

Трансплантация эмбрионов как инновационная технология в селекции КРС

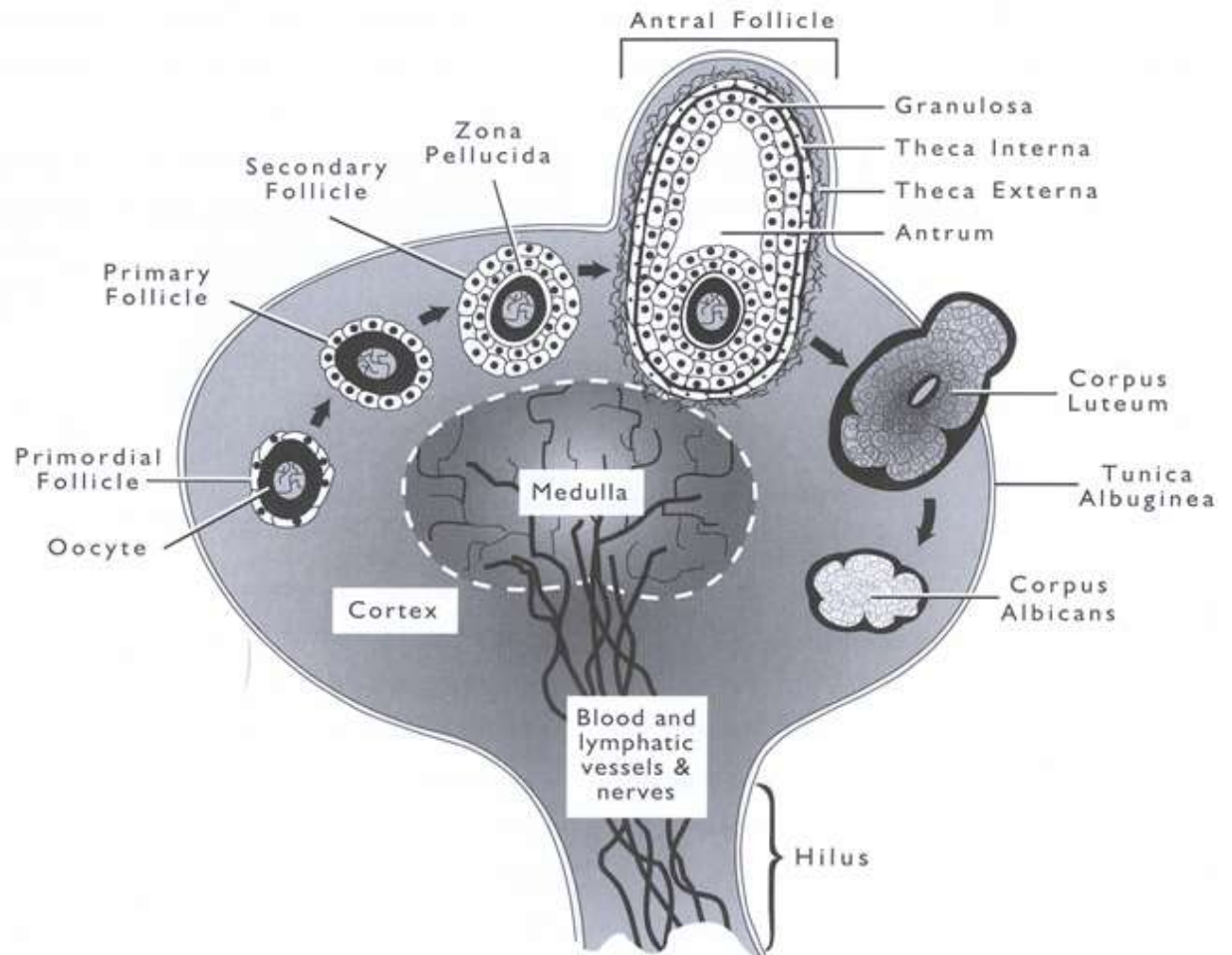


Никиткина Е.В. , к.б.н. ВНИИГРЖ

Поскольку крупный рогатый скот относится к одноплодным животным, от одной коровы можно получить, в основном, не более одного теленка в год.

