

ВПЛИВ ПОЧАТКУ ГОРМОНАЛЬНОЇ ОБРОБКИ ТА ЯКОСТІ ЕМБРІОНІВ НА ЇХ ПРИЖИВЛЕННЯ

М.В.Тарасенко*

Харківський біотехнологічний центр

Вивчено вплив початку гормональної обробки та якості ембріонів за морфологічними показниками на їх приживлення після трансплантації.

ембріон, морула, бластоциста, гормональна обробка, приживлення

Методу трансплантації ембріонів у проблемі удосконалення племінних і продуктивних якостей молочної худоби відведена роль засобу, що дає змогу отримати велику кількість однотипних нащадків від високопродуктивних тварин, цінних у племінному і товарному відношенні [1-2]. Велику актуальність і значимість у дослідженнях по трансплантації має оцінка ембріонів, бо від їх якості здебільшого залежить успіх пересадки [3-4].

Водночас морфологічні показники ембріонів недостатньо вивчені і в практичному плані мало доступні для оцінки ембріонів, тому метою наших досліджень було вивчення впливу якості ембріонів за морфологічними показниками на їх приживлення після пересадки свіжоотриманих ембріонів.

Методика досліджень. Роботу проводили у ВАТ “Племзавод “Червоний Велетень” на коровах симентальської та української червоно-рябої молочної породи з продуктивністю 6-11 тис. кг молока за вищу лактацію та жирністю молока не нижче 3,8%. Гормональне оброблення починали на 8-13 день статевого циклу шляхом внутрішньом’язової ін’єкції фолікулоstimулюючих гормонів (FSH-супер, FSH-р, фолітропін, графолон та їх комбінації) за 4-денною схемою в убутних дозах. На третій день оброблення одночасно з гормоном вводили ректоцервікальним способом заморожено-відталу сперму.

Вимивання ембріонів проводили на сьомий день двоканальним катетером за способом, розробленим О.Д.Бугровим, В.О.Коркіним [5]. Пошук ембріонів та їх оцінку проводили за допомогою мікроскопа МБС-9 “Лабоверт”. Ембріонів оцінювали за розвитком (бластоцисти та морули) та якістю: “відмінно”, “добре”, “задовільно” і “дегенеровані”.

Після оцінки, ембріони на стадії морули та бластоцисти “відмінної”, “доброї” та “задовільної” якості були пересажені телицям-реципієнтам, які проявили феномен статевої охоти синхронно з коровою-донором, та перед пересадкою мали в одному з яєчників функціонуюче жовте тіло. Пересадку здійснювали безпосередньо в стійлі. Реципієнту робили низьку сакральну анестезію, зовнішні статеві органи обмивали водою, дезінфікували, застосовуючи препарат “Септонекс”.

Пасту з ембріоном поміщали у шприц для пересадки вітчизняного виробництва, або IMV (Франція), або Minitub (Німеччина). Інструмент у

* Науковий керівник – доктор біологічних наук, професор Бугров О.Д.

санітарному чохла під ретельним контролем через цервікальний канал вводили в ріг матки, на боці якого малося функціонуюче жовте тіло.

Результати трансплантації встановлювали через 60-80 днів шляхом діагностики вагітності реципієнтів методом ректального дослідження та за фактом отелення.

Результати досліджень. У результаті проведених досліджень встановлено, що за період проведення досліду було пересаджено 913 ембріонів (таблиця), з яких 369 або 40,4% прижилися. З цієї кількості пересаджених ембріонів 110 штук були “відмінної” якості, 605 – “доброї” та 198 – “задовільної”. Краще приживлення було одержано при пересадці ембріонів “відмінної” якості (50,9%), дещо гірше (42,3%) – “доброї” якості. Різниця між показниками приживлення ембріонів “відмінної” та “доброї” якості і ембріонів “задовільної” якості відповідно становила – 22,1 та 13,5 відсотка і була статистично вірогідною ($\bar{P} < 0,001$).

