



**АКАДЕМИИ НАУК КАЗАХСКОЙ ССР  
ИНСТИТУТ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ**

**ТРАНСПЛАНТАЦИЯ  
ЭМБРИОНОВ  
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ  
ЖИВОТНЫХ**

**.Материалы Всесоюзного совещания.  
Алма-Ата, 17—20 октября 1989 г.**

**АЛМА-АТА**

**«ГЫЛЫМ».**

**1901**

УЯК 636.22.28-636.2:591.465.1  
612.646-612.6.621:57.089.38

Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных" ("Материалы Всесоюзного совещания. Алма-Ата, 17-20 октября 1989 г.). - Алма-Ата: Гылым, 1991. - 184 с.

Сборник посвящен одной из актуальных проблем биологической науки- трансплантации эмбрионов сельскохозяйственных животных. В нем представлены результаты исследований по трансплантации эмбрионов сельскохозяйственных животных, проведенных ведущими учеными страны. В сборник также включены работы по гормональной обработке самок животных, по оценке качества и жизнеспособности ранних эмбрионов, полученных при гормональной обработке самок-доноров, а также работы по характеристике животных-трансплантатов.

Книга предназначена для научных работников, специалистов, занимающихся проблемами экспериментальной биологии.

Редакционная коллегия:

М.М.Тойшибеков (ответ.редактор), А.-Ш.М.Амарбаев,  
Р.У.Бейсембаев, Э.Б.Всеволодов, О.В.Дьяченко (ответ,  
секретарь), Е.Е.Ертаев, М.К.Кройтер, А.М.Мурзамадиев,  
Ф.М.Мухамедгалиев

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭМБРИОНОВ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ (Материалы Всесоюзного совещания. Алма-Ата, 17-20 октября 1989 г.). Утверждено к печати Ученым советом Института экспериментальной биологии Академии наук Казахской ССР.

Зав.редакцией Н.Л.Селиванова. Редактор А.Н.Утебаева  
Оформление художника Н.Н.Леоновой. ИБ № 3339  
Подписано в печать 31.08.90. Формат 60x84'/16. .  
Бум.тип. № 1. Печать офсетная. Усл.п.л 10,69. Усл.кр.-  
отт. 10,86, Уч.-изд.л 10,31. Тираж 500. Заказ 178.  
Цена 3 р. 10 к.

Издательство "Гылым". 480100, Алма-Ата, ул.Пушкина,  
111/113. Типография издательства "Гылым"  
480021, Алма-Ата, ул.Шевченко, 28

1903000000-144  
407(05)-91 91.90

( С ) Институт экспериментальной  
биологии АН Казахской ССР,

13ВЫ 5-628-00673-4

1991

М.М.Тойшибеков, Т.Ю.Кудашова

## ПОЛУЧЕНИЕ МОНОЗИГОТНЫХ ДВОЕН У МЛЕКОПИТАЮЩИХ

(обзор)

Институт экспериментальной биологии АН КазССР

Высокий уровень воспроизводства для большинства сельскохозяйственных животных является основным требованием. В связи с этим большое значение приобретает разработка методов получения идентичных двоен у домашних животных, что важно для размножения малоплодных животных (овец, крупного рогатого скота),

Естественные идентичные двойни считаются довольно редким явлением и у овец, и у коров. Например, у коров молочных пород рождается в среднем одна двойня на 96 отелов (СгогНоп еl аl., 1962). Относительное количество двоен может колебаться в зависимости от породы, возраста, внешних условий. .. По данным Р.Р'.5сапlоп и! ;др.,(1974), у некоторых пород крупного рогатого скота относительное количество двойневых отелов может достигать до 10%. Двойнево<рть пытаются получать отбором телок и бычков из многоплодных отелов и их спариванием. Но у коров она наследуется плохо, и затраты на отбор, как правило, себя не оправдывают.

Селекция на плодовитость у овец также происходит медленно: ежегодное ее увеличение не превышает двух ягнят на сто маток (БагиЗ, 1978). Для повышения плодовитости различных пород овец можно эффективно использовать генетический потенциал многоплодных пород: финский ландрас, романовская, авасси, д\*ман.

В породе мериносовых овец бурула найден ген Д, оказывающий значительное влияние на число овулирующих яйцеклеток. Интерес к этому гену обусловлен возможностью его интрогрессии в другие породы путем скрещивания, а также с помощью рекомбинантной ДНК. Порода бурула отличается очень высокой плодовитостью (до 11 яйцеклеток, в среднем 4,2-7 ягнят на овцематку).

Уровень воспроизводства при ноСительстве гена Р на 20-40% выше, чем в контроле. Было показано существование генов с аналогичным действием у овец исландской, кембриджской и яванской пород (В тй о п, Р і р е г, 1986; На п г а На п, 1987).

Хотя хорошее кормление не может заметно влиять на появление двоен, но его частота выше у коров при хорошем кормлении (У Уейзлеп, 1947; Аи га п, 1974). Установлено, что число овуляций значительно увеличивается при включении в рацион таких высокобелковых подкормок, как семена люпина (К п Ў е і а l., 1975) и соевый шрот (О а м 15 С ш ш п л §, 1976).

Таким образом, число естественных двоен у малоплодных сельскохозяйственных животных можно регулировать с помощью определенных условий разведения, кормления, содержания, использования многоплодных пород, а также путем гормональной стимуляции половую жизни.

Большую научно-практическую актуальность имеет разработка методов получения монозиготных двоен сельскохозяйственных животных. Данные, которые в сочетании с использованием метода трансплантации эмбрионов позволяют в-первых, получать генетически идентичных животных (А ш л а с і з е п е к а ! Д 981; Д Л а г к е г Т а п < ± 5 е Ы е l, 1981; О г П е Т а !., > Г 982.; Б а г п Ђ е Ш е Ђ а !., 1983 В г е т е \* a l, 1984), которые успешно используются в специальных экспериментах по физиологии, генетике и размножению животных (На п с о с к, 1954); во-вторых, увеличивать число рожденных животных на определенное количество эмбрионов, взятых от ценных донорских пород (У и л л а т з е \* a l., 1983; 1984; В а к е г е \* a l., 1984; В а к е г а п й 5 Н » e a., 1985).

