіння у межах 60–80% вони краще запліднюються. Вміст глікогену в піхвовому епітелії збільшується з наближенням овуляції, коли естрогенність організму стає найбільш високою. В разі гіпофункції яєчників і слабких проявах ознак тічки в мазках знаходиться 38–56% забарвлених клітин, переважно світло-коричневого та жовтого кольору.

6. ВІДБІР КОРІВ-ДОНОРІВ ЕМБРІОНІВ

Для відбору корів-донорів ембріонів використовують тільки клінічно здорових тварин, яких попередньо досліджують на патологію статевих органів (матки, яйцепроводів та яєчників). Тварин зі змінами після запалень вказаних органів виключають з програм трансплантації ембріонів. Враховують також легкість отелень. Проміжки між ними в попередніх лактаціях повинні наближатися до 360–380 днів. Використовувати проблемних корів у селекційних планах із застосуванням трансплантації ембріонів недоцільно. Перед зарахуванням корів до групи донорів бажано впевнитися у легкості проникнення інструментів через канал шийки матки. Безпека донорів щодо інфекційних захворювань повинна бути підтверджена ветеринарним свідоцтвом із зазначенням дати досліджень на

туберкульоз, бруцельоз, лейкоз, лептоспіроз та інші в залежності від епізотичної ситуації в регіоні.

Основним критерієм відбору корів-донорів ембріонів є рівень молочної продуктивності за найвищу лактацію (305 днів або вкорочену). Корів-донорів локальних або зникаючих порід відбирають виходячи із задач збереження генетичного різноманіття.

Процедуру відбору корів-донорів доцільно доповнювати дослідженням рівня прогестерону в крові, який повинен перевищувати 2 нг/мл. Оцінити придатність корови до суперовуляції можна за відношенням об'єму жовтого тіла до об'єму яєчника в процентах. За такого відношення менше 30% прогнозована кількість овуляцій становитиме 0–2 шт., 31–40% – 3–9 шт., 41–50% – 10–23 шт. Оскільки дослідити рівень прогестерону непросто, оцінити функціональну активність яєчників можна за рівнем каріопікнотичного індексу піхвових мазків, який опосередковано відображає насиченість організму корів естрогенами.

7. ОДЕРЖАННЯ ТА ТРАНСПЛАНТАЦІЯ ЕМБРІОНІВ ДЛЯ ЗБІЛЬШЕННЯ ЧИСЕЛЬНОСТІ ПОГОЛІВ'Я (результати власних досліджень)

Процес трансплантації ембріонів розпочинається з етапу підготовки, що містить:

1. Визначення наявності племінної худоби з підтвердженням походженням.
2. Благополучний ветеринарно-санітарний стан господарства.
3. Забезпечення худоби повноцінною годівлею.
4. Наявність спеціалістів, що проходили стажування з трансплантації ембріонів.
5. Наявність майданчиків для виявлення корів у стані охоти.
6. Забезпеченість інструментами та препаратами для проведення трансплантації ембріонів.

Під час відбору корів-донорів необхідно керуватись не тільки показниками молочної продуктивності, але враховували тип тварин за комплексом селекційних ознак, легкості отелень, життєздатності приплоду тощо.

Згідно з методикою трансплантації гонадотропні гормони розпочинають вводити коровам з 8-го по 14-й день статевого циклу і лише за умови наявності на одному з яєчників жовтого тіла. Облік днів

статевого циклу проводять від статевої охоти, день якої є нульовим. Тому у групі відібраних корів проводять стимуляцію статевої охоти з метою синхронізації статевих циклів, для чого тваринам уводять аналоги простагландину за умови наявності на яєчнику жовтого тіла.

Першу гормональну обробку п'яти корів української червоно-рябої породи для викликання у них суперовуляції фолікулостимулюючим гормоном (препарат «ФСГ-супер») ми виконували за 4,5-денною схемою. Для штучного осіменіння цих корів використовували сперму двох бугаїв голштинської породи Джорнадо 6108 та Різвий 7970. Осіменіння тварин здійснювали 2 рази подвійною дозою сперми з інтервалом у 12 годин.