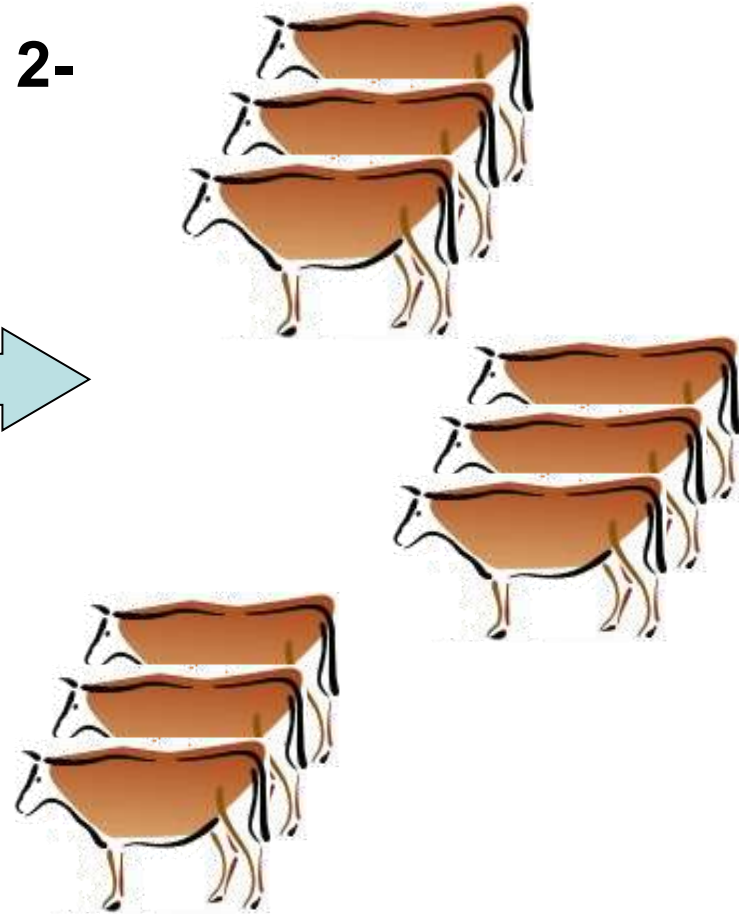


В то же время в яичнике коров содержатся сотни тысяч потенциально готовых к развитию половых клеток.



Суперовуляция и трансплантация эмбрионов

путем гормональной стимуляции
только за одну обработку от коровы–
донора можно получить в среднем 4-6
пригодных для трансплантации
эмбрионов, из которых реализуются 2-
3 теленка



Пересадка эмбрионов ускоряет размножение

Использование метода трансплантации эмбрионов открывает возможность ускоренного размножения генетически ценных животных по материнской линии. Существенное значение метода трансплантации эмбрионов в селекции заключается в многократном усилении давления отбора, что позволяет более полно использовать биологический потенциал яйцеклеток генетически ценных коров.

В настоящее время в ряде стран трансплантация эмбрионов превратилась в промышленную отрасль, инфраструктура которой включает компании по производству необходимых гормональных и ветеринарных препаратов, соответствующего оборудования для пересадки эмбрионов и племенные ассоциации. Пересадка зародышей стала стандартной процедурой получения быков-производителей от выдающихся коров. 80% быков, используемых для искусственного осеменения в мире, получены методом трансплантации эмбрионов, и их доля продолжает увеличиваться.

Российский опыт трансплантации

В нашей стране метод трансплантации начали внедрять в 70 годы 20 века. На начало 1990 года в России работали 124 центра и пункта по трансплантации эмбрионов в 39 регионах. В основном отрабатывалась технология метода и способы замораживания, в качестве доноров использовались выбракованные коровы.

Селекционеры опасаясь снижения молочной продуктивности не использовали лучших коров в качестве доноров.

В 1991 году на базе ГПЗ «Петровский» Ленинградской области под научным руководством сотрудников ВНИИГРЖ была создана научно-производственная система «Генофонд» с целью широкого применения новых биотехнологических методов в племенном животноводстве. Работа осуществлялась внутри племенных хозяйств Ленинградской области, Карелии, Горьковской области и Белоруссии.



Донорское стадо состояло из 67 коров. От 16 наиболее высокопродуктивных коров-доноров родилось 38 бычков и 57 телочек. Так, например донор Снежная 1072 являлась рекордисткой ВДНХ 1985 г по наивысшей продуктивности (10935 кг молока). В стадо Петровского было введено более 40 коров-трансплантантов. В криобанке находится более 1500 эмбрионов, в т.ч. 43 эмбриона после культивирования вне организма, полученных в ПЗ "Петровский", "Расцвет", "Раздолье" (Ленинградская обл.)

