

ПРИЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Н.Г. Минина, Ю.А. Горбунов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 16.06.2014 г.)

Аннотация. Установлено, что применение активного принудительного мочiona коров-доноров в сухостойный период способствует увеличению выхода эмбрионов, а также телят-трансплантантов: после пересадки поздних морул – на 36,4%; ранних бластоцист – на 30,8%; поздних бластоцист – на 12,5%.

Изучен механизм действия гормонального препарата капронат оксипрогестерона (КОП-17а) пролонгированного действия на изменение гормонального статуса организма реципиентов. Выявлено, что проведение двукратной обработки препаратом за 48 часов до пересадки (5-й день цикла) и повторно через 10 дней (15-й день цикла), внутримышечно, в дозе 12 мл 12,5%-ого раствора способствует повышению приживляемости эмбрионов на 9% за счет своевременной стабилизации баланса половых гормонов в организме реципиента в наиболее ответственные для этого периоды.

Summary. It was found that the active forced physical exercise of donor cows in nonmilking period increases the yield of embryos as well as transplant-calves, by 36.4% after late morulae transplanting, by 30.8% for early blastocysts, by 12.5% for late blastocysts.

The article studies the effect of capronate oxiprogesteron (CPC-17a), a hormonal preparation of a prolonged action, on the hormonal status of a recipient. It has been stated that the double use of the preparation – 48 hours before transplantation (5th day of the cycle) and again 10 days after (15th day of the cycle) – intramuscularly at a dose of 12 ml of a 12.5% solution enhances embryos acceptance by 9% due to the timely stabilization of the sex hormones balance in the body of the recipient in the period which is the most responsible for it.

Введение. Результативность трансплантации эмбрионов связана с рядом факторов, основными из которых являются состояние яичников коров-доноров, их способность реагировать на экзогенные гонадотропины выходом качественных зародышей. От концентрации в крови прогестерона зависит их приживляемость у реципиентов, выход телят-трансплантантов.

Условия содержания коров-доноров в сухостойный период на молочно-товарных комплексах существенно влияют на обменные процессы в их организме. Вследствие безвыгульного содержания при недостатке или полном отсутствии солнечной инсоляции в организме нарушается

синтез витамина Д, что ведет к нарушению механизма усвоения из корма кальция и снижению общей функциональной деятельности организма. Несоответствие факторов микроклимата физиологическим потребностям организма, содержание животных преимущественно при искусственном освещении оказывает влияние не только на снижение молочной продуктивности, но и приводит к нарушению репродуктивной функции [2, 4].

Большинство научных исследований, посвященных трансплантации эмбрионов, проведены без учета влияния особенностей содержания коров-доноров на их клинико-физиологическое состояние организма и качество полученных от них эмбрионов.

Известно, что эффективность трансплантации эмбрионов зависит от гормонального статуса как доноров, так и реципиентов. Одним из элементов технологии трансплантации эмбрионов, способных повысить эффективность метода, является синхронность в проявлении эструса у донора и реципиента, достигаемая применением гормональных препаратов.

Причиной эмбриональных потерь на ранних стадиях развития является нарушение баланса половых гормонов в организме самок, в частности, соотношения эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови в ранний период после осеменения или трансплантации. Из эндокринных факторов наибольшее значение имеет прогестерон, который необходим для возникновения и поддержки беременности.

При изучении гормонального статуса у коров с многократными безрезультатными осеменениями Смирновой Л.Л. [6], Смысловой Н.И. и др. [7] установлено, что выживаемость эмбрионов у них зависит от соотношения эстрадиола и прогестерона в сыворотке крови в ранний период после осеменения. Так, животные с нормально развивающимися эмбрионами имели более высокую концентрацию прогестерона на 3 и 6 день после осеменения, чем животные с неоплодотворёнными ооцитами и дегенерированными эмбрионами. По другим данным, нарушение гормонального статуса организма высокопродуктивных коров-доноров приводит к изменению состава среды яйцеводов и матки, снижению секреции маточных желез, кистозному перерождению яичников [1, 9].

