

## СОВРЕМЕННЫЕ ПРИЕМЫ ПОВЫШЕНИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ И ПРИЖИВЛЯЕМОСТИ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Ю. А. ГОРБУНОВ, Н. Г. МИНИНА, Э. И. БАРИЕВА,  
В. Б. АНДАЛЮКЕВИЧ

УО «Гродненский государственный аграрный университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь, 230008

(Поступила в редакцию 22.01.2018)

*В статье рассматриваются приемы повышения жизнеспособности и приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота.*

*Установлено, что применение активного принудительного моциона 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 %. Предварительная обработка коров-доноров транквилизатором аминазином за 10–15 мин. до осеменения, в дозе 5 мл 2,5 %-го раствора на 100 кг живой массы животного, позволяет повысить жизнеспособность эмбрионов на 24 % и их приживляемость у реципиентов – на 16 %. Проведение двукратной обработки реципиентов препаратом капронат оксипрогестерона (КОП-17а) пролонгированного действия 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 %-ного раствора способствует повышению приживляемости эмбрионов на 9 %.*

**Ключевые слова:** коровы-доноры, реципиенты, моцион, эмбрионы, жизнеспособность, приживляемость.

*The article looks into the methods to increase the viability and acceptability of cattle's embryos.*

*It has been proved that the use of an active forced exercise of donor cows in the dry period helps increase the yield of embryos, as well as calf transplants: after the transplantation of late morules (36.4 %), of early blastocysts (30.8 %), of late blastocysts (12.5 %). The preliminary treatment of donor cows with a tranquilizer of aminazine 10–15 min. before insemination (5 ml of a 2.5 % solution per 100 kg of live weight of an animal) accounts for the increase in the viability of embryos by 24 % and their acceptability in recipients by 16 %. A two-time intramuscularly treatment of recipients with the Oxyprogesteroni caproas (OPC-17a) of a prolonged action 48 hours prior to the transplantation (day 5 of the cycle) and again 10 days after it (day 15 of the cycle), with 12 ml of 12.5 % solution, contributes to an increase in embryo acceptability by 9 %.*

**Key words:** donor cows, recipients, exercise, embryos, viability, acceptability.

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

**Анализ источников.** Условия содержания коров-доноров в сухой 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 приводит к нарушению репродуктивной функции [2,4].

Большинство научных исследований, посвященных трансплантации эмбрионов, проведены без учета влияния особенностей содержания коров-доноров на 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 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 Л. Л. Смирновой [6], Н. И. Смысловой 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 неоплодотворенными 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, 10].

Для получения максимального эффекта по приживляемости пересаженных эмбрионов с минимальными затратами применяется препарат КОП-17а, который является синтетическим аналогом гормона желтого тела – прогестерона. 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.

Из других важных и требующих незамедлительного решения проблем, касающихся вопросов трансплантации эмбрионов в условиях молочно-товарных комплексов, является необходимость использования препаратов, повышающих жизнеспособность и приживляемость эмбрионов

Установлено, что стрессовые воздействия сказываются не только на самочувствии животного, но и на физиологических и биохимических процессах в организме, в том числе на качестве и дальнейшей жизнеспособности и приживляемости зародышей самок. Применение препаратов-транквилизаторов благоприятно сказывается на результатах искусственного осеменения и пересадке эмбрионов, так как ослабляется скелетная мускулатура тела, понижается двигательная активность животных, полностью прекращается стресс и защитная реакция в период фиксации [9, с. 221].

**Цель работы** – разработка приемов повышения жизнеспособности и приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота.

**Материал и методика исследований.** Опыты проводили в КСУП «Племзавод «Россь»» Волковысского района Гродненской области.

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 наивысшей 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 выявления оптимальной дозы введения аминазина донорам перед извлечением у них зародышей, было сформировано 4 группы животных по 9 голов в каждой. Первая группа была контрольной. Животные перед извлечением у них эмбрионов подвергались обработке физиологическим раствором NaCl. Донорам второй группы за 10–15 мин до извлечения эмбрионов внутримышечно инъецировали по 4 мл 2,5 %-го раствора аминазина (0,1 г действующего вещества) на 100 кг живой массы, животным третьей группы – по 5 мл раствора аминазина (0,125 г вещества) и донорам четвертой группы – 6 мл раствора аминазина (0,15 г вещества).

Для изучения влияния инъекций экзогенного прогестерона КОП-17 $\alpha$  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 дни полового цикла, а реципиентам опытной группы - внутримышечно 12 мл 12,5 %-го раствора КОП 17- $\alpha$ , двукратно: за 48 часов до пересадки и повторно на 15 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 (табл. 1).