Некоторые исследователи интересовались разработкой

методов получения идентичных двоен путем разделения эмбрионов на части.

Впервые I.З.Гучинов и др. (1942) показали, что единичные бластомеры из ранних эмбрионов крысы продолжают свое развитие. В дальнейшем была доказана возможность развития изолированных бластомеров ранних зародышей мыши, кролика, свиньи и овцы (Zehl, 1952; Tagkotskikh, 1959; Zappel and Takabayashi, 1965; Moore et al., 1968, 1969).

Следующим шагом было получение живых крольчат (Belclet, 1952; Moore et al., 1968) и ягнят (Moore, 1973) из единичных бластомеров 2-, 4- или 8-клеточных эмбрионов, в которых все остальные бластомеры были разрушены, после переноса их к реципиентам. Причем бластомеры разрушали либо механическим путем (Zehl, 1952), либо с помощью лейкоцитов; введенных в эмбрион (Moore et al., 1968). Авторами было показано, что выживание и развитие изолированных бластомеров на ранних стадиях развития зависит от их помещения в относительно целую оболочку (бластическую оболочку).

И.Ш.Мооре и др. (1969) полагают, что каждый бластомер этих ранних стадий обладает потенцией для полного развития. Но потенции бластомеров к полному развитию уменьшаются по мере увеличения возраста эмбрионов (Tagkotskikh and Shogbushka, 1967).

Пытались производить идентичные плоды механическим разделением 4-, 6- и 7-суточных зародышей овец (Trojanopoulou and Moore, 1974). В результате около 25% разделенных 6- и 7-суточных зародышей развились в культуре в нормальные бластоцисты? Но после пересадки реципиентам 19 бластоцист родилось только два ягненка.

Кл.Мишлен и др. (1970) были первыми, кто осуществил получение монозиготных двоен-мышей из отдельных бластомеров, развитие которых дошло до стадии морулы VI о.

В дальнейшем другими авторами получены идентичные двоен-мышей простым разделением морулы на 2 половинки, которые пересадили мышам-реципиентам (Moi§la and Nab, 1978).

З.М.УУШасАзеп (1979) разработал метод получения монозиготных двоен у овец, полживший началу разделению эмбрионов у сельскохозяйственных животных. Для разделения брали зародыши овец на стадии двух бластомеров. Он считал, что агар, практически не растворимый в половом тракте самок, может использоваться для окутывания эмбрионов, блестящая оболочка которых повреждена или удалена при проведении эксперимента. Отдельные бластомеры после помещения их в небольшие агаровые цилиндрики могут выживать и развиваться в перевязанных яйцеводах промежуточных реципиентов до стадии бластоцисты. При этом с эмбрионами проводили следующие манипуляции (Алшайзеп, 1979, 1982): 1) удаление блестящей оболочки; 2) разделение эмбриона на единичные бластомеры; 3) введение бластомеров в чужие блестящие оболочки; 4) помещение бластомеров в оболочки в защитные агаровые цилиндрики с 1,2% агаром; 5) перенос агаровых цилиндров с эмбрионами в лигированные яйцеводы овец первых или вторых суток эструса; 6) извлечение агаровых цилиндров из яйцеводов промежуточных реципиентов через время, необходимое для достижения бластомерами стадий поздней морулы, ранней бластоцисты (5,5-6,5 сут после оплодотворения).

После удаления агара морфологически нормальные поздние морулы и ранние бластоцисты пересаживали конечным реципиентам, их выживаемость составила около 50%. Это ниже нормы, что связано, в первую очередь с механическим повреждением эмбрионов во время отделения от них агара.

В последующем данный метод применили З.М.Алшайзеп (1980, 1981) для получения идентичных двоен у других видов сельскохозяйственных животных: крупного рогатого скота, свиней, лошадей. Во всех случаях двойни получали из зародышей, содержащих 8 и меньше бластомеров. В этих работах, проведенных кембриджскими исследователями (Алшайзеп, 1979; ШасАзеп апсА Рбйе, 1980; 1981), было выяснено, что каждый бластомер 2-клеточного эмбриона потенциально может развиваться

нормальную, бластоцисту» Кроме того, в последующих экспериментах показано, что каждая пара бластомеров из 4-

клеточного и любые 4 бластомера из 8-клеточного эмбриона также развиваются в бластоцисты, являющиеся нормальными, как и развившиеся из одиночных бластомеров, полученных после деления 2-клеточных зародышей. Разделенные половинки эмбрионов оказались такими же жизнеспособными, как обычные бластоцисты (70-45% после переноса к реципиентам развиваются в живых ягнят), 'четвертичные' эмбрионы, полученные из 4-клеточного эмбриона или пары бластомера; из 1/8-клеточного зародыша, имеют более низкую выживаемость (около 50% у овец). Выживаемость 1/8 частей эмбрионов (т.е. единичных бластомеров из 8-клеточных овечьих зародышей) очень низка (около 5%). Главной причиной пониженной жизнеспособности 1/4 и 1/8 частей эмбрионов является малое число клеток, которое они содержат ко времени бластуляции. Это приводит к образованию бластоцисты с малым количеством клеток во внутренней клеточной массе (в случае четвертичных зародышей) и к формированию бластоцисты с явным отсутствием внутренней клеточной массы (в случае 1/8 частей эмбрионов).

Таким образом, уменьшение числ. клеток во время бластуляции снижает числ. клеток во внутренней клеточной массе бластоцисты и, следовательно, выживаемость таких бластоцист, поскольку клетки внутренней клеточной массы дают начало клеткам плода. Все это верно для разделенных эмбрионов овец, крупного рогатого скота, свиней, лошадей (УУШайзеп, 1980;1981; ^УШадзёП е1 еЦДЭЙО} УУШайзеп апс1 Polse, 1981).

