

Marianna Członkowska,  
Zygmunt Reklewski

Instytut Genetyki  
i Hodowli Zwierząt PAN  
Jastrzębiec

# Biotechnologia w hodowli zwierząt i w produkcji zwierzęcej\*

## Cz. I – Zastosowanie biotechnik zarodka

### Wprowadzenie

W odniesieniu do zwierząt ssących, wstępnym etapem warunkującym podjęcie badań z zakresu inżynierii genetycznej jest opanowanie metod biotechnologicznych na zarodkach i gametach. Szereg z tych metod ma już obecnie duże znaczenie dla doskonalenia zwierząt gospodarskich.

Szerokie zastosowanie znalazła sztuczna inseminacja, wywierając wielki wpływ na przyspieszenie metod doskonalenia zwierząt. Opanowanie metody konserwacji plemników w ciekłym azocie zrewolucjonizowało hodowlę bydła, gdyż umożliwiło zastosowanie niezwykle ostrej selekcji rozplodników. Selekcja ta odbywała się na podstawie oceny wartości hodowlanej buhajów, co wielokrotnie przyspieszyło postęp genetyczny w zakresie użyteczności mlecznej. Opanowanie metod pozyskiwania, hodowli *in vitro*, konserwacji i przenoszenia do matek zastępczych zarodków, zwiększyło współczynnik reprodukcji samic. W przypadku najważniejszych gatunków zwierząt gospodarskich wzrost ten, uzyskany w wyniku superowulacji i przeniesienia zarodków, jest 10-krotny. Stwarza to możliwość prowadzenia intensywniejszej selekcji samic, choć efektywnością nie dorównuje inseminacji.

Opanowanie metody przenoszenia zarodków daje również szereg innych korzyści. Jako najważniejsze można wymienić:

- możliwość uwolnienia stad od specyficznych chorób bakteryjnych i wirusowych,
- łatwiejsze pokonanie barier sanitarno-weterynaryjnych, przy zakupach zarodków z innych kontynentów,
- możliwość zachowania ginących gatunków i ras zwierząt poprzez konserwację w niskich temperaturach zarodków i gamet,
- możliwość modyfikacji programów doskonalenia genetycznego zwierząt w konsekwencji zwiększenia współczynnika reprodukcji samic.

To ostatnie zagadnienie jest obecnie już wykorzystywane przez hodowlę praktyczną w Polsce według programu opracowanego w IGHZ PAN. Programy MOET (z j. ang. *Multiple Ovulation and Embryo Transfer*) mają na celu przyspieszenie doskonalenia genetycznego bydła i owiec. Dzięki zwiększeniu plenności samic, ocena wartości hodowlanej rozplodników może odbywać się w oparciu o informacje na temat o użyteczności siostr i półsiostr, a nie, jak to było w konwencjonalnych programach, na podstawie danych dotyczących potomstwa. W konsekwencji tego postępowania odstęp między pokoleniami skraca się prawie o połowę, a także możliwe jest objęcie selekcją szeregu nowych cech dotychczas niemożliwych do oceny w warunkach testu połowego. Podjęto także prace nad zachowaniem zagrożonych rodzimych ras zwierząt gospodarskich (bydła polskiego czerwonego i koników polskich) poprzez konserwację w ciekłym azocie nasienia i zarodków oraz nad introdukcją do populacji owiec krajowych genu głównego podwyższonej plenności pochodzącego z zakupionych w Nowej Zelandii zarodków owcy booroola.

\*Problematyka biotechnologii zwierząt była szerzej omówiona w nr 1/90 „Biotechnologia – Przegląd Informacyjny”.

Aktualnie prowadzone prace w Instytucie Genetyki i Hodowli Zwierząt zmierzają do opanowania metody zapłodnienia *in vitro* oocytów bydłych i owczych. Wyniki badań w ośrodkach japońskich i brytyjskich świadczą, że tą drogą będzie można doprowadzić do dalszego zwiększenia współczynnika reprodukcji samic. Intensywnie rozwijane są badania nad mikromanipulacjami na zarodkach. Pierwszy etap tych prac polegał na tworzeniu monozygotycznych bliźniąt. Badania te obok aspektów poznawczych mają również wyraźny cel użyteczny, zmierzają bowiem do dalszego zwiększenia plenności samic, a tym samym potania metody pozyskiwania i przenoszenia zarodków.

