

подвижность спермиев в течение 72 часов хранения эякулятов на 42,8% (с 9,0 до 5,15 балла) ( $P < 0,01$ ), в то время как повреждаемость акросом спермиев увеличилась только в 2,3 раза ( $P < 0,05$ ).

Анализируя частоту встречаемости акросомных повреждений, можно выявить тенденцию увеличения этого показателя за время хранения спермы от 0 после 12 часов до 100% после 72 часов во всех 3-х группах. При этом через 24 часа хранения спермы наименьшая частота встречаемости повреждений акросом (55%) отмечена во II группе, а через 48 часов (85%) – в III группе.

Таким образом, применение в составе разбавителя спермы хряков полигена и гентамицина снижает повреждаемость акросом спермиев на 0,38-1,0% и повышает их подвижность на 0,15 балла после 72 часов хранения по сравнению со спермосаном.

1. Беликов А.А. Влияние *Ps. aeruginosa* на переживаемость спермиев, оплодотворяемость и многоплодие свиноматок // Вісник аграрної науки Причорномор'я. Актуальні проблеми розвитку галузі свинарства. – Николаев, 2002. – С. 139-141.
2. Bronicka A., Dembinski Z. Aktualne kryteria oceny oraz uwarunkowania jakosci nasenia knura // Med. Weter. – 1999. – 55. – №7. – S. 436-439.
3. Pejsak Z. Andrologia. – Krakow: Wyd. Platan, 1996. – 218 s.
4. Санирующие препараты для повышения качества спермы хряков-производителей / С.В. Советкин, А.А. Нарижный и др. // Ветеринария. – 2000. – №6. – С. 48-50.

УДК 636.2.034:612.6.02

А.И. БУДЕВИЧ, кандидат сельскохозяйственных наук

## **ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ПРИЖИВЛЯЕМОСТИ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

Разработана формула комплексной оценки качества эмбрионов крупного рогатого скота, позволяющая с достаточно высокой точностью прогнозировать приживляемость зародышей коров-доноров.

Ключевые слова: донор, зародыш, качество, коэффициент, морфологическая оценка, приживляемость, реципиент, стадия развития, трансплантация, шкала, эмбрион.

Биотехнологией трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота предусматривается проведение предварительной оценки биоматериала с целью определения его дальнейшего наиболее эффективного использования в получении телят-трансплантантов, а также с целью прогнозирования результатов приживляемости и выхода приплода.

В настоящее время наиболее распространенным тестом полноцен-

ности 7-8-дневных зародышей коров-доноров является морфологическая оценка, основанная на определении возраста эмбрионов и их качества. При этом учитываются такие стадии развития зародышей, как ранняя и поздняя морула и ранняя, поздняя и экспандированная бластоциста с 5-балльной оценкой по качеству: отличные, хорошие, удовлетворительные, условно-годные и неудовлетворительные. Были разработаны методы оценки эмбрионов с использованием витальных красителей, которые не нашли широкого применения в практике трансплантации зародышей вследствие сложных методик применения. Культивирование зародышей, как метод оценки, эффективно при разработке питательных сред, изучении влияния различных факторов, однако требует больших затрат времени, что в производственных условиях проведения биотехнологических работ неприемлемо [1, 4, 8].

Наряду с указанными методами оценки зародышей в качестве прогнозного теста предлагаются к применению способы оценки эмбрионов, основанные на гормональном и биохимическом статусе крови доноров, а также на концентрации некоторых гормонов в молоке животных перед началом гормональной обработки [2, 3, 6, 9, 10], так как, по мнению некоторых исследователей [6], практическое использование методов прогнозирования эмбриопродуктивности доноров позволяет вести отбор животных, от которых реально получение качественного биоматериала, при этом сокращаются затраты средств на препараты, значительно облегчается труд обслуживающего персонала.

Тестом прогнозирования приживляемости эмбрионов также могут служить гормональные и биохимические показатели крови реципиентов, полученные перед пересадкой зародышей на 6-й день полового цикла животных [6, 5, 7].

Однако соотношение количества отличных, хороших и удовлетворительных зародышей, полученных от доноров, может быть различно, и если в нем преобладают эмбрионы удовлетворительного качества на стадии морулы, то можно предположить, что приживляемость их (даже при условии удачного подбора реципиентов) окажется существенно ниже по сравнению с хорошими и отличными бластоцистами.