Ефективність гормональної обробки значною мірою залежить від фізіологічного стану яєчників, тому проводилась їх пальпаторна діагностика на наявність жовтого тіла.

Ефективність методу трансплантації ембріонів залежить від способу вимивання ембріонів, кваліфікації спеціалістів, умілого використання інструментів, приладів.

Вимивання ембріонів проводили на 7–8 день після першого осіменіння з використанням нехірургічного методу (рис. 3). Одержані ембріони великої рогатої худоби промивали в середовищі Дюльбеко з додаванням 0,075 мг/мл канаміцину сульфату з 20% фетальної сироватки теляти. Контейнери із промивною рідиною відстоювали (20–30 хвилин) і за принципом сифону видаляли верхній шар рідини, залишаючи 70–90 мл з осілими на дно ембріонами, потім під мікроскопом МБС-9 за збільшення у 28 і 56 разів виконували пошук, оцінку та інші маніпуляції з ембріонами.

Для нехірургічної трансплантації ембріонів використовували інструменти й обладнання фірми «Minitube». В паєту набирають свіже поживне середовище (1,0–1,3 см), потім повітря (0,5 см) і далі під контролем мікроскопу – основний об'єм середовища з ембріоном (2–3 см). Після цього засмоктують невелику кількість повітря (0,5 см) та поживне середовище (1,0–1,5 см).

В якості реципієнтів було відібрано 24 телиці, які є менш цінними в племінному відношенні. Телиці-реципієнти мали нормально розвинені та добре функціонуючі органи відтворення, були клінічно здоровими, мінімальний вік телиць – 18 міс., жива маса – не менше 380 кг.



Рис. 3. Вимивання та оцінка ембріонів великої рогатої худоби
(фото із архіву авторів)

Важливою умовою високого приживлення ембріонів є синхронність в прояві еструсу у донора і реципієнта, а також своєчасне та кваліфіковане виявлення тварин в охоті. Найрезультативнішим є синхронний прояв охоти у донора та реципієнта за різницею у часі ± 12 годин.

Статевий цикл телиць-реципієнтів було синхронізовано зі статевим циклом корів-донорів за рахунок введення їм простагландину упродовж 5 днів. Перед початком пересаджування було проведено ректогенітальну пальпацію яєчників у телиць. При цьому оцінювали наявність або відсутність жовтого тіла статевого циклу та фіксували, на якому яєчнику воно сформовано. Також визначали якість жовтого тіла. Тваринам із патологією яєчників ембріони не пересаджували.

Тваринам, які показали позитивну реакцію на дію гормону,

проводили епідуральну анестезію для сакральної анестезії. Для цього ін'єктували 5 мл 2%-го розчину новокаїну.

Діагностику тільності реципієнтів проводили ректальним методом через 2 місяці після пересаджування ембріонів.

Цитогенетичний аналіз непридатних для трансплантації ембріонів виконували після приготування з них препаратів за модифікованим методом А. Тарковського (1966). Препарати фарбували з використанням 2%-го розчину барвника Гімза і аналізували їх під світловим мікроскопом "Carl Zeiss".

Ефективність методу трансплантації значно залежить від способу вилучення ембріонів. Нами було застосовано нехірургічний метод отримання ембріонів через шийку матки за допомогою спеціального обладнання фірми «Minitube». Цей спосіб відносно простий і надійний, дозволяє успішно одержувати ембріони безпосередньо на тваринницькій фермі, використовуючи донора багаторазово майже без зниження його відтворювального потенціалу. Для трансплантації можна використовувати ранні бластоцисти, тому ембріони вимивають через 7–8 діб після першого штучного осіменіння. Саме на цій стадії розвитку найкраще одержувати і пересаджувати ембріони. Крім того, на цій стадії розвитку ембріони добре переносять заморожування-розморожування.

Але на основі морфологічної оцінки ембріонів неможливо зробити остаточний висновок про їх життєздатність. Все залежить від багатьох факторів, зокрема, від їх розвитку в процесі культивування і приживлення в матці телиці-реципієнта.