Для получения максимального эффекта по приживляемости пересаженных эмбрионов с минимальными затратами применяется препарат КОП-17α, который является синтетическим аналогом гормона желтого тела – прогестерона. Будучи эфиром оксипрогестерона, капронат более стоек в организме, чем прогестерон, действует медленнее и оказывает пролонгирующий эффект. После однократной внутримышечной инъекции масляного раствора капронат оксипрогестерона действие его продолжается до 14 дней. Вызывает переход слизистой оболочки матки из фазы пролиферации, вызываемой фолликулярным гормоном, в секреторную фазу.

а после оплодотворения способствует ее переходу в состояние, необходимое для развития оплодотворенной яйцеклетки. Его пролонгирующее действие способствует нормальной обеспеченности прогестероном организма животных при обработке в период за 48 часов до пересадки эмбрионов (5-й день полового цикла) и повторно на 15-й день полового цикла, что совпадает с периодами формирования желтого тела беременности, усиления секреции трофобласта, имплантации зиготы в эндометрий, начальной стадии плацентации, т.е. приходится на критические периоды внутриутробного развития [3, 5].

В научной литературе имеются довольно противоречивые мнения о роли экзогенного прогестерона в повышении приживляемости зародышей после искусственного осеменения или трансплантации эмбрионов.

Цель работы – разработать приемы повышения выхода и приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота.

Материал и методика исследований. Опыты проводили в КСУП «Племзавод «Россь» Волковысского района Гродненской области, а также в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет».

В качестве доноров использовали 30 высокопродуктивных коров черно-пестрой породы, в возрасте от 2 до 4 лактаций, живой массой 620-650 кг, с удоем по нанвысшей лактации от 10,5 до 12,5 тыс. кг молока, жирностью 3,89-4,1%. Эмбрионы получали после индукции полиовуляции препаратом ФСГ-Супер и последующим извлечением их на 7-й день.

С целью изучения влияния пассивного и активного моциона на выход эмбрионов и телят-трансплантантов было сформировано две группы коров-доноров по 15 голов в каждой. I опытная (активный моцион) – принудительное движение по скотопрогонной дорожке до пастбища и обратно (2 км) + пастьба весь сухостойный период в течение дня; II контрольная (пассивный моцион) – возможность свободного выхода на выгульную площадку в течение дня.

Для изучения влияния инъекций экзогенного прогестерона КОП-17а на приживляемость эмбрионов в организме реципиентов были сформированы 2 группы телок-аналогов по возрасту – 14-16 месяцев и живой массе 380-400 кг, по 36 голов в каждой.

Реципиентам контрольной группы внутримышечно вводили 12 мл физиологического раствора хлористого натрия, двукратно: на 5-й и 15-й день полового цикла, а реципиентам опытной группы – внутримышечно 12 мл 12,5%-го раствора КОП 17-а, двукратно: за 48 часов до пересадки и повторно на 15-й день полового цикла.

Извлечение, оценку, пересадку эмбрионов, осуществляли согласно рекомендациям по трансплантации эмбрионов в молочном и мясном

скотоводстве. Криоконсервацию эмбрионов проводили с использованием высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации [8].

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований показали, что из имеющихся 15 коров в каждой из групп, реакцию яичников, необходимую для извлечения эмбрионов, проявили 13 голов в опытной и 12 в контрольной группах. Это оказало влияние на общее количество извлеченных и пригодных для пересадки и замораживания эмбрионов.

Всего было заморожено 72 эмбриона в I опытной группе (5,54 в расчете на 1 гол.), или на 25% ($P < 0,05$) больше, чем во II контрольной (54 или 4,50 – на 1 гол.). Уровень сохранности их в обеих группах существенно не различался и составил, соответственно 90,3% (65 из 72) против 87,0% (47 из 54). Однако за счет того, что в I опытной группе отреагировало полиовуляцией дополнительно одно животное-донор, выход пригодных для пересадки эмбрионов составил 65 (в том числе 5,0 на 1 гол.). Это оказалось на 27,7% ($P < 0,01$) больше, чем во II контрольной (65 против 47), или на 21,6% ($P < 0,05$) на 1 гол. (5,0 против 3,92).

Согласно методическим требованиям, для криоконсервации отбирали эмбрионы «отличного» и «хорошего» качества. После оттаивания и морфологической оценки 9,7% от общего их числа у коров I опытной группы и 13,0% II контрольной были оценены как «непригодные к пересадке реципиентам» и выбракованы (таблица I).