Характеристика отдельных доноров

Кличка, инв. н донора	Марка и н ГПК	Продуктивность						Использование								
		средняя			высшая			Кол-во вымы ва- ний	получе- но эмбри- онов	Сред- но пере- садок	Получено живых потомков			ЗБОР- ТОВ	МОРТ- РОЖД	ИМЕ- ЕТСЯ СТАЛЬ- НОСТЬ
		лакт.	удой	% жира	лакт.	удой	% жира				бычков	телок	всего			
Ваза 1457	ЛЧП-31228	1-2	9559	3,81	2	9596	3,87	3	20	19	3	3	6	-	-	-
Снежная 1072	ЛЧП-30070	1-3	10051	3,76	3	10935	3,60	7	34	28	6	4	10	-	-	-
Кайса 2953	ЛЧП-28577	1-3	7843	3,78	2	8479	3,81	7	34	27	4	5	9	2	-	2
Пугливая 1694	ЛЧП-25150	1-5	9121	4,09	4	10478	4,11	3	5	3	1	1	2	-	1	-
Ежа 1267	ЛЧП-22986	1-7	7621	4,06	5	9136	3,91	3	19	17	1	5	6	-	1	-
Хортя 1307	ЛЧП-21789	1-8	8676	3,71	5	10761	3,71	3	13	12	4	6	10	-	-	-



Снежная 1072 ЛЧП-30070
чернопестрая, чистопород.
продуктивность:
средняя 1-3 - 10051-3,76
высшая 3 - 10935-3,60
Рекордистка ВДНХ 1985 г.
по наивысшей продук-
тивности, 1 премия



Пугливая 1694 ЛЧП-25150
чернопестрая, чистопород.
продуктивность:
средняя 1-5 - 9121-4,09
высшая 4 - 10478-4,11
Рекордистка ВДНХ 1985 г.
по наивысшей продук-
тивности, 1 премия



ХОРТЯ 1307 ЛЧП-21789
чернопестрая, чистопород.
продуктивность:
средняя 1-8 - 8676-3,71
высшая 5 - 10761-3,71
Рекордистка ВДНХ
1985 г. по наивысшей пр-вности
1985 - за помесью пр-вности

От чего зависит успех метода

Эффективность применения метода трансплантации эмбрионов во многом зависит от физиологического состояния коров, их способности реагировать на гормональную обработку. Следовательно, одним из наиболее существенных моментов в технологии трансплантации эмбрионов, способных повысить эффективность метода, является отбор доноров и реципиентов.

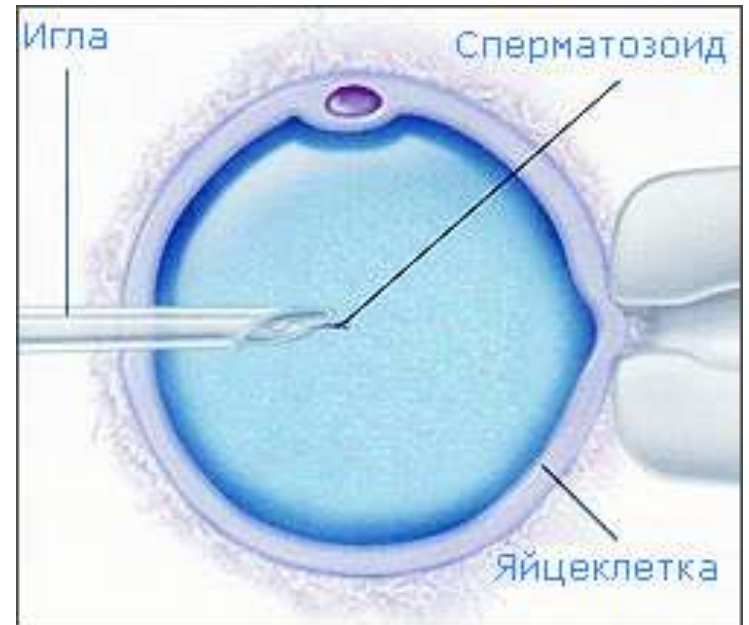
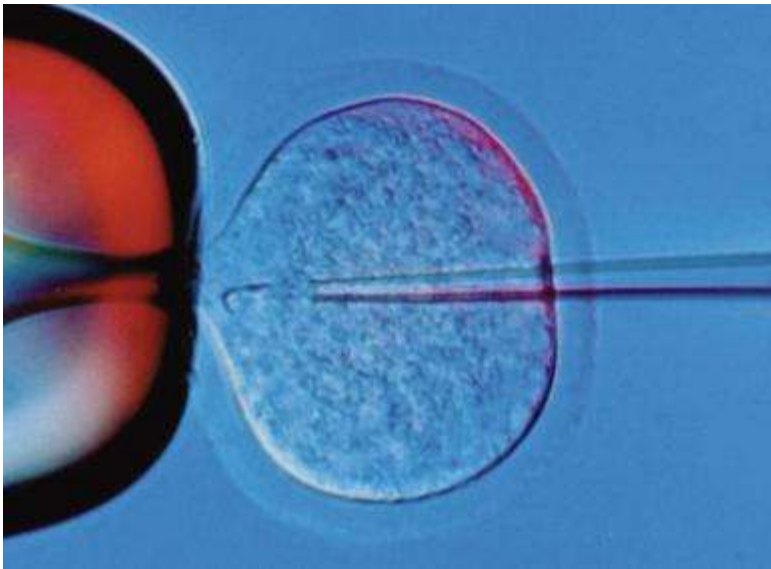
Отбор доноров.