Накопленный многолетний опыт работы в области трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота позволил сделать попытку совмещения математическим методом некоторых показателей морфологической оценки эмбрионов для возможного более раннего прогнозирования эффективности биотехнологии пересадки высокоценного генетического материала.

В связи с вышеизложенным целью исследований явилась разработ-

ка формулы и шкалы прогнозирования приживляемости зародышей крупного рогатого скота с учетом стадии развития эмбрионов и их качества.

Исследования проводились в период 1997-2000 гг. в РУСП «Племзавод Красная Звезда» Минской, РСУП «Племзавод Кореличи» Гродненской областей и лаборатории воспроизводства и генной инженерии сельскохозяйственных животных РУП «Институт животноводства Национальной академии наук Беларуси». В качестве доноров использовались клинически здоровые коровы черно-пестрой породы в возрасте от 4 до 10 лет живой массой 550-650 кг с удоем по наивысшей лактации не ниже 7 тыс. кг молока жирностью 3,7% и более. Реципиентами служили телки случного возраста живой массой 360-380 кг. Основные элементы технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота (индукция полиовуляции, извлечение и пересадка эмбрионов) осуществлялись согласно методическим рекомендациям [1].

В табл. 1 представлены данные по приживляемости эмбрионов в зависимости от их возраста и качества. Установлено, что по мере снижения качества эмбрионов показатель стельности реципиентов также снижается (с 56,3% при пересадке отличных зародышей до 31,0% при трансплантации удовлетворительных эмбрионов). Отмечается зависимость приживляемости зародышей от стадии их развития. Стельность телок-реципиентов была выше при пересадке поздних и экспандированных бластоцист (57,1-71,4%).

Таким образом, как стадия развития эмбрионов, так и их качество оказывают влияние на эффективность трансплантации зародышей крупного рогатого скота.

На втором этапе исследований при разработке формулы и шкалы (табл. 2) прогнозирования приживляемости при анализе морфологически полноценных эмбрионов использовали следующие коэффициенты по 1-балльной системе: 1 – эмбрион отличного качества; 0,5 – хорошо; 0,1 – удовлетворительного качества, а при анализе по стадиям развития применяли коэффициенты: 1 – экспандированная бластоциста; 0,8 – поздняя бластоциста; 0,6 – ранняя бластоциста; 0,4 – поздняя морула и 0,2 – ранняя морула.

Исходя из этого была разработана следующая формула для расчета коэффициента комплексной оценки качества эмбрионов:

Таблица 1

## Влияние качества и стадии развития эмбрионов на их приживляемость после трансплантации

Стадия развития эмбрионов	Качество эмбрионов						Итого	
	Отличные		Хорошие		Удовлетворительные		Сделано пересадок, п	Приживляемость, п-,%
	Сделано пересадок, к, п	Приживляемость, п-,%	Сделано пересадок, к, п	Приживляемость, п-,%	Сделано пересадок, п	Приживляемость, п-,%		
Морула ранняя	3	1-33,3	5	2-40,0	5	-	13	3-23,1
Морула поздняя	6	3-50,0	8	4-50,0	10	3-30,0	24	10-41,7
Бластоциста ранняя	12	6-50,0	12	5-41,7	7	3-42,9	31	14-45,2
Бластоциста поздняя	20	12-60,0	14	8-57,1	7	3-42,9	41	23-56,1
Бластоциста экпандированная	7	5-71,4	3	2-66,7	-	-	10	7-70,0
Всего	48	27-56,3	42	21-50,0	29	9-31,0	119	57-47,9