Имеются единичные работы по разделению эмбрионов у млекопитающих химическими методами воздействия с целью получения монозиготных двоен.

Для Мышей разработан экспериментальный метод, включающий обработку винкристинсульфатом (онковином), которым можно несколько увеличить частоту появления однойцевых двоен (КасДшап е1а1., 1978).

Советскими учеными В.К.Миловановым и А.Д.Субботиным (1986) проведена работа по химическому разделению вне организма 2-клеточных зигот крыс и кроликов. Из-

вестно, что тесная связь между бластомерами обеспечивается наличием гиалинового слоя, основу которого составляет белок гиалин. В данной работе 2-клеточные зиготы крыс и крольчих для разрушения гиалинового слоя между бластомерами обрабатывали изотоническими растворами гликокола и двуназиевой соли атилендиаминтетрауксусной кислоты в разных соотношениях. Для разрушения муциновой и блестящей оболочек зигот пользовались растворами ферментов: трипсина, папаина, проназы. Зиготы, извлеченные из яйцеводов, инкубировали в растворах вне организма или вводили растворы в изолированные яйцеводы убитых животных. В результате выявлено, что изотонический, раствор соли ЭДТУК разрушает прозрачную зону, 2-клеточных зигот крыс, а также связи между бластомерами с полным их расхождением. Смесь изотонических растворов гликокола и соли ЭДТУК также разрушает связи между бластомерами, но без полного их расхождения.

У крольчих аналогичная обработка 2-клеточных эмбрионов приводила к ослаблению или разрушению связи между бластомерами без повреждения прозрачной зоны (Милюнов, Субботин, 1986).

К химическим методам, применение которых облегчает последующее микрохирургическое разделение эмбриона ОВУ можно отнести обработку зародышей перед разделением раствором проназы или подкисленным раствором Турода для удаления гопа реНисШа, а также обработку голых (без блестящей оболочки) эмбрионов средой без кальция и магния для декомпаКтизации зародышей.

В связи с различной толщиной блестящей оболочки у эмбрионов млекопитающих (и наличием дополнительной муциновой оболочки у кроликов) авторы применяли разные концентрации Проназы и разную продолжительность выдерживания в ней эмбрионов.;

Например, у зародышей мышей для растворения гопа реПисЫа некоторые авторы (Млп1г, <Ё.962; РопгШ сб. а1 1987) используют 0,5% раствор проназы при 1,5-2,0 мин обработке. У свиной блестящую зону удаляют инкубацией эмбрионов в 0,2% растворе проназы в течение 30 с при

комнатной температуре ( Ы а § а з ы т а е 4 а 1., 1988).

Методика применения проназы во всех случаях одинакова: эмбрионы помещают в раствор проназы указанной концентрации на определенное время, затем отмывают 2-4 раза в применяемой культуральной среде.

Для растворения прозрачной зоны эмбрионы также обрабатывают раствором Турода, подкисленным до рН 2,5 (20-30 с ) или до рН 2,0(4-8 с ) ( Р о п г Ш и з е й а 1., 1987). Указанные рН раствора и время обработки применяют для эмбрионов мышей.

В работе У.Н.РопгШ из 'Й др. (1987) изучалась выживаемость разделенных мышинных эмбрионов после выдерживания в проназе и среде без кальция и магния. Проназа или подкисленный раствор Турода использовались для растворения блестящей оболочки, и среда без кальция и магния применялась для "декомпактизации" эмбрионов перед разделением. Выдерживание эмбрионов на стадиях 8-16 клеток в проназе (0,5% раствор на 1,5-2,0 мин) с последующей обработкой средой без кальция и магния (по 20 мин) дали больший процент развития половинок эмбрионов в бластоцисты (47,7%), чем выдерживание только в проназе (21,4%) или растворение гопа реПисЫа раствором Турода (рН 2,0 или 2,5), сопровождаемое обработкой средой без кальция и магния (18,0% или 18,8%). Разделенные 8-клеточные эмбрионы, прокультивированные одну ночь, не дали живых потомков после переноса самкам на 3-ц сут псевдобеременности. Перенос 196 разделенных 16-клеточных зародышей после обработки проназой, декомпактизации и культивирования в течение ночи, дал 20 новорожденных мышат (2 набора двоен и 16 оди ночных мышей). Таким образом, было выяснено, что декомпактизация эмбрионов мышей (при обработке, средой без кальция и магния) улучшает развитие разделенных зародышей мышей. Удаление блестящей оболочки с помощью кислоты дало небольшое действие на развитие целых эмбрионов: Дп , но кислота, вероятно, сделала эмбрионы I сильно уязвимыми для повреждений при разделении. Этого не было при ферментативном растворении гопа р'еПисХба.

В последние годы за рубежом появилось довольно много

работ по разделению эмбрионов и получению монозиготных близнецов у млекопитающих с применением микрохирургических методов разделения морул и бластоцист. Различия в работах касаются лишь некоторых деталей в методике разделения: применение различных микроинструментов для разделения; разделение эмбрионов через гопа реПисЫа или разрезание зародышей, предварительно освобожденных от блестящей оболочки с помощью ферментов или механическим способом; полное разделение эмбрионов или же неполное их разрезание (на 90%); пересадка разделенных полвин реципиентам без или с гопа rellicsla.

Работы по микрохирургическому разделению эмбрионов поздних стадий развития и пересадке разделенных половинок реципиентам после помещения их в блестящие оболочки были выполнены на крупном рогатом скоте (ОгП еl а! 1982; Ойалга е! ал., 1983; Аҗга\л/ала еl ал., 1987; Клещков Мадич, ; 19886), козах (Убу, 1987; У\*еигш еl ал., , 1988), овцах (О-аЙса е( ал., 1984) и свиньях (Ыа<заЫта ол ад, 1988).