Корова- донор это животное высокой племенной ценности. Число учитываемых признаков может быть разным, например: молочная продуктивность, пригодность к машинному доению, крепость конституции, экстерьер, долголетие, воспроизводительная способность. Однако, определяющим фактором при отборе доноров является состояние репродуктивных органов. У потенциальной коровы-донора контролируется состояние половых органов, чтобы исключить нарушения воспроизводительной функции. Высокие затраты на получение телят путем трансплантации эмбрионов обуславливают необходимость отбирать таких доноров, от которых регулярно можно получать большое количество эмбрионов.



Способы получения эмбрионов:

1. *In vivo* - без применения гормональной стимуляции
2. *In vivo* с применением гормональной стимуляции
3. *In vitro* (IVP)
4. Клонирование
5. ICSI – инъекция сперматозоида в яйцеклетку



OPU (ovum pick-up) /IVP

Получение у животных яйцеклеток путем аспирации фолликулов

Оплодотворение ооцитов *in vitro*

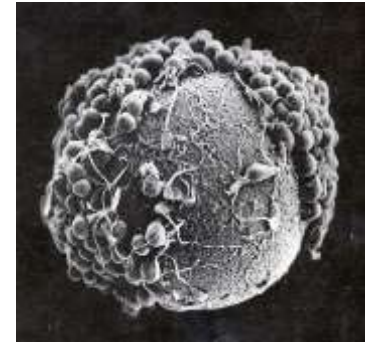
Культивирование и пересадка эмбрионов реципиентам

При такой технологии **не требуется** гормональная обработка фолликулостимулирующими препаратами, ооциты получают у животных **любого возраста** и даже **беременных на ранних сроках**, возможно проведение OPU **дважды в неделю**

В среднем за **одну** процедуру OPU у коров получают **7 ооцитов, 0,4 – 4,7** эмбрионов пригодных к пересадке (по данным Renée Våge, 2008)

Суперовуляция

Как правило у коровы созревает одна яйцеклетка за цикл



При вызывании суперовуляции созревает несколько яйцеклеток



Суперовуляция вызывается введением фолликулостимулирующего гормона

Успех получения полноценных эмбрионов от донора зависит от качества используемых препаратов, которые не причиняют вред здоровью животного.



ФСГ-супер, СЖК

Схемы супер овуляции

Синхронизация половых циклов коров по любой схеме (OvSynch и т.д) с продлением лютеиновой фазы цикла или с прерыванием, с использованием CIDR или прогестероновых губок, можно просто по естественному циклу - все в зависимости от состояния доноров и задач

Начинать введение ФСГ гормонов можно начиная с 10 -13 дня цикла по протоколам и дозам рекомендованным производителем препарата. Но СТРОГО по времени

При разной реакции животных на препарат (особенно при сильной реакции более 10 ЖТ на яичник) можно корректировать дозу.