Таблица 2

## Шкала прогнозирования приживляемости свежеполученных эмбрионов крупного рогатого скота

	Коэффициент комплексной оценки					
	0,15-0,20	0,21-0,25	0,26-0,30	0,31-0,35	0,36-0,40	0,41-0,45
Приживляемость, %	0-5,9	6-10,9	11-15,9	16-20,9	21-25,9	26-30,9
	Коэффициент комплексной оценки					
	0,61-0,65	0,66-0,70	0,71-0,75	0,76-0,80	0,81-0,85	0,86-0,90
Приживляемость, %	46-50,9	51-55,9	56-60,9	61-65,9	66-70,9	71-75,9
					0,91-0,95	0,96-1
					76-80,9	81-85,9
						-
						-

$$K_k = (K_b + K_c) / 2 \text{ или}$$

$$K_k = \left[ \frac{(A \times 1) + (B \times 0,5) + (B \times 0,1)}{n} + \frac{(\Gamma \times 0,2) + (D \times 0,4) + (E \times 0,6) + (Ж \times 0,8) + (3 \times 1)}{n} \right] / 2,$$

где:  $K_k$  – коэффициент комплексной оценки качества;

$$K_b = \frac{(A \times 1) + (B \times 0,5) + (B \times 0,1)}{n}$$

где  $K_b$  – коэффициент морфологической балльной оценки;

$$K_c = \frac{(\Gamma \times 0,2) + (D \times 0,4) + (E \times 0,6) + (Ж \times 0,8) + (3 \times 1)}{n}$$

где  $K_c$  – коэффициент возрастной стадии развития;

А – количество 5-балльных эмбрионов, шт.;

Б – количество 4-балльных эмбрионов, шт.;

В – количество 3-балльных эмбрионов, шт.;

Г – количество ранних морул, шт.;

Д – количество поздних морул, шт.;

Е – количество ранних бластоцист, шт.;

Ж – количество поздних бластоцист, шт.;

З – количество экспандированных бластоцист, шт.;

п – общее количество эмбрионов, шт.

Для проверки сравнительной эффективности предложенной формулы были взяты данные таблицы 1 расчета прогнозируемой приживаемости зародышей:

1. Всего было пересажено эмбрионов:

а) отличных –  $48 \times 1,0$  (коэффициент) = 48;

б) хороших –  $42 \times 0,5 = 21$ ;

в) удовлетворительных –  $29 \times 0,1 = 2,9$ .

2. Расчет коэффициента морфологической балльной оценки качества ( $K_b$ ):  $48 + 21 + 2,9 = 71,9$ ;

$71,9 : 119$  (общее количество эмбрионов) = 0,60.

3. Всего было пересажено эмбрионов:

а) экспандированных бластоцист –  $10 \times 1,0$  (коэффициент) = 10;

б) поздних бластоцист –  $41 \times 0,8 = 32,8$ ;

в) ранних бластоцист –  $31 \times 0,6 = 18,6$ ;

г) поздних морул –  $24 \times 0,4 = 9,6$ ;

д) ранних морул –  $13 \times 0,2 = 2,6$ .

4. Расчет коэффициента возрастной стадии развития ( $K_c$ ):  $10 + 32,8 + 18,6 + 9,6 + 2,6 = 73,6$ ;

$73,6 / 119$  (общее количество эмбрионов) = 0,62.

5. Расчет коэффициента комплексной оценки качества ( $K_k$ ):  $(0,60 +$

0,62) / 2 = 0,61.

По шкале (табл. 2) находим расчетный показатель приживляемости, соответствующий данному коэффициенту. Он составляет 46-50,9%. Фактическая приживляемость составила 47,9%.

Вышеприведенные данные свидетельствуют, что полученная приживляемость после пересадки эмбрионов и прогнозная, рассчитанная исходя из качества и стадии развития зародышей согласно приведенной формуле и шкале приживляемости, совпадают.

Выводы. 1. Морфологическая оценка эмбрионов крупного рогатого скота является основным тестом дальнейшего эффективного использования биоматериала в технологии пересадки зародышей.

2. Стадия развития эмбрионов и их качество влияют на показатель приживляемости биоматериала после трансплантации: стельность реципиентов после пересадки отличных и хороших бластоцист выше по сравнению с морулами того же качества.

3. Разработанная формула комплексной оценки качества эмбрионов и шкала приживляемости зародышей позволяют с достаточно высокой точностью прогнозировать результативность пересадок в биотехнологии трансплантации зародышей крупного рогатого скота.

1. Биотехнология получения и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота // Методические рекомендации / Подгот.: И.И. Будевич, Н.Ф. Жук, А.И. Будевич и др. – Жодино, 2000. – 42 с.