В работу БР.О гИ й др, (1982) были получены идентичные телята. Для этого у коров брали 6-7 сут. эмбрионы на стадии ранней бластоцисты. Для разделения эмбрионов использовали пять микроинструментов, которыми независимо управляли с помощью микроманипуляторов: 1) держащую микропипетку; 2) две иглы для вскрытия гопа rellicsla и разделения эмбрионов; 3) две микропипетки для экстракции эмбрионов из гопа реПисЫа и последующего помещения половинок в блестящие зоны.

При разделении эмбриона сначала двумя иглами вскрывали гопа реПисШа и держали открытой двумя микропипетками. Через них внутрь эмбриона вводили небольшое количество среды для выталкивания зародыша из блестящей зоны. Затем двумя иглами разрезали эмбрион и помещали половинки в чужие гопа реПисЫа, взятые из овопитов. Каждую пару полвин переносили в матку одного реципиента, цикл которого синхронизировали с циклом донора. Из 16 вымытых эмбрионов получены после разделения 14 пар монозиготных половинок эмбрионов, которые транс-

плантрованы 14 реципиентам. У 9 реципиентов из 14 (64,2%) была установлена стельность на 32 сут после переноса. Шесть реципиентов принесли двойневых телят (66,6%). Таким образом, из 28 трансплантированных половин эмбрионов было получено 15 телят (53,6%).

В работе советских исследователей Н.Г.Клецко и А.В.Ма— дич (19886) использовались аналогичные разделяющие процедуры для 6-7 сут эмбрионов коров для получения идентичных двойневых телят. В результате деления 25 морул и 26 бластоцист, оцененных по качеству как отличные и хорошие, получено 87 (85,3%) половинок, 83 из них пересадили 53 реципиентам. Общий уровень приживляемости составил 21,7%, стельности - 30,2, двойневости - 7,5%. Авторами показано, что наибольший процент стельности (37,5%), а также все двойни получены от пересадки половинок морул. Они пришли к выводу, что для деления лучше использовать эмбрионы на более ранних предкомпактных стадиях развития (на стадии морулы).

К.ОгаЙса й др., (1984) провели аналогичную работу по излучению монозиготных двоен из 7-суточных эмбрионов овец на стадиях поздней морулы, ранней бластоцисты. Процедура деления эмбрионов аналогична описанной 1.Р.02Й е1 а1. (1982). Эмбрионы освобождали от блестящей зоны, разделяли тонкой стеклянной иглой на 2 половинки, каждую из которых после заключения в свободную блестящую оболочку эмбриона или неоплодотворенной яйцеклетки трансплантировали предварительно синхронизированным реципиентам. Разделение проводили в растворе 15% овечьей сыворотки. При переносе разделенных половинок использовали раствор Дюльбекко с добавлением 5% сыворотки овцы. Всего разделено 17 эмбрионов, все они трансплантрованы в рога маток 17 реципиентов. Зарегистрировано 9 беременностей (52,9%), из числа которых получено 7 пар монозиготных двоен (77,8%) и 2 одиночки (22,2%).

Интересная работа по разделению козьих эмбрионов выполнена О.а и а у (1987) в Новой Зеландии. Им были выявлены некоторые особенности коз. При манипуляциях козы эмбрионы отличаются тремя чертами от эмбрионов овец и

крупного рогатого скота как объекты для деления.

1. Прилипание клетки к-клетке (адгезия) проявляется намного слабее в эмбрионах коз на стадиях морулы и компактной морулы по сравнению с эмбрионами этих стадий овец и крупного рогатого скота. Следовательно, при манипуляциях эмбрионы коз на данных стадиях распадаются на клетки быстрее, чем эмбрионы овец и крупного рогатого скота.

2. Блестящая оболочка козьих эмбрионов является более податливой, более мягкой, чем гопа реписыа овец и коров.

3. При разрезании эмбрионов коз развалившиеся бластомеры или клетки сильно прилипают к инструментам.

Из-за этих трех причин (особенно из-за первой) крайне трудно делить эмбрионы коз без их повреждения или разрушения. В работе О-В ^ й у (1987) для разделения брали 7-суточные эмбрионы на стадиях от бластоцисты до расширенной поздней бластоцисты. Эмбрионы были разделены с использованием системы двойной иглы в соединении с микрохирургическим лезвием.

Если зародыш разрежали полностью, то разделенные до конца полвинки затем помещали в одну гопа реписыа или в разные. Если же эмбрион разрезан частично (на 90%) то две частично разделенные полвинки оставляли в своей первоначальной блестящей зоне. Полуэмбрионы переносились хирургическим путем реципиентам, синхронизированным с донорами. Все реципиенты были сканированы ультразвуком через 8 недель после переноса. Полуэмбрионы, разрезанные полностью и помещенные в отдельные оболочки, дали 77,8% (7/9) выживших эмбрионов по сравнению с 75,0% (3/4) для разделенных до конца полуэмбрионов, помещенных в свои зоны. Процент выживания - 54% (14/24) для половинок эмбрионов, полученных при разрезании на 90% внутренней клеточной массы и помещенных в свою зону. Авторы указывают на неясность влияния помещения половинок эмбрионов в одну зону и в разные на число продуцируемых потомков. Они не исключают возможности слияния половинок эмбрио-

нов при неполном их разделении, однако опираются на данные Тзипойа еЪ а1. (1985), из которых известно, что не до конца разрезанные половинки эмбрионов коз не стремятся слиться на стадии бластоцисты, в отличие от стадии морулы.

Удачная попытка получения монозиготных двоен была у предпринята К.Швигш и др. (1988).