W dalszej części artykułu omówimy niektóre techniki embriologiczne, które już znajdują – lub zapewne niedługo znajdą – zastosowanie w hodowli i doskonaleniu zwierząt gospodarskich.

## 1. Zapłodnienie *in vitro*

Przenoszenie zarodków w połączeniu z techniką zapłodnienia *in vitro* znajduje najszerze zastosowanie w pokonywaniu nieplodności, szczególnie w medycynie ludzkiej, ale także u zwierząt użytkowych (1).

Ayalon (2) podaje, że u krów wykazujących nieprawidłowości w funkcjonowaniu narządów rodnych, liczbę oocytów, które pozostają niezapłodnione, ocenia się na 29–40%. Stosując zapłodnienie *in vitro* i zastępcze matki-biorczynie można zmniejszyć straty zarodków spowodowane ich wczesną zamieralnością (3). Technika zapłodnienia *in vitro* umożliwia ocenę zdolności zapłodnienia zarówno oocytów jak i plemników, a także efektywne wykorzystanie nasienia cennych samców, a co za tym idzie, produkcję dużej liczby potomstwa od rodziców wartościowych pod względem hodowlanym.

Ważnym zagadnieniem jest czas i sposób pobierania oocytów z pęcherzyków jajnikowych. W medycynie ludzkiej pozyskuje się już dojrzałe oocyty, a zapłodnienia dokonuje się *in vitro*. U zwierząt natomiast istnieją dwie drogi pozyskiwania oocytów. Jedna to wyplukiwanie lub pobieranie oocytów dojrzałych *in vitro* po indukcji hormonalnej (superowulacji), a druga to pozyskiwanie oocytów z pęcherzyków jajnikowych pobieranych z jajników ubitych krów i jałówek. Obie metody zmierzają do osiągnięcia konkretnych celów. W przypadku pobierania oocytów dojrzałych bada się *in vitro* wpływ hormonów podanych w celu wywołania superowulacji na jakość oocytów i ich zdolność do zapłodnienia. Jest to problem szczególnie ważny, ponieważ, jak dotychczas, notuje się zróżnicowaną reakcję na hormony stosowane do wywoływania superowulacji, a jakość zarodków nie zawsze jest zadowalająca. Dlatego też możliwość badania tak wczesnych stadiów zarodkowych pozwala określić moment, w którym zachodzi proces degeneracji i poszukiwać czynników powodujących niski procent zapłodnienia oocytów (4). W przypadku pobierania oocytów niedojrzałych istnieje możliwość ustalenia warunków, w których zachodzi proces dojrzewania i zapłodnienia, a co za tym idzie uzyskanie dodatkowego źródła zarodków od wartościowych pod względem genetycznym samic, skierowanych na ubój z innych powodów, aniżeli nieplodność (5).

Badania podjęte w IGHZ PAN w Jastrzębcu oparte są głównie na pobieraniu oocytów od krów rzeźnych. Jednakże owce są przygotowywane hormonalnie z użyciem FSH. Pobrane oocyty poddawane są dojrzewaniu w hodowli *in vitro*, a następnie zapładniane nasieniem mrożonym (bydło) lub świeżym (owce).

Ponieważ występują trudności w hodowaniu zygot *in vitro*, w początkowej fazie eksperymentów zastosowano przenoszenie zygot w 17–18 godzin po inseminacji do przejściowej biorczynie – zwykle owcy z podwiązanyimi jajowodami. Jednak ostatnio dość intensywnie badane są możliwości hodowania zygot *in vitro* w medium zawierającym komórki nabłonka jajowodu (6,7,8). Ustalono w wyniku prac eksperymentalnych, że u owiec można uzyskać po 6 dniach hodowli w obecności komórek nabłonka około 42% blastocyst (6), natomiast u bydła po dojrzewaniu i

zapłodnieniu *in vitro* około 22%. Jeśli przy tym przyjmniemy, że po przeniesieniu do biorczyń uzyskuje się od 50 do 64% cielnych zwierząt (Eyestone; informacja ustna) to ze 100 hodowanych oocytów można oczekiwać od 11 do 14 cieląt. Efektywność tej techniki jest zatem jeszcze stosunkowo niska, niemniej uzyskane wyniki wskazują, że cały proces zarówno dojrzewania, zapłodnienia jak i rozwoju do 7 dnia możliwy jest w warunkach stworzonych *in vitro*. Nie bez wpływu na efekty rozwoju *in vitro* ma pochodzenie plemników od poszczególnych buhajów. Wykazał to Eyestone (informacja ustna), badając wpływ różnego nasienia na późniejszy rozwój zygot *in vitro*; w zależności od buhaja uzyskiwał on od 77 do 83% zapłodnienia, a procent zarodków osiągających stadium moruli lub blastocysty wynosił od 13 do 40.