У наших дослідженнях серед п'яти гормонально оброблених високопродуктивних корів у групу донорів відібрано три (Німфа 9025, Мелодія 3142, Ріка 8607), оскільки лише у них, поряд із позитивною реакцією на суперовуляцію, одержано в середньому 12,7 ембріонів за перше вимивання (табл. 2, рис. 4).

Також високий вихід придатних для трансплантації ембріонів (всього 38 шт.) на рівні 86,8% підтверджує використання їх як донорів. Одержані результати ембріопродуктивності вказаних вище корів узгоджуються з результатами досліджень інших авторів. Хоча у наших дослідженнях наразі лише три корови є ефективними донорами ембріонів, але середня кількість одержаних ембріонів, які є придатними для трансплантації на рівні 11% є досить високою.

2. Ефективність вимивання ембріонів у лактуючих корів за використання препарату «ФСГ-супер»

Показники	Лактуючі корови
Оброблено корів, гол.	5
Реагувало на суперовуляцію, гол. (%)	3 (60,0)
Позитивних вимивань ембріонів, гол. (%)	3 (100,0)
В середньому на одного донора одержано ембріонів, шт., $M \pm m$	$12,7 \pm 4,98$
в тому числі, придатних для трансплантації, стадія розвитку – пізні морули – пізні бластоцисти, шт., $M \pm m$	$11,0 \pm 4,58$
Вихід придатних для трансплантації ембріонів, %	86,8

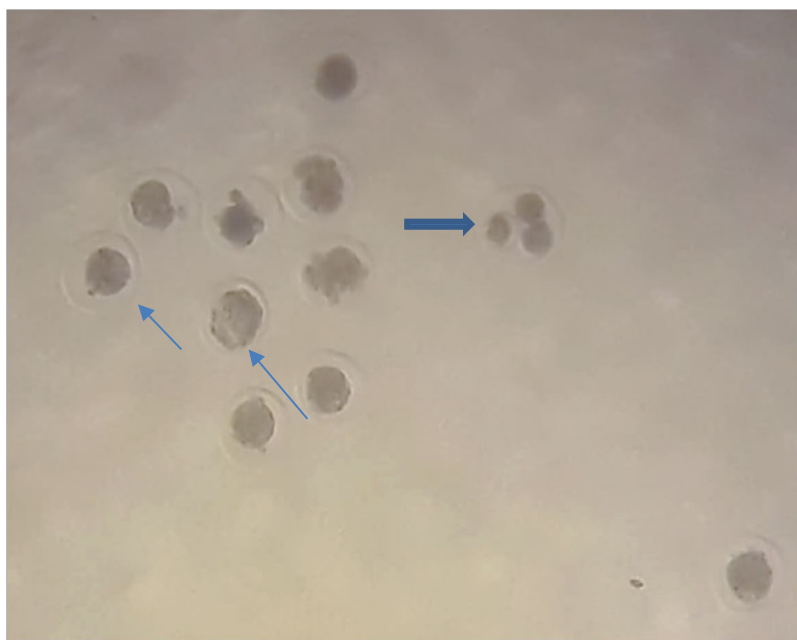


Рис. 4. Ембріони донора Мелодія №3142 під мікроскопом.

В деяких помітні порушення нормального розвитку:

↖ дегенерація окремих бластомерів

→ зупинка дроблення

(збільшення у 28 разів) (фото із архіву авторів)

За кінцевими результатами такі показники зумовлені оптимальною підготовкою донорів до суперовуляції та їх клінічним здоров'ям. Одержана нами ефективність вимивання є досить високою. Зменшення цього показника можливе через недостатню кваліфікацію

техніка. Крім того вважають, що деяка кількість яйцеклітин при великому збільшенні яєчників не потрапляє у воронку яйцепроводу.

В ході наших досліджень встановлена висока ембріопродуктивність корів-донорів (табл. 3).