7-сутрчные эмбрионы на стадии монозиготных двоен у коз после извлечения помещали в фосфатно-солевой буфер (РВ5), содержащий 4% бычий сывороточный альбумин. Затем их разделяли, используя микроманипулятор и модифицированный офтальмологический микроскальпель. Внутреннюю клеточную массу эмбрионов делили на две равные части, помещали в блестящие оболочки и после 30 мин культивирования переносили к реципиентам. После трансплантации 3 реципиентам 6 разделенных половинок родилось две пары идентичных двоен (2 2 ? ) и один одиночный козленок. Общая выживаемость половинок составила 83%. Авторы считают, что разделение эмбрионов на стадии, поздней бластоцисты наиболее удобно, так как в данном случае блестящая оболочка тоньше и цитоплазма более эластична, чем у ранней бластоцисты. •

Таким образом, помещая половинки микрохирургически разделенных эмбрионов на стадиях морулы, бластоцисты в блестящие оболочки перед их пересадкой реципиентам получают довольно высокие проценты выживаемости полуэмбрионов разных сельскохозяйственных животных. У коров получена выживаемость половинок разделенных эмбрионов 53,6% (ОгП е4 а1., 1982) и 21,7% (Клецко, Мадич, 19886), у овец 52,9% (О-аНса е1. а1., , 1983); у коз 77,8% (Нс1у, 1987) и 83% (ТЛэшш е1 а1., 1988). Блестящая зона играет, защитную роль для половинок эмбрионов на стадиях морулы, бластоцисты, тем самым увеличивая их приживаемость.

В связи с интенсивным развитием и совершенствованием метода трансплантации эмбрионов появилось много работ по получению идентичных двоен у сельскохозяйственных

животных после микрохирургического разделения зародышей и пересадке полвин реципиентам без помещения их в блестящие оболочки. Были получены монозиготные дайки у крупного рогатого скота (Шатз, Моог, 1988; Агагал, 1987), овец (Шаслеп, Столк, 1984; Отае, 1987) и свиней (Базыта, 1988).

Т.А.Ахмата и Б.Моог (1988) представили упрощенный метод получения идентичных двоен у коров. 7-суточные эмбрионы коров на стадиях ранней бластоцисты разделяли микролезвием, управляемым с помощью микроманипулятора. Полвинки эмбрионов переносили нехирургически в синхронизированных реципиентов. Через 70-80 сут после переноса стельность была подтверждена у 38% (5/13) и 45% (9/20) реципиентов, получивших соответственно по две или по одной полвине эмбрионов. При этом получено три пары (30%) идентичных близнецов. В контрольной группе (после переноса целых эмбрионов) на 70-80 сут выявили 43% (12/28) стельных коров, т.е. уровни стельности после переноса половинок эмбрионов (38% и 45%) сравнимы с уровнем стельности после получения целых зародышей (43%). Авторы пришли к выводу, что коровьи эмбрионы на 7 сут развития не нуждаются в блестящей оболочке.

Р.Агагал и др. (1987) делили эмбрионы коров на стадии бластоцисты стеклынной иглой и микрохирургическим скальпелем, культивировали 1-2 ч и пересаживали реципиентам. Стельность у реципиентов на 80-90 сут после пересадки 20 половинок бластоцист без блестящей оболочки составила 40%.

Аналогичные результаты были получены З.М.У.Шаслеп, К.А.Столк (1984) после разделения 6-, 7- и 8-суточных эмбрионов овец. Морюлы и бластоцисты делили тонкой стеклынной иглой через блестящую оболочку. Разделенные эмбрионы без гопа реллксла были "уто трансплантированы обратно донорам к высокому общему уровню суягности - 89%. После пересадки 18 овцам 36 половинок эмбрионов получили 8 пар идентичных двоен, 1 пару неидентичных двоен, 7 одиночных ягнят. Не было получено ни одной пары двоен от переноса разделенных морул в то время как все три типа

разделенных бластоцист (ранняя, расширенная, 'вылупившаяся' бластоцисты) дали идентичные двойни. В данной работе было выяснено, что возможно развитие разделенных бластоцист без йопа реПисШа\*

К. Снезпе (1987) разделял 8-, 9- и 10-суточные зародыши овец, поскольку блестящая оболочка у них либо тогда, либо отсутствует. После разрезания каждую пару полужэмбрионов пересаживали в рог матки реципиента со стороны яичника с желтыми телами. Из 39 реципиентов 'условно-сукными' (по концентрации-прогестерона в крови) на 18 сут оказались 31(79%), обьягнились 28(72%), в том числе 18 (64%) - двойнями, 10(36%) - одиночками. Приживляемость & 9- и 10-суточных полужэмбрионов составила соответственно 58,73 и 81%, т.е. приживляемость разделенных эмбрионов, по-видимому,, увеличивается с возрастом.

Данным способом получены также монозиготные поросята (Ы а ^ а з ы т а е ! а !., 1988 ). Морулы, ранние бластоцисты и бластоцисты свиной делили тонкой стеклянной или металлической (Р I - Iг) иглой после -растворения блестящей зоны. Половинки эмбрионов после 15-20 ч культивирования переносили реципиентам. В результате от одного реципиента получили 7 поросят одного помета из 12 свободных от гопа ре Пис Ша полвин эмбрионов. Указывают, что этот простой метод, не требующий помещения разделенных эмбрионов в блестящие оболочки, дает жизнеспособное потомство.

Пересадка разделенных эмбрионов крупного рогатого скота, овец, свиной реципиентам без помещения их в блестящие оболочки является действенным методом получения идентичных двоен сельскохозяйственных животных, поскольку данный метод дает довольно высокие проценты приживляемости разделенных полвин, беременности после их пересадки и однойцевых близнецов.

У коров после пересадки полужэмбрионов без гопа ре(ли-слба уровень стельности составлял 38%, 45% (АЛПШатз, Мооге, 1988) и 40% (Аёгашала а.л., 1987), у овец уровень с^гности - 89% (МШабзеп, Скобке, 1984) и 79% (СНедие еб а.л., 1987).

Попытки культивирования т мПг<э половин разделенных эмбрионов были предприняты А.О. Тгбипгоп, Ы.\У.Мооге (1974) в работе по получению идентичных двоен у овец. Авторы механически разделяли 4;6- и 7-сут зародыши овец на две части и полученные половинки культивировали в среде Дюльбекко с добавлением 20% гетерологичной овечьей сыворотки в течение 2 сут при 37,5 С до получения нормальных бластоцист (фактически это было ирибуирование, так как культуральную среду не продували газовой смесью). Половинки 4-сут эмбрионов плохо развивались в культуре, и большинство полуэмбрионов диспергировались на отдельные клетки. 82 половинки 6- и 7-суточных зародышей после культивирования дали 24 нормальных бластоцисты. Но из 19 бластоцист, трансплантированных реципиентам, удалось получить только двух живых ягнят.