## 2. Mikromanipulacje na zarodkach ssaków

Najprostszym rodzajem mikromanipulacji jest tworzenie monozygotycznych, a więc identycznych genetycznie osobników przez mechaniczny podział pojedynczego zarodka. Pierwsze prace dotyczące badań nad rozwojem pojedynczych blastomerów pojawiły się w latach trzydziestych. Jednak dopiero badania Tarkowskiego (9), Tarkowskiego i Wróblewskiej (10) oraz Rossanta (11) przeprowadzone na zarodkach myszy, jak również Moore i wsp. (12) na zarodkach królika dały teoretyczne podstawy do dalszych prób oraz wykazały możliwość dokonywania zabiegów mikrochirurgicznych na zarodkach bez zbytecznego osłabienia ich późniejszego rozwoju. W 1978 r. Mustafa i Hahn (13) dokonali pomyślnego podziału moruli myszy uzyskując 8 par urodzonych identycznych bliźniąt. Moore i wsp. (12) badając rozwój pojedynczych blastomerów zarodków świni, uzyskali rozwój *in vitro* do stadium blastocysty 35% blastomerów pochodzących z cztero- i sześciokomórkowych zarodków. Natomiast, Trounson i Moore (14), dzieląc morule owiec o większej niż 20 liczbie komórek, stwierdzili rozwój *in vitro* tylko 30% połówkowych zarodków. Pozytywne rezultaty przyniosło dopiero doświadczenie Meinecke-Tillmann i Meinecke (15), kiedy to uzyskano bliźnięta w wyniku podziału zarodków owiec w stadium moruli. W 1979 r. Willadson (16) opisał metodę ochrony zarodków o uszkodzonej osłonce przejrzystej w żelu agarowym, dokonując tym samym przełomu nad produkcją jednojajowych bliźniąt. Z 16 par podzielonych zarodków urodziło się w jego doświadczeniu 5 par identycznych bliźniąt oraz 5 jagniąt pojedynczych. Opisane doświadczenie wykazało, że każdy z blastomerów z dwukomórkowego zarodka owcy zachowuje pełny potencjał rozwojowy i może przekształcić się w normalnie rozwinięty płód. Ten sam autor wykazał następnie, że monozygotyczne bliźnięta owcy można tworzyć z zarodków cztero- i ośmioblastomerowych przez podział komórek na dwie grupy odpowiednio po 2 i 4 komórki. Połówki zarodków uzyskane tą metodą wykazywały żywotność zblizoną do normalnych zarodków owiec. Natomiast żywotność „ćwiartek” była niższa. Próby uzyskania tą metodą jednojajowych ośmioraczków przez podział ośmioblastomerowego zarodka nie doprowadziło do uzyskania żadnego jagnięcia. Ze względu na zbyt małą liczbę komórek w okresie blastulacji zarodek taki przekształcał się zwykle w niezdolny do dalszego rozwoju pęcherzyk trofodermalny, nie zaś w prawidłową blastocystę. Pierwsze doświadczenie przeprowadzone na zarodkach bydła (17) miało na celu wytworzenie jednojajowych czworaczków z zarodków ośmiokomórkowych. W kolejnym doświadczeniu użyto już jednak rozwój 75% przeniesionych do biorczyń połówek. Choć metoda ochrony na żelu agarowym jest dość skuteczna to jednak jest zbyt skomplikowana w warunkach hodowli terenowej. W 1982 r. równocześnie we Francji (19) i w USA (20) przedstawiono uproszczoną procedurę tworzenia jednojajowych bliźniąt u bydła. Dzielone zarodki pozyskiwano w 6-7 dni po rui w stadium późnej moruli lub wczesnej blastocysty. Uzyskiwane wyniki wskazywały na nieznacznie tylko niższą przeżywalność takich połówkowych zarodków podawanych parami w porównaniu do zarodków niedzielonych. Doświadczenia przeprowadzono na licznych materiale, uzyskując wyniki wskazujące na możliwość, a nawet potrzebę wykorzystania tej nowej