3. Кількісні і якісні характеристики корів-донорів за трансплантації ембріонів

Кличка №	Одержано ембріонів		Реципієн- тів, гол.	Тільних реципієн- тів, гол. (%)	Телят- трансплан- тантів***, гол.
	всього, шт.	придатних для трансплантації, шт. (%)			
Німфа 9025	11	8 (72,7)	7*	3 (42,8)	3
Мелодія 3142	22	20 (90,9)	12**	6 (50,0)	6
Ріка 8607	5	5 (100,0)	5	2 (40,0)	1

* - одній телиці-реципієнту трансплантовано два ембріони;

** - восьми телицям-реципієнтам трансплантовано по два ембріони;

*** - всі народжені телята – телички.

Це підтверджується не лише тим, що майже 86,8% вимитих ембріонів оцінено як придатні для трансплантації, а також і тим, що за одне вимивання реакція на суперовуляцію є рекордною – 22 ембріони. Хоча відомі випадки одержання за одне вимивання 40 – 60 ембріонів та яйцеклітин, що свідчить про значний репродуктивний потенціал яєчників корів. В наших дослідженнях 22 ембріони від донора Мелодія 3142 та народження 6 теличок-трансплантантів свідчать про правильність обраної схеми впровадження трансплантації ембріонів. Важливо зазначити, що 33 повноцінні ембріони були трансплантовані 24 реципієнтам, тільність їх на рівні 45,8% і народилось 10 теличок-трансплантантів.

Необхідно зазначити, що корова-донор Німфа 9025 (28.04.2010 р.н.) з продуктивністю за найвищу лактацію 8 801 кг, мала одну теличку та чотири бугайці. За допомогою трансплантації ембріонів лише у 2018 році від неї одержано три телички і подальше одержання ембріонів від цієї корови-донора буде продовжено.

Перспективною як донор ембріонів є корова Мелодія 3 142 (07.01.2009 р.н., продуктивність – 5 747 кг молока). За одержання від

неї 20 повноцінних ембріонів за одне вимивання і 50%-ї тільності реципієнтів було одержано шість телят-трансплантантів. Хоча відсоток народженого потомства від кількості пересаджених ембріонів не перевищує 30% (жодної двійні не одержано), всі народжені телята є теличками. За час використання цієї корови у господарстві за чотири лактації від неї одержано було лише одну теличку.

Хоча наразі у світі стрімкого поширення набуває використання для трансплантації одержаних поза організмом (*in vitro*) ембріонів великої рогатої худоби (наприклад, у 2018 році де одержано *in vitro* 1 029 400 шт. проти 469 967 шт. вимитих від корів-донорів, ми у своїх дослідженнях застосовували вимивання їх від корів з метою удосконалення цього методу та підвищення ефективності його використання. У країнах Європи у 2018 році традиційний метод одержання ембріонів від корів-донорів був застосований на рівні 79,3%.

Як вказано вище, із 38 одержаних ембріонів 33 були трансплантовані реципієнтам, а із решти п'яти непридатних для трансплантації було виготовлено цитогенетичні препарати та проаналізовано стан їх хромосомного апарату. Такий цитогенетичний аналіз необхідний для ідентифікації хромосомних порушень, допомагає визначитись із етапами розвитку ембріонів. В наших дослідженнях аналіз цитогенетичних препаратів підтвердив, що один ембріон зупинив свій розвиток на стадії трьох клітин, решта чотири – від 16-ти до 32-х клітин. Ядра майже всіх клітин ембріонів були дегенеровані, вони характеризувалися ущільненим хроматином і неможливістю ідентифікувати ядерця.

ВИСНОВКИ І ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для ефективного запровадження системи трансплантації ембріонів у господарствах необхідні кваліфіковані ветлікарі і техніки штучного осіменіння, які разом із групою ембріологів здатні налагодити одержання власних племінних телиць-трансплантантів і взагалі відмовитися від імпорту худоби. За підтримки та розуміння держави необхідно із сформованого племінного ядра високопродуктивних корів нарощувати власне племінне поголів'я на основі трансплантації ембріонів.

Трансплантація ембріонів є незамінною для отримання плідників та збільшення поголів'я бугайців від матерів із рекордною молочною продуктивністю. У США і Канаді понад 70% бугаїв-плідників, які працюють на станціях штучного осіменіння, отримані таким методом.