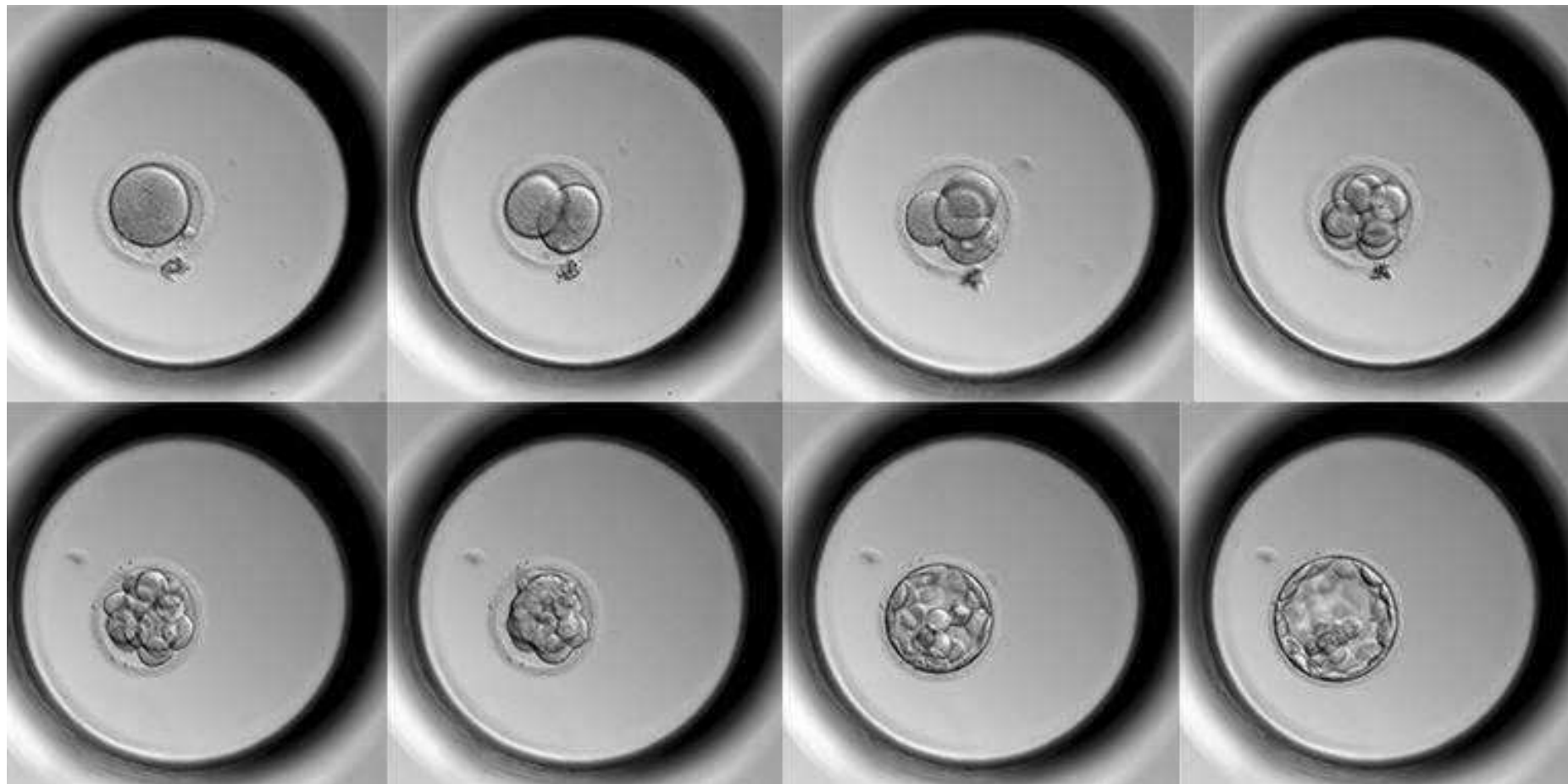
Осеменение проводят 2-3 раза с интервалом в 12 часов после установления охоты