Із пересаджених ембріонів (913 штук) – 65% були на стадії бластоцисти та 35% – на стадії морули. Морули “доброї” якості приживлювалися краще, ніж морули “задовільної” якості, різниця становила 13,3% ($\bar{P} < 0,001$). Бластоцисти “відмінної” якості мали приживлення на 7,4% вище приживлення бластоцист “доброї” якості ($\bar{P} > 0,1$) та на 19,1% вищу приживлення бластоцист “задовільної” якості ($\bar{P} < 0,01$). В останньому випадку різниця статистично достовірна. Порівнюючи приживлення морул та бластоцист однакової якості, можна зазначити, що приживлення бластоцист “доброї” та “задовільної” якості дещо вище (на 2,5% та 4,1%) ніж морул. Але ця різниця статистично недостовірна ($\bar{P} > 0,5$).

Показник приживлення бластоцист “відмінної” якості, одержаних при початку гормональної обробки з 9 по 13 день статевого циклу, значно перевершував цей показник при початку обробки з 8 дня статевого циклу. Краще за все бластоцисти відмінної якості приживлювалися при початку обробки з 12 та 13 дня циклу ($\bar{P} < 0,05$ та $\bar{P} = 0,05$). Морул “відмінної” якості було пересаджено лише 5 штук, тому робити висновок про їх приживлення в залежності від дня початку гормональної обробки неможливо.

Бластоцисти “доброї” якості, одержані при початку гормональної обробки з 9 по 13 день циклу, приживлювались значно краще, ніж одержані при початку обробки з 8 дня циклу, а різниця коливалась від 23,9% (9 день) до 33,4% (11 день). Відмінності між приживленням бластоцист “доброї” якості, одержаних при початку обробки з 9 по 13 день циклу та одержаних при початку обробки з 8 дня циклу, статистично достовірні ($\bar{P} < 0,05$).

Морули “доброї” якості, одержані при початку обробки з 8 та 9 дня циклу, приживлювались у 33,3% випадків, а при початку обробки в інші дні відсоток приживлення був вищий на 4,2% (13 день) та на 13,3% (11 день), ($\bar{P} > 0,1$). Бластоцисти та морули “доброї” якості краще за все приживлювались при початку обробки з 11 дня статевого циклу.

Приживлення морул задовільної якості в залежності від дня початку гормональної обробки змінювалось хвилеподібно та мало найменше значення

Приживлення ембріонів різної якості

День початку гормональної обробки	Стадія розвитку ембріона	Якість ембріонів та їх приживлення								
		відмінно			добре			задовільно		
		Пе	Пр	%	Пе	Пр	%	Пе	Пр	%
8	морула				6	2	33,3±19,2			
	бластоциста	12	3	25,0±12,5	28	4	14,3±6,6	4	1	25,0±21,6
9	морула	2	0	0	24	8	33,3±9,6	25	3	12,0±6,5
	бластоциста	11	6	54,5±15,0	55	21	38,2±6,6	8	1	12,5±11,7
10	морула	2	2	100,0	45	17	37,8±7,2	42	12	28,6±7,0
	бластоциста	18	10	55,6±11,7	93	44	47,3±5,2	11	4	36,4±14,5
11	морула				58	27	46,6±6,6	38	11	28,9±7,4
	бластоциста	23	10	43,5±10,3	153	73	47,7±4,0	21	8	38,1±10,6
12	морула	1	1	100	30	13	43,3±9,0	20	9	45,0±11,1
	бластоциста	24	14	58,3±10,1	67	29	43,3±6,1	22	7	31,8±9,9
13	морула				24	9	37,5±9,9	3	0	0
	бластоциста	17	10	58,8±11,9	22	9	40,9±10,5	4	1	25,0±21,6
Всього	морула	5	3	60,0±21,9	187	76	40,6±3,6	128	35	27,3±3,9
	бластоциста	105	53	50,5±4,9	418	180	43,1±2,4	70	22	31,4±5,5
В середньому		110	56	50,9±4,8	605	256	42,3±2,0	198	57	28,8±3,2

Примітка. Пе – пересаджено, Пр – приживилося.

