

свиноводстве Беларуси / О. Я. Василюк [и др.] // Доклады Нац. акад. наук Беларуси. – 2022. – Т. 66, № 2: март - апрель. – С. 247-256. DOI 10.29235/1561-8323-2022-66-2-247-256

9. Генетические профили свиней белорусской крупной белой породы в племенных предприятиях Республики Беларусь / О. Я. Василюк [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси : сб. науч. тр. – Жодино, 2023. – Т. 58, ч. 1. – С. 39-49.

Поступила 3.04.2024 г.

УДК 636.2. 034:612.02

Л.В. ГОЛУБЕЦ¹, Ю.А. ЯКУБЕЦ², А.С. ДЕШКО², Е.Л. ГАЙСЕНОК³,
В.В. КАСНИЦКИЙ³

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ КОРОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ИХ КАЧЕСТВА, СТАДИИ РАЗВИТИЯ И СЕЗОНА ГОДА

*¹Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, Жодино, Республика Беларусь*

*²Гродненский государственный аграрный университет,
Гродно, Республика Беларусь*

³ОАО «Гастелловское», а.г. Сеница, Республика Беларусь

В современном молочном и мясном животноводстве использование трансплантации эмбрионов позволяет обеспечивать ускоренное выведение животных с высокими показателями продуктивности, что открывает огромные возможности в разведении и воспроизводстве крупного рогатого скота для повышения эффективности племенной работы. Над повышением уровня результативности данной технологии работают уже одно не десятилетие, однако до сих пор ряд проблем технологического и биологического характера остаётся нерешённым. Целью наших исследований явилось изучение влияния различных паратипических факторов на приживляемость эмбрионов. Работа проводилась в течение 2019-2020 годов в ОАО «Гастелловское» Минского района. В качестве доноров использовались лактирующие полновозрастные коровы и тёлки голштинской породы в возрасте 11-12 месяцев. По результатам исследований установлено 249 стельных реципиентов из 476 эмбриопересадок, что составило 52,3 %. Пересадка эмбрионов в зимний период снижала уровень стельности на 11,0 п.п., 4,9 и 9,2 п.п. по сравнению с весной, летом и осенью соответственно. Наиболее эффективным оказался сентябрь месяц, уровень стельности в котором составил 73,9 %.

Ключевые слова: донор, реципиент, морула, бластоциста, качество, приживляемость.

L.V. GOLUBETS¹, Y.A. YAKUBETS², A.S. DESHKO²,
E.L. GAYSENOK³, V.V. KASNITSKY³

COWS EMBRYO TRANSFER EFFICIENCY DEPENDING ON THEIR QUALITY, STAGE OF DEVELOPMENT AND SEASON OF THE YEAR

*¹Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences
of Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus*

²Grodno State Agrarian University, Grodno, Republic of Belarus

³JSC "Gastellovskoe", Senitsa agro-town, Republic of Belarus

In modern dairy and beef cattle breeding, embryo transfer allows for the accelerated breeding of animals with high productivity rates, which provides vast opportunities in breeding and reproduction of cattle to improve the efficiency of breeding work. This technology has been worked on for more than a decade, but still a number of technological and biological problems remain unsolved. The aim of our research was to study the effect of various paratypical factors on embryo survival rate. The work was carried out during 2019-2020 in JSC "Gastellovskoe", Minsk district. Holstein lactating mature cows and heifers aged 11-12 months were used as donors. According to the results of the research, 249 pregnant recipients were identified out of 476 embryo transfers, which amounted to 52.3%. Embryo transfer in winter decreased the pregnancy rate by 11.0 p.p., 4.9 p.p. and 9.2 p.p. compared to spring, summer and fall, respectively. September was the most effective month, with a pregnancy rate of 73.9%.

Keywords: donor, recipient, morula, blastocyst, quality, survival rate.

Введение. В современном молочном и мясном животноводстве использование трансплантации эмбрионов позволяет сохранять и размножать уникальный племенной генофонд, обеспечивать ускоренное выведение животных с высокими показателями продуктивности, что открывает огромные возможности в разведении и воспроизводстве крупного рогатого скота как с целью повышения эффективности племенной работы, так и увеличения средней продуктивности стада в короткие сроки [1].