Вымывание эмбрионов

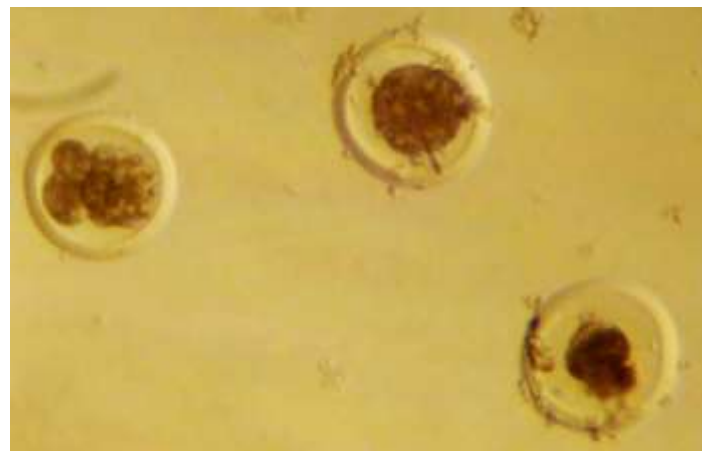
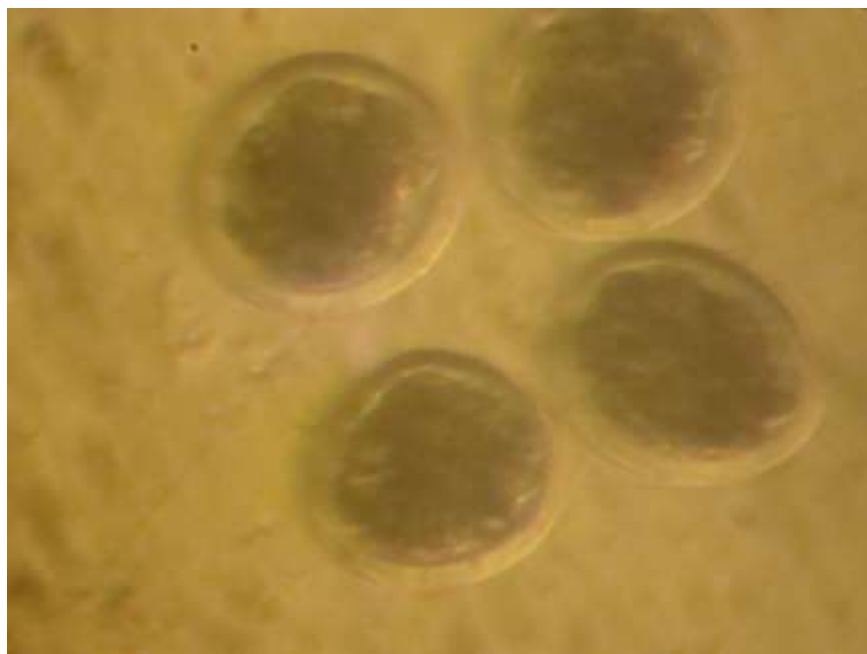
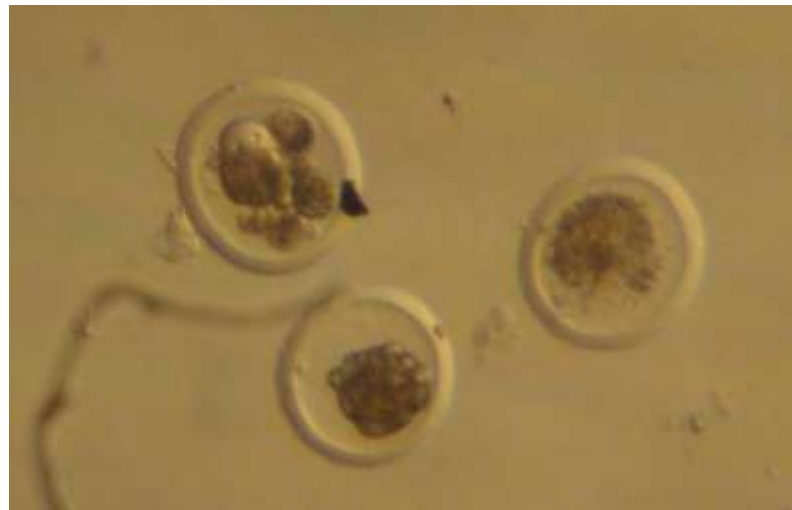
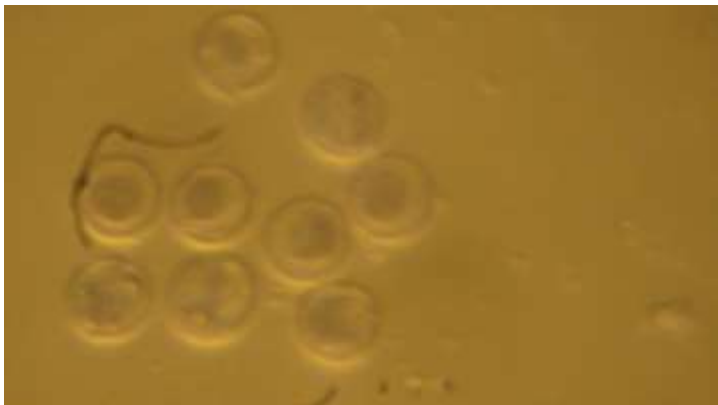