biotechniki w praktyce. Dzięki podziałowi zarodków można bowiem uzyskać obecnie około 50% więcej cieląt czy jagniąt aniżeli wynosiła wyjściowa liczba zarodków pozyskanych od dawczyń. Po opanowaniu metod zamrażania połówkowych zarodków możliwe będzie również uzyskiwanie identycznych bliźniąt różniących się wiekiem. Tego typu eksperyment z użyciem dwublastomerowych zarodków owiec i bydła wykonano w 1981 r. w Anglii (17). Wykazano możliwość uzyskania identycznych bliźniąt po transferze zamrożonych połówek z podzielonych dwublastomerowych zarodków, otoczonych osłonką agarową. Połówki tych zarodków były pozyskane po kilkudniowej hodowli w jajowodzie przejściowej biorczynie i po osiągnięciu stadium moruli lub blastocysty poddane mrożeniu. W chwili obecnej wyniki cielności lub kotności po przeniesieniu dzielonych 7–10-dniowych zarodków świeżych są zadowalające. Natomiast w dalszym ciągu nie rozwiązany jest problem mrożenia połówkowych zarodków. U bydła notuje się nieliczne prace dotyczące mrożenia połówkowych zarodków. Nieman i wsp. (21) osiągnęli 46,2% przeżywalności zarodków, Suzuku i wsp. (22) – 50%, a Lehr–Jensen i Wiladsen (18) – 43%. Istnieje też jedyne doniesienie dotyczące mrożenia połówkowych zarodków kozy. Tsunoda i wsp. (23) uzyskali 27% przeżywalności mrożonych połówkowych zarodków kozy w stadium blastocysty i wylężonej (z j.ang. *hatched*) blastocysty. Natomiast, nie istnieją prace opisujące efekty konserwacji w niskich temperaturach połówkowych zarodków owiec. W IGHZ PAN podjęto zatem ten problem. W eksperymentach wstępnych osiągnięto pozytywne wyniki dzielenia 6–7-dniowych świeżych zarodków owiec, uzyskując efektywność 57,1% (24). Stosując tę samą technikę podziału i dodatkowe osłonki agarowe uzyskano po transferze zamrożonych połówek do 33,3% kotnych biorczyń. Jednakże zanotowano stosunkowo wysoką zamieralność mrożonych połówek. Procedura mrożenia wymaga więc udoskonalenia i pewnych modyfikacji programu mrożenia oraz prób użycia innych krioprotektantów. W dostępnej literaturze tylko w jednej pracy znaleziono wzmiankę o zamrożeniu 18 „połówek” sześciodniowych zarodków owiec (25), jednak bez pozyskania żywych jagniąt.

Zastosowanie metody dzielenia zarodków, obok nie kwestionowanych walorów ekonomicznych, daje możliwość osiągnięcia pewnych korzyści naukowych. Osobniki monozygotyczne są znakomitym materiałem do licznych badań z dziedziny genetyki, hodowli, fizjologii, immunologii czy żywienia zwierząt. Pozwalają też na przeprowadzenie bezpośrednich, znacznie precyzyjniejszych porównań na mniejszej niż dotąd liczbie zwierząt. Badania wpływu matki na rozwój płodu czy bezpośrednia ocena dryftu genetycznego poprzez porównanie bliźniąt urodzonych w dowolnie dużym odstępie czasu wskutek wszczepienia „połówki” przechowywanej w stanie głębokiego mrożenia stanowią atrakcyjne możliwości dla nauki.