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 результате исследований была изучена эффективность применения транквилизатора аминазина коровам – потенциальным донорам эмбрионов при искусственном осеменении. Для этого за 10-15 мин до осеменения доноров обрабатывали данным препаратом в различной дозировке. Результаты исследований, направленные на изучение эффективности применения различной дозировки аминазина коровам-донорам, представлены в табл. 2.

Как видно из данных опыта, коровы-доноры контрольной группы имели в среднем 64,1% жизнеспособных и пригодных для пересадки эмбрионов. От доноров из второй группы получено 76,8 %, из третьей – 88,1 и четвертой – 79,7 % полноценных зародышей.

Таблица 2. Эффективность применения различной дозировки аминазина коровам-донорам по результатам трансплантации эмбрионов

Показатели	Группы животных			
	1 контр.	2 опыт.	3 опыт.	4 опыт.
Количество животных, п	9	9	9	9
Извлечено эмбрионов, п	53	56	59	64
Из них жизнеспособных, п	34	43	52	51
%	64,1	76,8	88,1	79,7
Проведено пересадок реципиентам, п	19	19	19	19
Установлена стельность, гол.	7	8	10	7
%	37	42	53	37

Установлено, что применение предложенного способа повышения жизнеспособности эмбрионов, включающего предварительную обработку коров-доноров транквилизатором аминазином за 10-15 мин до осеменения, в дозе 5 мл 2,5 %-го раствора на 100 кг живой массы животного (3 опытная группа), позволяет повысить жизнеспособность эмбрионов на 24 % и их приживляемость у реципиентов – на 16 % в сравнении с контролем.

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.

Установлено, что концентрация эстрадиола и прогестерона в течение полового цикла изменяется у реципиентов как опытной, так и контрольной групп (табл. 3). Так, 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-м 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 дню полового цикла у телок-реципиентов опытной и контрольной групп (табл. 3).

Таблица 3. Содержание гормонов эстрадиола и прогестерона у реципиентов

Группы	Эстрадиол, пг/мл			Прогестерона, нг/мл		
	дни взятия проб крови					
	7-й	17-й	27-й	7-й	17-й	27-й
1 контрольная	19,30± 3,39	21,80± 3,60	24,68± 3,49	2,08± 0,13	2,16± 0,21	2,51± 0,36
2 опытная	20,33± 3,42	25,82± 3,78	28,12± 3,91	2,36± 0,19	3,21± 0,45*	3,42± 0,50

Однако у животных опытной группы, которым вводили КОП-17 $\alpha$ , содержание прогестерона в крови было несколько выше в сравнении с реципиентами контрольной группы. При этом на 17 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-17 $\alpha$  способствует повышению приживляемости эмбрионов на 9 %, что обусловлено своевременной стабилизацией баланса половых гормонов в организме реципиента в наиболее ответственные для этого периоды.

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

Предварительная обработка коров-доноров транквилизатором аминазином за 10–15 мин до осеменения, в дозе 5 мл 2,5 %-го раствора на 100 кг живой массы животного позволяет повысить жизнеспособность эмбрионов на 24 % и их приживляемость у реципиентов – на 16 %.

С целью повышения приживляемости эмбрионов целесообразно проводить двукратную обработку реципиентов препаратом КОП-17 $\alpha$ : 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 %-ного раствора. Это способствует увеличению количества стельных реципиентов на 7 голов (9 %).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Горбунов, Ю. А. Методы искусственной регуляции репродуктивной функции у коров при трансплантации эмбрионов и воспроизводстве стада / Ю. А. Горбунов. – Минск, 2003. – 78 с.
2. Демчук, М. В. Динамическая активность коров при разных способах содержания. / М. В. Демчук // Вопросы зоогигиены и ветеринарии. – 2003. – Т.66.– С. 31–37.
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. – С.7–8.
4. Науменков, А. Н. Значение моциона для животных / А. Н.Науменков // Молочное и мясное скотоводство. – 2002. - №1. – С.20–22.
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. – С.33–40.
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. – С.64–69.
7. Смыслова, Н. И., Ефремова М. Н., Петраков Ю. Н. Приживляемость эмбрионов в зависимости от гормонального профиля крови телок-реципиентов / Н. И. Смыслова, М. Н. Ефремова, Ю. Н. Петраков // Биотехнология в животноводстве: бюл. научн. Работ / ВИЖ. – Дубровицы, 1997. – С. 50–52.
8. Способ глубокого замораживания эмбрионов крупного рогатого скота / И. П. Шейко [и др.] // Патент № 9315 Национальный центр интеллектуальной собственности РБ. – Минск, 2007.– С. 48.
9. Червяков, Д. Н. Фармакология с рецептурой (аминазин) / Д. Н. Червяков, А. Н. Терезова. – М. : Колос, 2001. – 348 с.
10. Nakagata, N. High survival rate of unfertilized mouse oocytes after vitrification / N. Nakagata // J Reprod. Fertil. – 1999. – P. 479–483.