– 12,0% (9 день циклу) та найбільше – 45,0% (12 день циклу). Різниця між цими значеннями (33%) достовірна ($\bar{P} < 0,02$).

Приживлення бластоцист задовільної якості було найменшим (12,5%) при початку обробки з 9 дня циклу. Потім збільшувалось до 10 та 11 дня (38,1%), після чого почало знижуватись та до 13 дня становило 25,0%. Різниця між найбільшим показником становила 25,6%, але вона статистично недостовірна ($\bar{P} > 0,1$).

При оцінюванні ембріонів морули і бластоцисти диференціювали на ранні, середні та пізні. У бластоцист ранніх та середніх із зниженням якості знижується і приживлення. Достовірних відмінностей між цими показниками не встановлено ($\bar{P} > 0,2$ та $\bar{P} > 0,5$). Пізні бластоцисти “відмінної” якості

приживлювались трохи гірше, ніж пізні бластоцисти “доброї” якості. Різниця становила 13,2% ($\bar{P} > 0,2$).

Що стосується морул ранніх, середніх і пізніх “доброї” якості, то можна відзначити, що приживлення зростає від ранніх до пізніх, але відмінності статистично недостовірні ($\bar{P} > 0,2$; $\bar{P} > 0,5$). Найбільшу кількість було пересаджено морул середніх, з яких морули “доброї” якості приживлювались на 12,1% ($\bar{P} < 0,05$) краще, ніж морули “задовільної”. Морули пізні “доброї” якості на 16,7 та 30,0% ($\bar{P} > 0,5$; $\bar{P} > 0,1$) краще приживлювались, ніж морули “відмінної” та “задовільної” якості відповідно.

Висновки:

1.Якість ембріонів впливає на їх приживлення і при цьому ембріони “відмінної” та “доброї” якості приживлювалися достовірно краще, ніж “задовільної”.

2.Морули “доброї” якості та бластоцисти “відмінної” якості приживлювались достовірно краще, ніж морули та бластоцисти “задовільної” якості.

3.Морули та бластоцисти “відмінної” якості приживлювалися краще при початку обробки з 11 дня статевого циклу.

4.У бластоцист ранніх та середніх із зниженням якості знижується і приживлення .

5.У морул ранніх, середніх, пізніх “доброї” якості приживлення зростає від ранніх до пізніх .

6.При прогнозуванні приживлення ембріонів необхідно враховувати їх якість.

Бібліографічний список

1.Эрнст Л.К., Сергеев Н.И. Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных. -М.: Агропромиздат, 1989. – 302 с.

2.Бугров А.Д. Трансплантация эмбрионов – метод размножения высокоценных животных //НТБ №52.– Х.:НИИЖ Л. и П.УССР, 1989.–С.27-29.

3.Бугров А.Д., Шеховцова Е.Ю. Унификация условных обозначений для визуальной морфологической оценки эмбрионов 7-8-дневного возраста // Тез докл. 2-й респ. науч.-произв. конфер. «О мерах по повышению эффективности и улучшению организации более широкого использования биотехнологии в племенном животноводстве». – Львов, 1988. – С.109.

4.Мауссе Ф.С., Медведовский А.В., Кисиль А.В. К вопросу классификации предимплантационных эмбрионов коровы // НТБ № 75. – Х.: ІТ УААН, 1998. – С.175-179.

5.АС №1522472 от 15.11.1988 г. /Бугров А.Д., Коркин В.А. Способ вымывания эмбрионов у коров-доноров.- М.:Госкомизобретений, 1988.

Изучено влияние начала гормональной обработки и качества эмбрионов по морфологическим показателям на их приживляемость после трансплантации

Study of hormone treatment beginning and embryo morphological quality influence on it living ability after transfer.