Dzielenie zarodków stanowi jedną z możliwości powielenia identycznego genotypu choć w niewielkiej liczbie. Produkowane bliźnięta, trojaczki czy czworaczki stanowią identyczne osobniki reprezentujące mały klon. Metodą, która pozwoliłaby na zwiększenie liczebności identycznych genotypów jest przenoszenie jąder komórkowych z komórek somatycznych do enukleowanej komórki jajowej. Jednak do tej pory tego typu klonowanie nie jest możliwe u ssaków. Jądra komórek somatycznych są bardzo stałe w manifestacji cech fenotypowych. Jeden z prawdopodobnych powodów tej stabilności wiąże się ze zróżnicowaniem genetycznym DNA, które jest nieodwracalne. Próby przenoszenia jąder z komórek embrionalnych powiodły się tylko częściowo, przy czym gorsze efekty uzyskiwano pobierając jądra komórkowe do transferu ze starszych stadiów zarodkowych. Byłoby jednak pożyteczne powielanie *in vitro* zarodków w celu wykonania i zamrożenia wielu ich kopii. Można by wówczas przetestować kilka z nich do oceny wartości, a następnie użyć zamrożone i przechowywane w ciekłym azocie zarodki do kolejnych replikacji. Tego typu eksperymenty są aktualnie wykonywane w USA (Granada, Texas; Wisconsin University, Madison). Z użyciem techniki fuzji bądź z wirusem Sendai, bądź elektrofuzji łączy się pozbawione materiału genetycznego niezaplodnione komórki jajowe z pojedynczymi blastomerami do stadium blastocysty u 42,1–48,3% tak preparowanych

zarodków (26). Według informacji uzyskanej od dra N. Firsta (Wisconsin University–Madison) rozwinięty zarodek uzyskany po fuzji może być kilkakrotnie użyty jako dawca blastomerów do kolejnych fuzji. W ten sposób faktycznie można by produkować wiele osobników reprezentujących identyczne cechy czyli sformować klon. Na razie jest to możliwe tylko z dość wczesnymi stadiami rozwojowymi 8–16–blastomerowymi. Prowadzone są jednak prace w kierunku wykorzystania również późniejszych zarodków w stadium 32–komórkowych morul. W pracach tego typu przydatne mogłyby być oocyty pozyskane z jajników krów rzeźnych dojrzewające w hodowli *in vitro*.

Od dość dawna prowadzone są próby rozmnażania ssaków metodą bezpłciową, inaczej wegetatywną. Wiele gatunków bezkręgowców, a nawet niektóre gatunki kręgowców, jak płazy i niektóre ryby, reprezentują model reprodukcji partenogenetycznej. Wszystkie osobniki partenogenetyczne są samicami. Ponieważ niektóre kręgowce osiągnęły możliwość wegetatywnego rozmnażania, można mieć nadzieję uzyskania tej samej formy rozmnażania również u ssaków. Reprodukcję partenogenetyczną, przynajmniej u jednej generacji, osiągnięto u ptaków, u indyków i kur, poprzez selekcję szczepów, których rozwój nastąpił bez zapłodnienia (27,28). Rozwój tych jaj został osiągnięty poprzez diploidyzację haploidalnego jaja, a w niektórych przypadkach wskutek przeciwdziałania formowaniu się drugiego ciała kierunkowego. W przypadku ptaków produkowane tą techniką są tylko samce.

Pobudzenie zarodków ssaków do rozwoju partenogenetycznego jest właściwie proste. Wymaga jedynie stymulacji prowokującej jaja do rozwoju, np. przez umieszczenie ich w temperaturze 5°C przez 1 godzinę w podwyższonej temperaturze przez krótszy czas lub w 7% alkoholu etylowym przez 7 min. Niestety, jednak żadne z takich partenogenetycznych jaj nie rozwinęło się w pełni. U myszy zanotowano jedynie rozwój do stadium 24 somitów (11 dni) (29). Bardziej prawdopodobna jest możliwość uzyskania potomstwa partenogenetycznego w wyniku kompozycji 8–blastomerowego zarodka z zarodkiem normalnym, uzyskany z zapłodnionego jaja. Chimery te rozwijają się prawidłowo i wykazują obecność komórek pochodzących z komponentu partenogenetycznego w niemal wszystkich tkankach, włączając gonady. Takie twory nie są letalne, mimo że zarodek złożony wyłącznie z komórek partenogenotów nie może przeżyć (30,31,32).

Uzyskanie partenogenetycznych lub gynogenicznych zwierząt miałyby pełną aplikację w hodowli z dwóch powodów: a) zwierzęta takie byłyby tylko samicami i charakteryzowałyby się dużym ujednoczeniem cech produkcyjnych, b) byłyby użyteczne do wykrywania genów recesywnych.