Углублённые исследования репродуктивной функции животных, её возможная регуляция, микрохирургические манипуляции с зародышами показали, что метод трансплантации является основой ускоренного воспроизводства высокопродуктивных коров [2]. Поэтому практическое применение этого метода в молочном и мясном скотоводстве может обеспечить интенсивное размножение животных с высокой генетической ценностью, ускоренное получение высокоценного племенного молодняка, матерями которого являются выдающиеся родоначальницы

[3]. Путём массовой пересадки эмбрионов малоценным аборигенным животным сельхозпроизводитель уже через 9 месяцев может получить генетически высокоценный молодняк, адаптированный к местной микрофлоре и климатическим условиям местности. Согласно данным Международного общества по трансплантации эмбрионов (International Embryo Transfer Society, IETS), в 2022 году в мире произведено более двух миллионов эмбрионов *in vivo* и *in vitro*, а если быть точнее – 2011480 шт., в т. ч. 394509 эмбрионов *in vivo* (IVD) и 1616971 *in vitro* (IVP), проведено 1558482 эмбриопересадки (368783 – IVD и 1189699 – IVP) [4], что объективно доказывает, важное хозяйственное значение данного направления для отрасли скотоводства как на текущий момент так и на перспективу.

В программах по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота экономически важными являются максимально возможные значения её результативности, работа над повышением уровня которой длится уже одно не десятилетие. Поводом для этого является ряд нерешённых до сих пор проблем технологического и биологического характера [5]. Так, стимуляция полиовуляции яичников у коровы-донора по-прежнему характеризуются высокой степенью вариабельности яичникового ответа, около одной трети доноров не реагирует на введённые гонадотропины, фиксируется значительная часть нулевых извлечений, по-прежнему присутствует высокий уровень потерь эмбрионов при их нехирургическом извлечении из репродуктивных органов донора, достигающий иногда 30 и более процентов, отмечается не меняющийся за последние десятилетия показатель приживляемости свежеполученных эмбрионов после их пересадки реципиентам и находящийся в пределах 55-60 %, и ещё более низкий уровень приживляемости замороженных эмбрионов, трансплантированных после их оттаивания – 45-50 %. Поэтому в мировом научном сообществе по-прежнему большое внимание уделяется изучению вопросов, направленных на повышение эффективности рассматриваемой технологии, однако проведённые и проводимые до настоящего времени исследования не привели к её ощутимому улучшению, что и определяет актуальность данной темы.

Целью наших исследований явилось изучение влияния различных паратипических факторов на приживляемость эмбрионов.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в ОАО «Гастелловское» Минского района в 2019-2020 годах. В качестве доноров использовались лактирующие полновозрастные коровы и тёлки голштинской породы в возрасте 11-12 месяцев. Суперовуляцию вызывали по классической схеме путём 10-кратной внутримышечной инъекции фолликулостимулирующего гормона Плюсета в сочетании с

аналогом простагандина F_{2α} эстрофан. Извлекали эмбрионы на 6-8-й дни после первого осеменения с использованием катетеров «Нойштадт» и фосфатно-солевого буфера Дюльбекко. Поиск, оценку качества и стадию развития эмбрионов проводили под микроскопом «Olympus» 61Z при 20- и 90-кратном увеличении соответственно. Пересадку проводили тёлкам-реципиентам в возрасте 14-16 месяцев с синхронизированным половым циклом по отношению к донорам.

Результаты эксперимента и их обсуждение. В таблице 1 приведены результаты работы по трансплантации эмбрионов за двухлетний период. За это время было проведено 476 эмбриопересадок, в том числе 379 пересадок свежими эмбрионами и 97 – заморожено-оттаянными. По результатам обследования установлено 249 стельных реципиентов, что составило 52,3 %. При этом после пересадки свежих эмбрионов стельными оказались 209 голов или 55,1 %, что на 14,9 п.п. выше по сравнению с пересадкой заморожено-оттаянных – 40,2 % (39 голов).

Таблица 1 – Эффективности трансплантации эмбрионов в целом

Показатели		
Проведено пересадок всего, n		476
в том числе	свежих эмбрионов, n	379
	заморожено-оттаянных, n	97
Стельных реципиентов, n		249
в том числе	после пересадки свежих эмбрионов, n	209
	после пересадки заморожено-оттаянных, n	39
Уровень стельности, %		52,3
в том числе	после пересадки свежих эмбрионов,	55,1
	после пересадки заморожено-оттаянных	40,2

Качество и стадии развития эмбрионов являются одними из тех критериев, которые во многом определяют последующую эффективность их трансплантации реципиентам. В таблице 2, приведённой ниже, представлены результаты эффективности трансплантации эмбрионов в зависимости от их качества и стадии развития. Как показывает их анализ, уровень приживляемости эмбрионов отличного качества составил 58,0 %, что на 4,6 п.п. выше по сравнению с трансплантацией эмбрионов хорошего качества и на 18,4 п.п. выше по сравнению с эмбрионами удовлетворительного качества. Уровень стельности реципиентов после пересадки бластоцист в целом оказался выше по сравнению с приживляемостью морул на 9,4 п.п., при этом приживляемость бластоцист отличного качества, в целом, оказалась выше приживляемости морул аналогичного качества на 3 п.п., уровень стельности после трансплантации хороших бластоцист превышал аналогичный показатель хороших по

качеству морул на 6,5 п.п., а бластоцисты удовлетворительного качества превышали уровень приживляемости морул удовлетворительного качества на 18,7 п. п.