Таблица 1 – Приживляемость замороженно-оттаянных эмбрионов в зависимости от стадии их развития, а также условий содержания коров-доноров

Показатель	I Опытная группа, n= 72			II Контрольная группа, n= 54		
	Стадия развития			Стадия развития		
	поздняя морула	бластоциста		поздняя морула	бластоциста	
ранняя		поздняя	ранняя		поздняя	
Кол-во замороженных эмбрионов	26	27	19	18	24	12
Из них пригодных к пересадке после оттаивания	24±2,16**	25±2,08*	16±1,31*	16±1,37	19±1,76	12±1,1
В % от числа замороженных	92,3	92,6	84,2	89,0	79,0	100
Количество реципиентов	24	25	16	16	19	12
% стельности	45,8	52,0	50,0	43,7	47,4	58,3
Получено телят	11±0,96**	13±1,12**	8±0,72	7±0,58	9±0,74	7±0,66

* $P < 0,05$; ** $P < 0,01$.

Повышение приживляемости эмбрионов у животных I группы по сравнению со II составило: по поздним морулам – 4,8%; по ранним бластоцистам – 9,9%. В связи с этим количество полученных телят-трансплантантов возросло: после пересадки поздних морул – на 36,4%; ранних бластоцист – на 30,8 ($P < 0,01$ в обоих случаях); поздних бластоцист – на 12,5%.

В ходе исследований была изучена степень влияния инъекций препарата КОП-17а на гормональный статус крови телок-реципиентов, а также на клиническую выраженность в них желтых тел.

Сопоставление содержания кортизола в крови телок 1 и 2 групп показало, что динамика секреции гормона к концу первой недели после наступления охоты была, примерно, одинаковой (таблицы 2). Уровень гормона в дальнейшем достигал максимальной концентрации к 17-му дню цикла у животных как контрольной, так и опытной групп, при дальнейшем несущественном понижении показателя к 27 дню (соответственно до 18,4 и 17,6 нг/мл).

Таблица 2 – Содержание гормонов кортизола и эстрадиола

Группы	Кортизол, нг/мл			Эстрадиол, пг/мл		
	Дни взятия проб крови					
	7-й	17-й	27-й	7-й	17-й	27-й
1 контрольная	14,81±	19,31±	18,4±	19,30±	21,80±	24,68±
	2,75	3,31	3,17	3,39	3,60	3,49
2 опытная	12,49±	18,03±	17,6±	20,33±	25,82±	28,12±
	2,19	3,15	3,07	3,42	3,78	3,91

Изучение динамики эстрадиола в сыворотке крови показало, что концентрация этих гормонов в течение полового цикла изменяется у реципиентов как опытной, так и контрольной групп. Установлено, что к 17 дню полового цикла, при наличии уже хорошо пальпируемых желтых тел, у животных обеих групп уровень концентрации эстрадиола повысился: у животных контрольной группы в среднем на 2,5 пг и составил 21,80 пг/мл, в опытной этот показатель увеличился на 5,49 пг и достиг величины, равной 25,82 пг/мл. Уровень эстрогенной активности имел тенденцию к дальнейшему повышению. К 27 дню данный показатель по сравнению с 7 днем у реципиентов контрольной группы увеличился на 5,38 пг/мл (24,68 против 19,30), а у животных опытной группы – на 7,79 пг/мл (28,12 против 20,33). При этом у животных опытной группы содержание эстрадиола в указанные дни полового цикла было выше, чем у реципиентов контрольной группы.

Концентрация прогестерона также имела тенденцию увеличиваться к 27-му дню полового цикла у телок-реципиентов опытной и контрольной групп (таблица 3).

Таблица 3 – Содержание прогестерона в крови телок-реципиентов

Группы	Прогестерона, нг/мл		
	Дни взятия проб крови		
	7-й	17-й	27-й
1 контрольная	2,08±0,13	2,16±0,21	2,51±0,36
2 опытная	2,36±0,19	3,21±0,45*	3,42±0,50

Однако у животных опытной группы, которым вводили КОП-17а, содержание прогестерона в крови было несколько выше в сравнении с реципиентами контрольной группы. При этом на 17-й день цикла содержание прогестерона у реципиентов опытной группы было достоверно выше на 1,05 нг/мл в сравнении с контролем: 3,21 против 2,16 нг/мл ($P<0,05$).