Technika produkcji chimer pozwoliłaby też na wprowadzenie dodatkowej informacji genetycznej poprzez: a) iniekcję komórek do blastocysty–biocysty, b) agregację komórek. Do tego rodzaju iniekcji możliwe jest użycie dwóch rodzajów komórek – kariotypowo niezmiennych i totipotentnych, uzyskiwanych z hodowli komórek embriolastu (z j. ang. *stem cells*) lub komórek teratokarcinomy. Należy przy tym podkreślić, że komórki rakowe nie manifestują typowego fenotypu po wbudowaniu w embrioblast i zachowują się jak normalne komórki. Komórki teratokarcinomy wprowadzane do blastocyst są wbudowane do zarodka i 50 do 100% uzyskanych w ten sposób zwierząt okazuje się chimerami, z których 1/3 posiada obce komórki wbudowane w gamety. Dotychczas doświadczenia takie prowadzone są u myszy (33,34,35,36). Jeśli podobna technika mogłaby być zastosowana u zwierząt gospodarskich stanowiłoby to ogromny postęp we wprowadzaniu obcej informacji genetycznej do genomu zwierząt.

W badaniach IGHZ posłużono się nieco inną techniką wprowadzania informacji genetycznej do obcego gatunku. Do uzyskania chimery międzygatunkowej – kozo–owcy zastosowano tzw. agregację blastomerów (37). Użyta technika była znacznie uproszczona w stosunku do poprzednio stosowanych (38,39). Chimery kozo–owcę wytworzono z 8–blastomerowych zarodków owcy i 12–blastomerowych zarodków kozy. Po 6 blastomerów kozy i 4 blastomery

owcy przeniesiono do zastępczej osłonki i po 20 godzinach hodowli *in vitro* przeniesiono do owiec biorczyń. Podobną procedurę zastosowano w tworzeniu chimer międzyrasowych u owiec, między rasą merynos i rasą wrzosówka oraz owcą romanowską. Próbowano również użycia późniejszych stadiów zarodków—morul i blastocyst.

Technika kompozycji chimer pozwala na badanie wbudowywania poszczególnych komórek zawierających specyficzny marker, który umożliwi rozróżnienie gatunków lub ras. Metoda ta pozwala na śledzenie i manipulowanie wczesnymi stadiami rozwojowymi. Daje też szansę zastosowania jej w przypadku konieczności ocalenia zagrożonych gatunków lub nie rozwijających się samodzielnie zarodków (partenogenetyczne, gynogeniczne).

## Wnioski

Obecnie, w badaniach możliwe jest praktyczne wykorzystanie niektórych metod biotechnicznych takich jak klonowanie zarodków, w ograniczonej jeszcze liczebności, czy też pozyskiwanie dodatkowej puli zarodków dzięki zastosowaniu zapłodnienia i hodowli zygot *in vitro*. W niedalekiej natomiast przyszłości, opracowane będą metody pozwalające na zwielokrotnienie identycznego genetycznie potomstwa lub tworzenie określonych linii zwierząt reprezentujących požądane dla hodowcy cechy. Ten cel mógłby być osiągnięty różnymi drogami. Po pierwsze, poprzez namnażanie zarodków *in vitro* z użyciem techniki elektrofuzji; po drugie, poprzez transplantację jąder komórek embrionalnych do zygoty; po trzecie, poprzez rozwój badań umożliwiających zrozumienie genetycznej kontroli mejozy, co pozwoliłoby na zastosowanie właściwych warunków hodowli i produkcję diploidalnych komórek jajowych bezpośrednio od oogonii i uzyskiwanie potomstwa bez stosowania jakiegokolwiek zapłodnienia. Jednakże, szczególnie w tym ostatnim przypadku, niezbędne jest prowadzenie intensywnych badań podstawowych.