Таблица 2 – Взаимовлияние качества и стадии развития эмбрионов на эффективность их трансплантации

Качество и стадия развития эмбрионов			Количество пересадок, п	Стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
отличное	Мо II		108	61	56,5
	Бл, всего		111	66	59,5
	в том числе	Бл I	13	6	46,1
		Бл II	48	28	58,3
		Бл III	35	25	71,4
		Бл IV	11	6	54,5
Бл V		4	1	25,0	
Итого			219	127	58,0
хорошее	Мо II		110	57	51,8
	Бл, всего		36	21	58,3
	в том числе	Бл I	15	10	66,7
		Бл II	15	8	53,3
		Бл III	6	3	50,0
		Бл IV	-	-	-
Бл V		-	-	-	
Итого			146	78	53,4
удовлетворительное	Мо II		81	28	34,6
	Бл, всего		30	16	53,3
	в том числе	Бл I	9	7	77,8
		Бл II	12	6	50,0
		Бл III	7	3	42,9
		Бл IV	1	-	-
Бл V		1	-	-	
Итого			111	44	39,6

Примечание: *Мо II- морула поздняя, Бл I – бластоциста ранняя, Бл II – бластоциста поздняя, Бл III – бластоциста экспандированная, Бл IV – бластоциста сильно экспандированная, Бл V – бластоциста выпедшая из зоны пеллюцида.

Приживляемость морул отличного качества превышала приживляемость морул хорошего качества на 4,9 п. п., а морул удовлетворительного качества – на 22,1 п. п. Среди бластоцист в среднем более низкий показатель оказался у бластоцист удовлетворительного качества, который составил 53,3 %, что на 6,2 ниже по сравнению с бластоцистами отличного качества и на 5 п. п. по сравнению с бластоцистами хорошего качества. Среди бластоцист разных стадий развития и качества

наиболее высокий результат приживляемости отмечен у экспандированных blastоцист отличного качества с показателем 71,4 % и ранних blastоцист удовлетворительного качества с уровнем приживляемости 77,8 %, что выше по сравнению с другими стадиями развития и качеством на 4-46,4 и 11,1-52,8 п.п. соответственно.

Как было установлено hfytt, на эффективность метода оказывает влияние ряд факторов, как внутреннего характера, связанного непосредственно с самим животным, его физиологией и эмбрионом, так и внешнего, связанного с окружающей средой и так или иначе влияющих на физиологию животного [6].

Климатические условия на уровнях, выходящих за пределы комфортного состояния животного, дестабилизируют его физиологические параметры и приводят к тепловому стрессу [7], а следовательно, к снижению продуктивности и оплодотворяемости. В ряде исследований сообщалось о сильном сезонном влиянии на выход и качество эмбрионов у крупного рогатого скота [6, 8, 9].

Анализ полученных нами данных исследований показывает, что более низкие результаты по приживляемости эмбрионов были получены зимой – 46,7 % против 57,7 %, 51,6 и 55,8 % весной летом и осенью соответственно. Самый высокий уровень стельности отмечен в сентябре – 73,9 % (34/46). Выше пятидесяти процентов получен результат в апреле, мае, июне и октябре – 66,7 % (6/9), 57,1 % (8/14), 58,4 % (45/77) и 56,4 % (22/39) соответственно. Трансплантация эмбрионов в марте снизила их имплантацию на 8,6-40,6 п.п. Весной наиболее успешными были пересадки в апреле и мае (66,7 и 57,1 %), летом – в июне (58,4 %), осенью – в сентябре и октябре (73,9 и 56,4 %), зимой – в декабре (47,9 %).

Разработка метода долговременного хранения зародышей при низких температурах открыла новые аспекты в технологии трансплантации эмбрионов, а именно: расширила возможности использования лучших мировых генетических ресурсов, представила возможность при отсутствии реципиентов на некоторое время (до их появления) сохранять эмбрионы в криобанке, появилась возможность сохранения генофонда редких и исчезающих пород, внесла в работу по трансплантации элемент планирования, устранила необходимость в содержании больших стад или групп реципиентов [10, 11].

В таблице 3, приведённой ниже, представлены результаты криоконсервации эмбрионов на разных стадиях развития. Анализ представленных данных показывает, что уровень приживляемости заморожено-оттаянных морул снижается по сравнению со свежими на 8,4 п. п., а заморожено-оттаянных blastоцист по сравнению со свежими – на 27 п.п.