В работах последних лет по получению однояйцевых близнецов у сельскохозяйственных животных разделенные зародыши коров (0§a\\га eI a1.g 1983), коз (ТЛаигш eI a1.^ 1988) и свиней (Ыаа,ааЫта e!; a1.,1988) культивировали разное время в различных средах, что давало большую выживаемость половин. После культивирования по сравнению с контрольными.

, 5.0§аша и др. (1983) для культивирования разделенных эмбрионов коров использовали НЕК раствор, содержащий 18% сыворотку теленка. Условия культивирования были следующими: температура - 37 С; атмосферные условия - 5% СО ^; время - 12 или 24 ч; изучение под микроскопом - каждые 6 ч. В результате 224 из 26 коровьих полуэмбрионов продолжали развитие в данных условиях, т.е. 2 лз 2 половин без блестящей зоны, полученных разрезанием эмбрионов стеклянным микроножом, 16 из 18 "голых" полуэмбрионов и 4 из 6 помещенных в зону половин, полученных с использованием металлической Р1-1г микроиглы, развились до стадии поздней морулы через 12 ч и до стадии ранней эспандированной бластоцисты через 24 ч.

К.ТЛзигт и ДР> (1988) получили монозиготных двоен у коз разделением 7-сут эмбрионов. После микрохирургии половину зародышей помещали в блестящую зону,

культивировали в течение 30 мин в среде Дюльбекко с 4% бычьим сывороточным альбумином в атмосфере с  $CO_2$ , для восстановления бластоцист.

Н. Ыаҗазыҫпа и др (1988) были получены поросята из микрохирургически разделенных морул и бластоцист. После разделения 78 половинок с гопа реписба или без были помещены в маленькие капли среды Виттинггема, покрытые жидким парафином и культивировались 15-20 ч в атмосфере 5%  $CO_2$  при 37 C. Из 15 помещенных в зоны половинок морул и ранних бластоцист 11 (73,3%) развились в бластоцисты с хорошо выраженной внутренней клеточной массой (ВКМ) и 4 (26,7%) в бластоцисты без отчетливой ВКМ. Из 63 половинок без гопа реписба получили 34 (54,0%) бластоцист с отчетливой ВКМ, 15 (23,8%) с плохо выраженной ВКМ, 12 (19%) без ВКМ и 2 (3,2%) дезинтегрированные бластоцисты.

Таким образом, культивирование т  $V^{16}$  половинок эмбрионов после микрохирургии улучшает их дальнейшее развитие, повышает приживляемость полужембрионов и процент рождаемости однояйцевых близнецов сельскохозяйственных животных.

\*

Обобщая изложенное, можно заключить, что разработка методов получения однояйцевых близнецов у сельскохозяйственных животных действительно имеет важное значение для повышения уровня их воспроизводства. В настоящее время эти методы интенсивно и успешно развиваются за рубежом (Ш Ш айзеп, Стойке \* 1984; Аҗгал\гал е! а1., 1987; услу 1987; И а ^ азыҫпа е! а1., 1988); появились также первые работы в нашей стране (Клецько, Мадич, 1988 ^-в). Указанные методы позволяют получать довольно высокий процент приживляемое™ половинок разделенных зародышей как при их пересадке реципиентам с блестящими оболочками (А ^ га — тгала е\* а1. , 1987; Щэпй е\* а1. , 1988; Каҗавыҫпа 04 а1. , 1988; Клецько, Мадич, 1988а), так и без предварительного помещения полужембрионов в гопа реписба (Ш П айвеп, О-обке , 1984; С Неапе е! 1., 1987;

У\ЛШатз, Мооге ,1988). В ряде работ выявлено, что возраст и стадии развития эмбрионов в момент их деления влияют на процент приживляемости полвин при пересадках. Уровни беременностей после пересадки полвин, процент приживляемости полэмбрионов и получения идентичных двоен выше при использовании рлз деления зародышей после поздних посткомпактных стадий развития (ранней бластоцисты, экспандированной бластоцисты и 'вылупившейся' бластоцисты) по сравнению с эмбрионами стадий ранней морулы, морулы и поздней морулы (Ш ПИатз еl аl. , 1984а; Ш Ш айзеп , Сходке , 1984; С Незпе еl аl. , 1987). Исключением является исследование советских авторов Н.Г.Клецко и А.В.Мадич (1988,а), в соответствии с которыми наибольший процент стельности, а также все двойни были получены от пересадки полвин морул

#### Литература

- Клэйко Н.Г., Мадич А.В. Разделение эмбрионов КРС и их трансплантация с целью получения монозиготных близнецов//Состояние и перспективы развития биотехнологии в животноводстве. Тез. докл 21-22 сент. 1988а. С.77-78.
- Кляцко Н.Г., Мадич А.В. Получение идентичных телит-двоен от пересадки полвин эмбрионов//Докл.Всесоюз. орд.Ленина и орд.Труд.Красн.Знам. акад. с.-х. наук им.В.И.Ленина. 1988б. № 12. С.22-24.
- Кляцко Н.Г., Мадич А.В. Основы манипуляций с эмбрионами животных//Применение метода трансплантации эмбрионов в селекции сельскохозяйственных животных. Дубровицы, 1988в. С.44-47.
- Мильванов В.К., Субботин А.Д. Метод химического разделения вне организма двухклеточных зигот млекопитающих//Сельскохозяйственная биология. 1986. № 3. С.121-123.
- Ае,га\лгала р, е{ аl.//2лнсМ;Ну§лепе. 1987. \/,22, N 3. P.115-116.
- Аигап Т.//Ас4а. А§rlс. 5сапсl.1974. V .24. P.207-210.