Крім цього, отримані в результаті замовних спаровувань телички-трансплантанти є вдалим селекційним матеріалом для вибору серед них рекордисток нового покоління і використання їх як матерів бугаїв.

Необхідно підвищувати ефективність трансплантації ембріонів з огляду на те, що це збільшує ефективність селекційної роботи. За штучного осіменіння корів теля успадковує лише частину корисних властивостей бугая і перевагу має успадковуваність ознак від корови, а за трансплантації ембріонів вплив реципієнтів на потомство практично відсутній.

Перевага трансплантації ембріонів також полягає в тому, що в разі виведення нових порід або поліпшення існуючих застосовується міжнародний обмін тваринами. Обмін ембріонами здешевлює і спрощує проблему транспортування тварин. В цьому випадку майже повністю відпадає необхідність складних карантинних ветеринарних вимог, оскільки ембріони практично вільні від бактерій і грибків внаслідок багаторазової процедури промивання в стерильних середовищах, збагачених антибіотиками. Трансплантація ембріонів є ефективним методом акліматизації тварин. Велике значення має цей метод для оздоровлення стад молочної худоби від захворювань на лейкоз, інфекційний ринотрахеїт, вірусну діарею великої рогатої худоби, оскільки віруси цих хвороб не передаються через ембріони.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бугров О. Д., Хмельков В. М. Рання доімплантаційна ембріональна смертність у телиць та корів. *Науково-технічний бюлетень* / Ін-т тваринництва НААН. Харків, 2014. № 113. С. 52-57.
2. Будевич А. И., Будевич И. И., Ганджа А. И., Зацепин П. Ф., Горбунов Ю. А., Воробьев Д. Н., Пайтеров С. Н., Заремба Н. Л., Кирикович Ю. К., Сапсалева С. А., Лебедев С. Г., Кочетков В. В., Лукашевич Т. Н., Михедова И. В. Биотехнология ускоренного воспроизведения высокоценных генотипов крупного рогатого скота (методические рекомендации). МСХиПРБ, НАНРБ, РУП"НПЦ НАНРБЖ". Жодионо, 2010. 16 с.
3. Воробьев Д. Н., Мамукаев М. Н., Мугниева Л. А. Анализ эффективности суперовуляции у лактирующих и выбракованных коров, сохранность телят-двоен. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета*. 2012. № 76. С. 711-721.
4. Гуменний О. Г., Сідашова С. О., Горобей О. О. Вплив тканинного препарату Пульмолізату на морфогенез яєчників телиць-реципієнтів. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. Біла Церква, 2017. Вип. 1. С. 16-25.
5. Дуванов О. В. Морфологічна характеристика жовтих тіл яєчників і ефективність стимуляції поліовуляції корів-донорів. *Розведення і генетика тварин*. Київ : Аграрна наука, 2011. Вип. 45. С. 63-68.
6. Дуванов А. В. Сідашова С. А. Трансплантация эмбрионов – альтернатива импорту скота в Украину. *Эксклюзивные технологии*. 2013. № 2 (23). С. 50-53.
7. Емброзе Дж. Фактори, що впливають на плідність корів. *Ветеринарна практика*. 2015. № 4. С. 38-46.
8. Кабанова А. С. Топурия Л. Ю., Топурия Г. М. Минеральный состав крови крупного рогатого скота под влиянием иммуностимулятора. *Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России* : сб. науч. статей по материалам междунар. науч.-практ. конф. науч. сотрудников и преподавателей (г. Ставрополь, 16 декабря 2016 г.) / ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет. Ставрополь, 2016. С. 95-97.
9. Кошовий В. П. Акушерсько-гінекологічні патології у корів. Харків : Золоті сторінки, 2011. 154 с.
10. Мадисон В. В. Трансплантация эмбрионов: бразильский феномен. URL: <http://www.dairynews.ru/news/transplantatsiya-embriov-brazilskiy-fenomen.html>.
11. Мельник В. О., Сідашова С. О. Акушерство, гінекологія і біотехнологія відтворення тварин : конспект лекцій. Миколаїв : МНАУ, 2013. 140 с.
12. Нежданов А. Г., Скрипицын Ю. А., Терновых С. В. Эффективность гормональной индукции полиовуляции у коров. *Ветеринария*. 2002. № 10. С. 35-38.