Приживляемость заморозено-оттаянных морул была на 6,5 п.п. выше по сравнению с заморозено-оттаянными бластоцистами. Среди бластоцист наиболее высокие показатели приживляемости показали ранние бластоцисты (БлI) – 50,0 %, что выше по сравнению с поздними бластоцистами (БлII) на 11,9 п.п. и экспандированными (БлIII) на 37,5 п.п. По сравнению со свежими заморозено оттаянные бластоцисты снизили приживляемость следующим образом: ранние бластоцисты – на 17,7 п.п., поздние – на 24,9, экспандированные – на 62,5 п.п.

Таблица 3 – Сравнительная эффективность трансплантации свежих и заморозено-оттаянных эмбрионов

Показатели			Количество пересадок, п	Стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
Морулы поздние					
свежие			238	120	50,4
заморозено-оттаянные			61	26	42,6
Бластоцисты					
свежие, всего			141	89	63,1
заморозено-оттаянные, всего			36	13	36,1
из них	Бл I	свежие	31	21	67,7
		заморозено-оттаянные	6	3	50,0
	Бл II	свежие	54	34	63,0
		заморозено-оттаянные	21	8	38,1
	Бл III	свежие	40	30	75,0
		заморозено-оттаянные	8	1	12,5

Закключение. Пересадка эмбрионов отличного качества позволяет повысить уровень стельности на 4,6 и 18.4 п.п. по сравнению с эмбрионами хорошего и удовлетворительного качества. Уровень приживляемости бластоцист на 9,4 п.п. выше по сравнению с морулами.

Пересадка эмбрионов в зимний период снижала уровень стельности на 11,0 п.п., 4,9 и 9,2 п.п. по сравнению с весной, летом и осенью соответственно. Наиболее эффективным оказался сентябрь месяц, уровень стельности в котором составил 73,9 %.

Уровень приживляемости свежих эмбрионов оказался на 14,9 п.п. выше по сравнению с пересадкой заморозено-оттаянных – 55,1 %

против 40,2 %. Имплантация деконсервированных морул снижается по сравнению со свежими на 8,4 п.п., а бластоцист – на 27,0 п.п. Уровень стельности после трансплантации заморожено-оттаянных морул повышается по сравнению с бластоцистами на 6,5 п.п.

Литература

1. Development of bovine embryos derived from reproductive techniques / M. L. V. Alberto [et al.] // *Reproduction fertility and development*. – 2013. – Vol. 25(6). – P. 907-917. DOI: 10.1071/RD12092.
2. Gadisa, M. Review on embryo transfer and its application in animal production / M. Gadisa, W. Furgasa, M. Duguma // *Asian Journal of Medical Science Research*. – 2019. – Vol. 1(1). – P. 4-12.
3. Gordon, I. Reproductive technologies in farm animals / I. Gordon ; University College. – 2nd Edition. – Dublin, 2017. – 350 p.
4. Viana, J. H. M. Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. The main trends for the world embryo industry still stand / J. H. M. Viana // *Embryo Technology Newsletter*. – 2023. – Vol. 41(4).
5. Bó, G. A. Strategies to increment in vivo and in vitro embryo production and transfer in cattle / G. A. Bó, A. Cedeño, R. J. Mapletoft // *Anim. Reprod.* – 2019. – Vol. 16. – P. 411–422. DOI: 10.21451/1984-3143-AR2019-0042
6. The effect of internal and external factors on bovine embryo transfer results in a tropical environment / B. Béneyei [et al.] // *Anim. Reprod. Sci.* – 2006. – Vol. 93. – P. 268–279. DOI: 10.1016/j.anireprosci.2005.07.012
7. Molina-Coto, R. El estrés calórico afecta el comportamiento reproductivo y el desarrollo embrionario temprano en bovinos / R. Molina-Coto // *Nutr. Anim. Trop.* – 2017. – Vol. 11(1):1. DOI: 10.15517/nat.v11i1.28280
8. Bastidas, P. Seasonal effects on embryo transfer results in Brahman cows / P. Bastidas, R. D. Randel // *Theriogenology*. – 1987. – Vol. 28. – P. 531–540. DOI: 10.1016/0093-691X(87)90258-5
8. Seasonal effect on zebu embryo quality as determined by their degree of apoptosis and resistance to cryopreservation / Y. C. Marquez [et al.] // *Reprod. Domest. Anim.* – 2005. – Vol. 40. – P. 553–558. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2005.00632.x.
10. Arav, A. Cryopreservation of oocytes and embryos / A. Arav // *Theriogenology*. – 2014. – Vol. 81(1). – P. 96–102. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2013.09.011.
11. Gordon, I. Reproductive technologies in farm Animals / I. Gordon // *In vitro embryo production*. – 2nd ed. – Cambridge : CABI Pub, 2017. – P. 100–101.

Поступила 19.02.2024