- Вакер КЛ>. е4; а1.//Прос. 10—Ш 1пк С оп§.А т.  
Рерг.'апс! АгШ. 1пзет. Т1п^.о{ ИНпсйз, 11гбапа.  
1984. У.1. Р.22^0.
- Вакер Р.Р., Зкеа В.Р.//Ткерло§еполо§у.1985.  
У.23. Р.3-12.
- Влпсlop В.М. е! а1.//Ваз!с Ще зсшпсез.  
1986. У.37. Р.67-93.
- Вгелш Ст. е\* а1.//Тьерло§еполо§у: 1984. У.21.  
Р.225 (аьзкг.-).
- Съезне Р. е1 а1.//Ткерло§еполо§у. 1987.  
Л/.27. Р.751-757.
- Вател ЬС. е! а1.//Ехр1. Сел1 Кез. 1965. У.зд.  
Р.475-482.
- Бах/лаз 1.Р. е!; а1.//Прос. Анзк Зое. Кергоск  
В1ол. 1976. Р.28.
- Напгакап 1.Р.//Ыеллг ^;есНп^^нез т зНеер  
ргойнсгЫоп. 1987. Р.,37-46.
- Сха&са Р.. е\* а1.//ТьерлоЙеполо§у. 1984.  
Стогйоп I. е I а1.//1.Аёр!с, З+ск СатЬ.1962,  
'У.59. Р.143-198.
- . КапГтап М.Н. е4 а1.//Ма\*нге Ыопск 1978.  
У.276. Р.707—708.
- Кп1§М Т.\Лк е1 а1.//1.Айнс; Рез. 1975. У.26.  
Р.5Й7-570. .
- БашьеШ У.А. е1 ак//Тьег'о§епо'беу,, 1983.  
У.20. Р.85-95.
- Магкер4 С.Б. е! ай.//Р!еллг 1есполоЕ\*1ез т а т -  
шал ЫгессЦп®. Асас1епнс Рге©Э..Ыеллг У6гк.'1981.  
Р.183-200.
- Мт1;2 В.//Зс1епсе. Д962. V.138. N 4. р,594 -  
595.
- Мооге Ы.\Лк е1 а1.//1.Кергоск Рергк 1968.  
У Д 7. Р.527—532.
- Мооге Ы.УУ. ё1 а]//Анз1. 1.В4Ы. Зек 1969.  
-Р.979. ...
- Мооге Ы.М./ДкРергоск Ред;. (Зирр1.18).  
1973. Р.111—116.
- Моиз4аСа Ы.А. е! а1.//В1зсь. Т1егар211. Шось.  
1978. В.85.'3.242-244.

- Миллен РЛ. е! а1.//Апп.Пер!:. 1аскзон, БаЪ.  
 Ваг\ Арбор. М ате, 115А, 1970.
- Ыаҗазыта Н. а1.//Тьерлоҗеполоҗу. 1988.  
 У.29. N 2. P.485-496. /
- Шсолаз Г.З. е! а1.//1.Ехр.2оо1.1942. \Г.90.  
 P.441—450.,
- Оеат/уа 5. е1 а1.//ТНе Јарап. 1.оГ А т т.  
 Кергоё. 983. У.29, N.4. P.198-207.
- . 1.-P. а1.//Уел. Нес.1982. У.ИО.  
 P.126—127.
- РопгШий К.-Н. е! а1.//Тьерлоҗеполоҗу.  
 1987. У.27, N 6. P.859-867.
- Зоаплап P^> е! а1.//1.Оер1Л\.\ёНе. ШзН РерйЪПс,  
 1974. V.70. P.45-61..
- ; Зе1ёе1 P.//НаШплазепзсИа{4еп. 1952. \Л39.  
 P.355.
- Тагколлзк! А.К.//Ыалиге Ыьпс1. 1959. У\184.  
 P.1286—1287.
- Такесла Т. ё! а1.//Тьепоҗеполоҗу. 1986.  
 .25. P.204 ,(аЪз1;г.),
- Тагколлзк! А.К. е\* а1.//1.ЕтЪгуо1. Ехр.  
 МорЪо1. 1967. V. 18. P.155.
- Тгоизоп А.О. е1 а1.//Анз\*. 1.В1о1. 5С1.1974.  
 У,27. P.505—510.
- Тзипоёа У. е\* а1.//Тьерт§>еполоЕ|у. 1985.  
 У.24. P.337-343.
- Ццу а.а//ТНерлоҗеполоЕУ. 1987. У.28, N 6.  
 P.837—847.
- Шзигш К. е1- а1.//Меш. Coll. А{§глс., Кус4о  
 ИпК^ . 1988. N 131. P.1-6.
- ШеИз^ет P.//Ае\*гагШс1. 3г1е. 1947. V.1.  
 P.326—338. .
- М И айзеп З.М.//Ыалиге. 1979. .V.277. P.298-300.
- "Ш Паёзеп З.М.//1.Рергос1. Рер4. 1980. V .59.  
 P.357—362.
- М П айзеп З.М. е1 а1.//Апп.Соп1. Зос.ЗйисГу  
 Рер4, 1980. P.32 (аЪз\*).).

УУШадзеп З.М. е! а1.//1.КА§г1с. Зое. Епц.  
1980. РЛ 15-126.

„\ЛШ1а<1зеп З.М. а1. //ТНer10§епolo|у.  
1981. У.15. Р.23-29.

ШПанзеп 5.М.. е1 а1./Д/е1.Рес.1981. У.Ю О.  
Р.211—213.

ШШай5еп З.М.//Маттайп Е е^ё» Трапз^ег  
(есЬС.Е.АсГатз.). 113А.1982. Р.185-210.

ШШайвеп З.М. ё! а1.//Уе1. Кес. 1984.  
У.114. Р.240-243.

АЛШПатз ТЛ.//Ррос,Апп.СопСАг1Шс. 1пзе.т.  
Ешьгуо Трапз1ег т Вее5 СаШе (Вегг^ег), Ыаль  
Аззос. Ап Ш. Вгеёйегз, Со1итыа. 1983. Р.45-51.