## Literatura

1. Bavister B. D., (1982), in: *In vitro fertilization and embryo transfer*. Ed. Hafez E. S. E., Detroit, Michigan.
2. Ayalon N., (1978), *J. Reprod. Fert.*, 53, 1.
3. Bracket B. G., (1983), *Theriogenology*, 19, 1.
4. Greve T., Bosquet D., King W. A., (1984), *Theriogenology*, 22, 151.
5. Shea B. F., Janzen R. E., Alister R., (1983), *Theriogenology*, 3, 385.
6. Gondolfi F., Moor R. M., (1987), *J. Reprod. Fert.*, 81, 23.
7. Eyestone W., First N., (1988), *J. Reprod. Fert.*, (in press).
8. Fukui Y., Ono H., (1988), *Vet. Rec.*, 122, 282.
9. Tarkowski A. K., (1959), *Acta Theriol.*, 3, 191.
10. Tarkowski A. K., Wróblewska J., (1967), *J. Embryol. exp. Morph.*, 18, 155.
11. Rossant J., (1976), *J. Embryol. exp. Morph.*, 36, 163.
12. Moore N., Adams C. E., Rowson L. E. A., (1968), *J. Reprod. Fert.*, 17, 527.
13. Mustaffa L. A., Hahn J., (1978), *Dtsch. Tierärztl. Wochr.*, 85, 242.
14. Trounson A. O., Moore N. W., (1974), *Austr. J. Biol. Sci.*, 27, 505.
15. Meinecke-Tillman S., Meinecke B., (1979), *Zuchthyg.*, 14, 165.
16. Willadsen S. M., (1979), *Nature*, 227, 298.
17. Willadsen S. M., (1981), *J. Embryol. exp. Morph.*, 65, 165.
18. Lehr-Jensen H., Willadsen S. M., (1983), *Theriogenology*, 19, 49.
19. Ozil J. P., Heyman Y., Renard J. P., (1982), *Vet. Rec.*, 110, 126.
20. Williams T. J., Eladen R. P., Seidel G. E. Jr., (1982), *Theriogenology*, 17, 114.
21. Nieman H., Brem G., Sacher B., Schmidt D., Kräusslich H., (1986), *Theriogenology*, 22, 601.
22. Suzuki T., Shimchira J., (1986), *Theriogenology*, 27, 285.
23. Tsunoda T., Tokunaga T., Okubo Y., Sugie T., (1987), *Theriogenology*, 28, 49.
24. Członkowska M., Guskiewicz A., Papis K., Babusik P., Dziak J., Kossakowski M., Stężycka E., (1988), *Anim. Sci. Papers and Reports* (w druku).

25. Smoraǵ Z., Ozil J. P., Modliński J., Wierchoś E., Babusik P., Skrzyszowska M., (1985), *Medycyna Wet.*, 41, 627.
26. Willadsen S. M., (1986), *Nature*, 370, 6.
27. Harada K., Buss E. G., (1981), *Poultry Sci.*, 60, 1362.
28. DeFord L. S., Buss E. G., Todd P., Wood J. C. S., (1979), *J. Exp. Zool.*, 210, 301.
29. Kaufman M. H., Barton S., Surani M. A. H., (1977), *Nature*, 265, 53.
30. Eppig J., (1978), *Dev. Biol.*, 65, 244.
31. Stevens L. C., (1978), *Nature*, 276, 266.
32. Surani M. A. H., Barton S., Kaufman M. H., (1977), *Nature*, 270, 607.
33. Bradley A., Evans M., Kaufman M. H., Robertson E., (1984), *Nature*, 309, 255.
34. Robertson E. J., (1986), *Trends in Genetics*, 2, 9.
35. Evans M. J., Bradley A., Kuehn M. R., Robertson E., (1985), *Cild Psring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 50, 691.
36. Steward C. L., Vanek M., Wagner E.F., (1985), *EMBO J.*, 4, 3701.
37. Członkowska M., Guskiewicz A., Papis K., Dziak J., Kossakowski M., Stężycka E., (1988), *Medycyna Wet.*, 7, 114.
38. Fehilly C. B., Willadsen S. M., Tucker E. M., (1984), *Nature*, 307, 634.
39. Meinecke-Tillman S., Meinecke B., (1984), *Nature*, 307, 637.

## **Biotechnology in animal breeding and animal production. Part II – Application of embryo biotechniques**

### **Summary**

The purpose of this article is the presentation of new biotechnological methods that could be used in a genetical improvement of farm animals. Mainly, the techniques of *in vitro* fertilization and micromanipulation of embryos are described. These two techniques allow to increase the number of valuable animals, especially in the case of cattle and sheep. Besides, the micromanipulation methods make it possible to combine different zygotes or embryos and in this way create chimaeric animals and also new types or lines of mammals.

### *Adres dla korespondencji:*

Maria Członkowska, Zygmunt Reklewski, Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, 05-551 Mroków.