Поиск эмбрионов





Эмбрионы разного качества вымытые от молочных коров



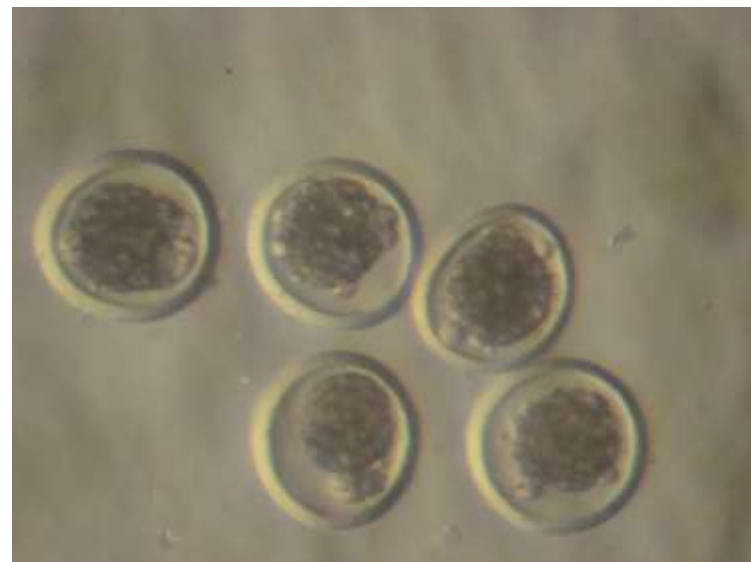
Телки (доноры)



Полученные от них эмбрионы



Эмбрионы отличного качества вымытые от мясных коров



Отбор реципиентов

Важнейшая составляющая для успешной трансплантации эмбрионов это отбор и подготовка реципиентов. В качестве потенциальных реципиентов могут служить телки случного возраста или коровы (идеально 8-10 голов на одного донора). Телки должны быть хорошо выращены, иметь регулярный половой цикл, коровы должны быть не менее 60 дней после отела и гинекологически здоровы.

Этапы отбора реципиентов

Отбор потенциальных реципиентов состоит из нескольких этапов. На первом проводится гинекологическая диспансеризация животных.



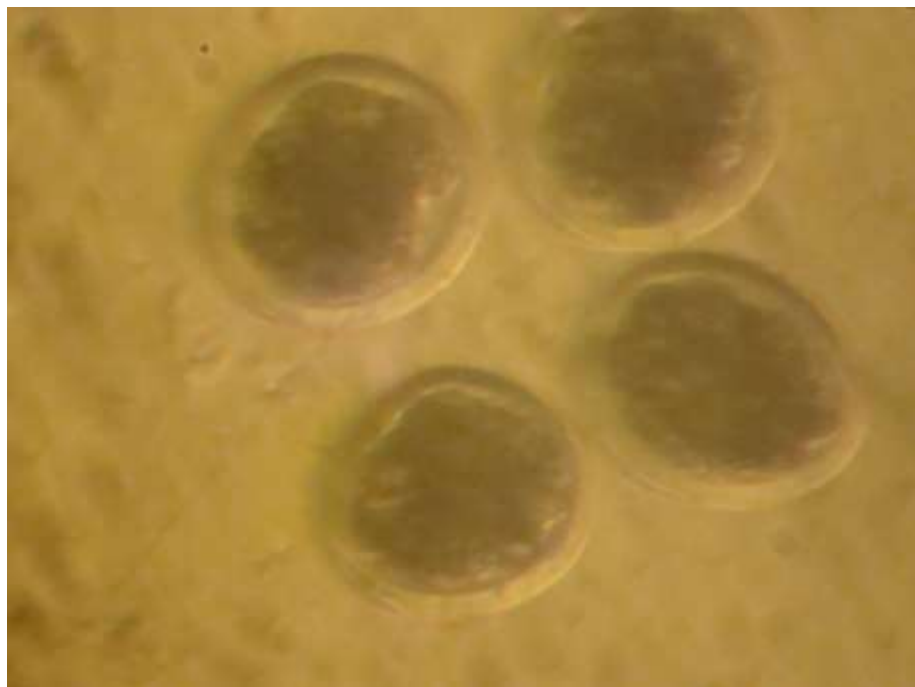
**Отбор животных для синхронизации
половой охоты**

	Исследовано, гол	Оставлено для работы	
		гол	%
коровы	60	22	36,7
телки	44	31	70,4
всего	104	53	51,0

Трансплантация эмбрионов в России во многом ограничивается проблемой наличия качественных реципиентов для пересадки эмбрионов. Необходимое количество реципиентов для работы не может быть обеспечено в силу зоотехнических условностей. Это связано с внутренним планом осеменений и отелов хозяйства, не выполнение которого влечет снижение показателя по выходу телят на 100 коров. Осеменение выбранных потенциальных реципиентов не подошедших по разным причинам для трансплантации эмбрионов может откладываться от одного до нескольких месяцев, тем самым увеличивая сервис и межотельный периоды.