13. Спосіб відбору корів-донорів і телиць-реципієнтів : пат. на корисну модель 41798 Україна № u200814844 ; заявл. 23.12.2008 ; опубл. 10.06.2009, Бюл. № 11, 2009. 4 с.
14. Спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації : пат. на корисну модель № 57835 Україна. № u201011090 ; заявл. 15.09.2010 ; опубл. 10.03.2011, Бюл. № 5. 3 с.
15. Рубленко М. В., Власенко С. А. Проблеми забезпечення здоров'я високопродуктивних корів. *Ветеринарна медицина*. Харків, 2011. № 95. С. 397-400.
16. Сідашова С. О. Анатомічні і функціональні зміни яєчників самок великої рогатої худоби. *Розведення і генетика тварин*. Київ : Аграрна наука, 2011. Вип. 45. С. 236-246.
17. Сідашова С. О. Вплив тканинного імуностимулюючого препарату на нормалізацію статевої циклічності телиць в лютеальну фазу. *Розведення і генетика тварин*. Київ, 2014. Вип. 48. С. 244-252.
18. Сідашова С. О. Оцінка лактуючих корів бути придатними донорами-реципієнтами доїмплантаційних ембріонів. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2013. № 2. С. 61-63.
19. Сідашова С. О. Результативність відтворення дійного стада і функціональна асиметрія яєчників корів. *Вісник Дніпропетровського державного аграрно-економічного університету*. 2014. № 2. С. 175-181.
20. Сідашова С. А. Эффективное воспроизводство: от диагноза до стельности. *Молочная империя* : материалы III Междунар. науч.-произв. конф. Донецк, 2012. С. 92-101.
21. Сідашова С. А. Методика морфофункциональной оценки активности яичников коров и телок и прогноз результативности искусственного осеменения. *Молочная империя* : материалы IV Междунар. науч.-практ. конф. Донецк, 2013. С. 230-241.
22. Сідашова С. А., Халак В. И. Пробиотическая защита слизистых реципиентов как этап усовершенствования биотехнологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. *Приоритетные и инновационные технологии в животноводстве – основа модернизации агропромышленного комплекса России* : сб. науч. статей по материалам междунар. науч.-практ. конф. науч. сотрудников и преподавателей (г. Ставрополь, 16 декабря 2016 г.) / ФГБОУ ВПО Ставропольский государственный аграрный университет. Ставрополь, 2016. С.191-196.
23. Сідашова С. А. Трансплантация эмбрионов – практический путь повышения продуктивности поголовья молочных комплексов. *Эксклюзивные технологии*. 2016. № 6 (45). С. 48-52.
24. Шеремета В. І., Вергелес О. П., Себа М. В. Новий спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. *Вісник аграрної науки*. 2010. № 12. С. 34-35.
25. Юлевич О. І., Ковтун С. І., Гиль М. І. Біотехнологія. Миколаїв : МНАУ, 2012. 476 с.

ДЛЯ НОТАТОК

НАУКОВО-МЕТОДИЧНЕ ВИДАННЯ

Світлана Іванівна Ковтун
Оксана Василівна Щербак
Степан Юхимович Демчук
Петро Анатолійович Троцький
Григорій Семенович Шарапа

ФОРМУВАННЯ ГРУПИ КОРІВ-ДОНОРІВ ДЛЯ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Загальна редакція С. І. Ковтун

Комп'ютерна верстка П. А. Троцький

Підписано до друку 03.11.2022.

Формат 60 x 84 1/16.

Ум. друк. арк. 1,7

Наклад 100 прим.

Надруковано в Інституті розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН
вул. Погребняка, 1, с. Чубинське, Бориспільський р-н., Київська обл., 08321
Свідоцтво ДК № 7292 від 25.03.2021 р.