\ЛПШатз ТЛ. е\* а1.//ТьёНо§епoloё|у. 1984.  
У.22.Р.521-531.

ШНИашз ТЛ. е1 а1.//ТНer10йеполоуу. 1984а.  
У.21, N 1. Р.276.

№ 1Шатз ТЛ. еба1.//Тьер!о|зеполо§у. 1988.  
У.29, N 2. Р.477—484.

М.К.Кройтер, М.М.Тойшибеков, Ю.Ф.Мартынов,  
Ж.С.Ахатов, Б.Оразалиев

**ИТОГИ И НАПРАВЛЕНИЕ ДАЛЬНЕЙШЕЙ  
'ПЛЕМЕННОЙ РАБОТЫ ПО СОЗДАНИЮ  
КАЗАХСКОГО ЮГО-ВОСТОЧНОГО-  
И ВОСТОЧНОКАЗАХСТАНСКОГО ТИПОВ  
СОВЕТСКОЙ МЯСО-ШЕРСТНОЙ ПОРОДЫ ОВЕЦ .  
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ. БАРАНОВ ТРАДИЦИОННЫХ  
МЕТОДОВ СЕЛЕКЦИЙ И ТРАНСПЛАНТАТОВ**

Институт экспериментальной-биологии АН КазССР

В рамках общесоюзной программы Институтом экспериментальной биологии АН КазССР проводятся исследования и селекционные работы по созданию казахского юго-восточного и восточноказахстанского типов новой советской мясо-шерстной породы полутонкорунных овец. Племенные стада, представленные животными III-IV поколений от разведения

многопородных мясошерстных помесей 'в себе"', сосредоточены в совхозах 'Тургенский' и 'Илийский' Алма-Атинской и в совхозе 'Никитинский' Восточно-Казахстанской областей. В совхозах 'Тургенский' и 'Никитинский' утверждены племенные хозяйства и фермы по разведению полутонкорунных кроссбредных овец соответственно юго-восточного и восточноказахстанского зональных типов.

В племовцесовхозе 'Тургенский' насчитывается более 45 тыс. мясошерстных овец, в том числе 4,9 тыс. желательного типа. Стадо создано путем сложного и воспроизводительного скрещивания пяти пород: казахских тонкорунных маток, баранов породы английский линкольн, ромни-марш, бордер-лейстер и тьянь-шаньской. Овцы имеют выраженный мясо-шерстный тип, крепкую конституцию, хорошо приспособлены к круглогодичному пастбищному содержанию в полупустынно-степной и горной зонах с незначительной подкормкой в зимний период.

При общем расходе на одну овцу в год приходится 370-400 к.ед. (из которых 85 к.ед. - на стойловые корма, включая 18 кг зернофуража). Животные желательного типа характеризуются живой массой: бараны - 88-93 кг; матки 55-58 кг и вполне удовлетворительными настригами мытой шерсти: 4,4-4,8 и 22,2-2,4 кг соответственно. От них получают полутонкую кроссбредную и кроссбредного типа шерсть 58-50 качества, длиной 11-12 см при выходе мытого волокна 58-60%. Выделенные селекционные группы маток (1200 гол.) и группа баранов (20 гол.) отливаются относительно высокой продуктивностью: живая масса 57 и 94,7 кг, настриг шерсти 2,81 и 5,7 кг соответственно. Овцы отличаются высокой плодовитостью (120-125%) и жизнеспособностью (выход ягнят к отбивке 97-98%). Производство кроссбредной и кроссбредного типа шерсти в 1987 г. достигло 75,4 т мытого волокна.

В совхозе 'Илийский' этой же зоны при создании стада кроссбредных овец использовались также бараны-трансплантаты - английских длинношерстных пород и их помесей. Здесь насчитывается 5,6 тыс. кроссбредных овец, в том числе 750 гол. желательного типа, включая 150 гол. селекцион-

ной группы. Продуктивность основных пород овец этого хозяйства находится на уровне совхоза "Тургенский\*.

Выделенные в селекционную группу бараны-производители имеют живую массу 95 кг, настриг мытой шерсти 4,24 кг, овцематки - соответственно 58 и 2,5 кг. Средний настриг мытой шерсти, по стаду составляет 2,0 кг. Промышленности сдано 8,8 т кроссбредной и кроссбредного типа мытой шерсти.

Путем использования баранов желательного типа племенного стада совхоза 'Тургенский' овцы нового типа внедряются в другие хозяйства Алжц-Атинскрй области (совхозы "Джарсуйский\* и "Сюгатинский"). Общая численность кроссбредных овец в 4 перечисленных базовых и товарных хозяйствах юго-восточной зоны Казахстана, где работают сотрудники института, достигла 70,6 тыс.гол, из них 6,3 тыс. желательного типа, включая 1370 гол селекционной группы.

В предгорногостепной зоне Восточно-Казахстанской области, в основном базовом хозяйстве совхозе 'Никитинский' Уланского района сгадо мясоШерстньХ: кроссбредных овец создано на основе многопородного воспроизводительного скрещивания тонкорунных помесей алгайской породы с баранами пород линкольн и ромни-марш английской и аргентинской репродукции, а также тьянь-шаньской породы и частично австралийский корридель. Здесь насчитывается более 23 тыс. кроссбредных овец, в том числе 3,2 желательного типа\*

В условиях пастбищного полустойлового содержания, при годовом расходе на овцу 380-420 к.ед., из которых 24,5% приходится на стойловые корма (включая 24. кг зернофуража), овцы желательного типа этого стада характеризуются средней и крупной величиной: матки - 55-60, бараны - 90-95 кг, настриг мытой шерсти - соответственно 2,2-2,5 и 4,5-5,0 кг. Животные отличаются оптимальной длиной шерсти- 14-15 см у баранов, 11-12 см у маток, 12-13 см у ярок при выходе мытого волокна 60-63%.

По селекционной группе маток (430 гол.) и баранов (20 гол.) настриг мытой шерсти в 1987 г. составил 2,7 и 5,27 кг, живой. масса - 60 и 99 кг соответственно, .