2. Бойко А.Г. Зависимость результатов суперовуляции у коров-доноров эмбрионов от уровня активности аланинаминотрансферазы плазмы крови // Задачи молодых ученых в повышении эффективности с.-х. производства: Материалы 3-й респ. науч.-практ. конф. молодых ученых и специалистов (животноводство, ветеринария). – Алма-Ата, 1991. – С. 8-9.

3. Ибрагимов Ю. Факторы, влияющие на эффективность гормонального вызывания суперовуляции, качество и приживляемость эмбрионов при трансплантации // Бюлл. науч. работ / ВИЖ. – Дубровицы, 1991. – Вып. 104. – С. 31-36.

4. Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – М.: 1987. – 96 с.

5. Курькин Е.В. Зависимость приживляемости эмбрионов от качества желтых тел, их функциональной активности и места введения эмбрионов в рог матки реципиентов // Биотехнология и воспроизводство в животноводстве: Тез. докл. науч.-практ. конф. (27-28 июня 1991 г.). – Горки, 1991. – С. 39-40.

6. Леткевич Л.Л. Прогнозирование эффективности трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота: Дисс. ... канд. с.-х. наук: 06.02.01. – Жодино, 1993. – 125 с.

7. Сергеев Н.И., Хилькевич С.Н., Шириев В.М. Влияние некоторых факторов на приживляемость эмбрионов // Молочное и мясное скотоводство. – 1991. – № 1. – С. 28-29.

8. Технология трансплантации эмбрионов в молочном и мясном скотоводстве // Методические рекомендации / Подгот.: И.И. Будевич, В.С. Антонюк, Н.Ф. Жук, Л.В. Голубец, А.И. Будевич и др. – Жодино, 1996. – 24 с.

9. Юращик С.В. Влияние фолликулостимулирующих гормонов пролонгированного

действия на эффективность эмбриотрансплантации и воспроизводительную функцию коров-доноров: Дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.01. – Жодино, 2000. – 116 с.

10. Saumande J. Les explorations hormonales chez les bovines dans le cadre de traitements des stimulations de l'ovaire // *Contracept. – fertile. – sex.* – 1990. – V. 18. – №9. – P. 699-710.

УДК 636.2.(4):212.64.089.67

Л.В. ГОЛУБЕЦ, кандидат сельскохозяйственных наук,  
Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ, кандидат сельскохозяйственных наук,  
А.И. ГАНДЖА, кандидат сельскохозяйственных наук,  
В.П. СИМОНЕНКО, научный сотрудник

### **ВЛИЯНИЕ ГОНАДОТРОПНЫХ ГОРМОНОВ ФСГ, ЛГ И ЭСТРАДИОЛА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВНЕ ОРГАНИЗМА**

Добавление комплекса гормонов ФСГ+ эстрадиол, ФСГ+ ЛГ в культуральные среды способствует более полноценному созреванию яйцеклеток в культуре *in vitro*, что приводит к оплодотворяемости 58,2-66,9% ооцитов и увеличивает выход жизнеспособных эмбрионов до 47,4-50,0%.

Ключевые слова: ооцит, яичник, яйцеклетка, эмбрион, фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), лютеинизирующий гормон (ЛГ), эстрадиол.

Одним из факторов, определяющих качество эмбрионов, полученных методом культивирования вне организма, является полноценность созревания яйцеклетки в культуре *in vitro*. Моделирование условий роста и развития ооцитов и ранних эмбрионов, максимально приближенных к естественным, осуществляется путем добавления в среды для их культивирования биологически активных компонентов, регулирующих созревание яйцеклеток и дробление ранних зародышей *in vitro*.

Эффективность культуральных сред оценивают, как правило, по увеличению выхода созревших яйцеклеток и ранних эмбрионов на стадии морулы и бластоцисты. Большинство ооцитов (89,4%), извлеченных из яичников коров, находятся на стадии диплотены, на которой у крупного рогатого скота *in vivo* наступает торможение мейоза [5]. Извлеченные из фолликулов ооциты возобновляют мейоз спонтанно и могут проходить последовательно все стадии созревания до метафазы II, т.е. до стадии оплодотворения без каких-либо гормональных воздействий. Однако, этот процесс не равнозначен созреванию