Уровень прогестерона к 27 дню у животных контрольной группы увеличился на 0,43 (2,51 против 2,08) нг/мл, а у животных опытной группы – на 1,06 (3,42 против 2,36) нг/мл.

Установлено повышение приживляемости эмбрионов у реципиентов после введения им за 48 часов до пересадки эмбрионов (5-й день полового цикла) и повторно на 15-й день гормонального препарата капронат оксипрогестерона пролонгированного действия. После пересадки эмбрионов процент стельности в опытной и контрольной группах составил 51 против 42% соответственно. Таким образом, применение капронат оксипрогестерона-17а способствует повышению приживляемости эмбрионов на 9%, что обусловлено своевременной стабилизацией баланса половых гормонов в организме реципиента в наиболее ответственные для этого периоды.

Закключение. Применение активного принудительного моциона коров-доноров эмбрионов в сухостойный период способствует увеличению выхода телят-трансплантантов: после пересадки поздних морул – на 36,4%; ранних бластоцист – на 30,8; поздних бластоцист – на 12,5%. В целях увеличения выхода телят-трансплантантов от коров-доноров следует использовать активный принудительный мочion в режиме: 2 км по скотопрогонной дорожке до пастбища и обратно (т.е. по 1 км в каждую сторону) + пастьба в течение дня.

С целью повышения приживляемости эмбрионов целесообразно проводить двукратную обработку реципиентов препаратом КОП-17а: за 48 часов до пересадки эмбрионов (5-й день цикла) и повторно через 10 дней (15-й день цикла), внутримышечно, в дозе 12 мл 12,5%-ого раствора. Это способствует увеличению количества стельных реципиентов на 7 годов (9%).

ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунов, Ю.А. Методы искусственной регуляции репродуктивной функции у коров при трансплантации эмбрионов и воспроизводстве стада / Ю.А. Горбунов: Монография. – Мн.: РУП «Белорусск. науч. ин-т внедр. новых форм хозяйств. в АПК», 2003. – 78 с.

2. Демчук, М.В. Динамическая активность коров при разных способах содержания. / М.В. Демчук // Сб. «Вопросы зооигиены и ветеринарии» / Научные труды Московской вет. академии, 2003. – Т.66. – 31-37 с.
3. Клинский, Ю.Д. Направленная регуляция и интенсификация процессов размножения у сельскохозяйственных животных в условиях промышленной технологии / Ю.Д. Клинский // Гормоны в животноводстве: тр. Всесоюз. ин-т жив-ва. – Дубровицы, 2001. – Вып. 64. – 7-8 с.
4. Науменков, А.Н. Значение молока для животных / А.Н. Науменков // Молочное и мясное скотоводство. – 2002. – №1. – 20-22 с.
5. Прокофьев, М.И. Биотехнология регуляции воспроизводительной функции у крупного рогатого скота / М.И. Прокофьев // Сб. н. тр. / Всесоюз. НИИ физиол. биохим. и питания с.-х. животных – Боровск, 2003. – т. XXVII. – 33-40 с.
6. Смирнова, Л.Л. Влияние молочной продуктивности коров на уровень воспроизводства стада / Л.Л. Смирнова // Совершенствование методов воспроизводства и искусственного осеменения сельскохозяйственных животных. – М., 2003. – 64-69 с.
7. Смылова, Н.И., Ефремова М.Н., Петраков Ю.Н. Приживляемость эмбрионов в зависимости от гормонального профиля крови телок-реципиентов / Н.И. Смылова, М.Н. Ефремова, Ю.Н. Петраков // Биотехнология в животноводстве: бюл. научн. Работ / ВИЖ. – Дубровицы, 1997. – 50-52 с.
8. Способ глубокого замораживания эмбрионов крупного рогатого скота / И.П. Шейко [и др.] // Патент № 9315 Национальный центр интеллектуальной собственности РБ. – Минск, 2007. – 48 с.
9. Nakagata, N. High survival rate of unfertilized mouse oocytes after vitrification / N. Nakagata // J Reprod. Fertil. – 1999. – 479-483 p.