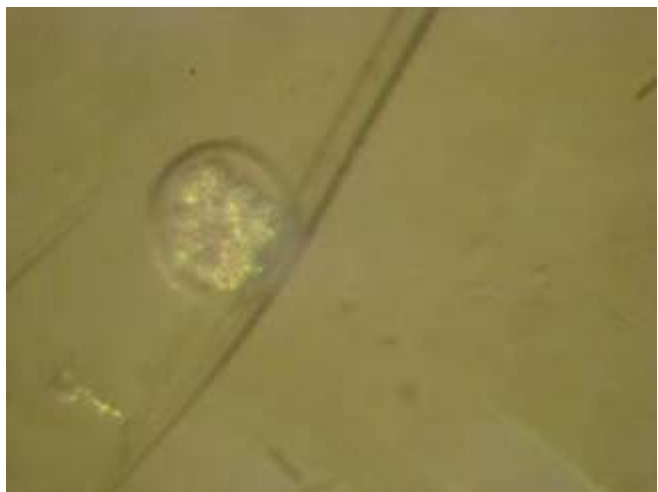


Проблемой для хозяйства может стать то, что не хватает эмбрионов для пересадки. Самое неприятное, это когда подготовлены отличные реципиенты, а не получено ни одного качественного эмбриона пригодного к трансплантации. Это встречается в 20% случаев с хорошими донорами и более часто с донорами у которых проблемы (George E. Seidel et al, 2003).

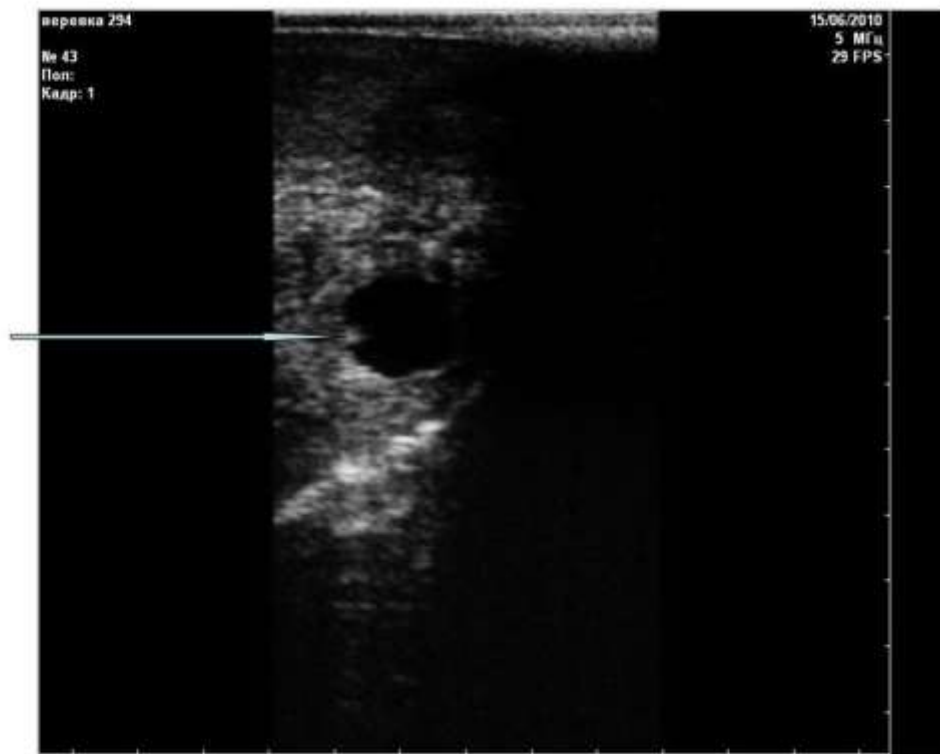


Все вышеперечисленные проблемы частично решаются за счет замораживания эмбрионов, что дает возможность делать пересадки по естественному циклу реципиентов, не зависимо от даты вымывания эмбрионов у доноров. Но при этом приживляемость и наступление стельности снижается.





Эмбрион крс в
возрасте 7 дней
(морула)



Тот же эмбрион в возрасте 30
дней в матке реципиента



**Тот же эмбрион – телочка в возрасте 1,5
мес**



Грамотно проведенная подготовка доноров и реципиентов, трансплантация эмбрионов, полученных *in vivo* и *in vitro*, криоконсервации эмбрионов позволяет значительно ускорить селекционный процесс.

Спасибо за внимание