

bentonite clay from Zamankul Deposit. Due to the significant increase in the economically useful characteristics of young cattle identified in our research during bentonite feeding and justified by physiological studies, we made the research to study nitrogen, mineral elements and digestible metabolism in the body of 9-18-month-old fattening Simmental young cattle on the farm in Zmeyskaya village, RNO–Alania. Studies found an increase in the digestibility of dietary nutrients from 1.8 to 3.5%, a significant retention of nitrogenous substances in the body of animals fed with bentonite – by 8.2%, a significant improvement in the use of dietary mineral elements.

Keywords: young animals, fattening, feeding, bentonite, nitrogen metabolism, microelements.

Дзагуров Борис Авдрахманович, д.б.н., профессор кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет». 362040, PCO–Алания, г. Владикавказ, ул. Кирова, 37. E-mail: boris.alekseev.1961@mail.ru

Карлов Алибек Геннадиевич, аспирант кафедры терапии и фармакологии ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет». 362040, PCO–Алания, г. Владикавказ, ул. Кирова, 37. E-mail: zmeyka.93@mail.ru

Boris Avdrakhmanovich Dzagurov, Dr.Biol.Sci., Professor at the Department of Therapy and pharmacology, FSBEI HE «Gorsky State Agrarian University». 362040, Republic of North Ossetia-Alania, Vladikavkaz, 37 Kirov str. E-mail: boris.alekseev.1961@mail.ru

Alibek Gennadievich Karlov, postgraduate student at the Department of Therapy and pharmacology, FSBEI HE «Gorsky State Agrarian University». 362040, Republic of North Ossetia-Alania, Vladikavkaz, 37 Kirov str. E-mail: zmeyka.93@mail.ru

УДК 636.2.612.64.089.67

Голубец Л.В.

ВЛИЯНИЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ДОНОРОВ НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ IN VITRO

Технология in vitro представляет собой сложный комплексный процесс, на эффективность которого влияет множество как биологических, так и технических факторов. В представленных исследованиях изучена эффективность получения эмбрионов в культуре in vitro у доноров при нормальном течении полового цикла в его фолликулярную и лютеиновую фазы, а также при различных отклонениях от нормы, связанных с такими факторами, например, как персистентное желтое тело, эндометрит и фолликулярная киста. Исследования проведены в отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно, Гродненской области. Как установлено по результатам исследований, при аспирации ооцитов в фолликулярную фазу отмечается более высокий, по сравнению с контролем, выход ооцитов как по общему количеству, так и по пригодным для созревания на 4.8 и 2,3п.п., по уровню дробления на 7.7п.п. и выходу эмбрионов на 2.6п.п. Использование доноров в лютеальную фазу отмечено более высоким, по сравнению с контролем, выходом пригодных как ооцитов, так и эмбрионов - на 4.0 и 2.2 п.п. соответственно. В фолликулярную фазу, по сравнению с лютеиновой, получены несколько более высокие показатели по количеству аспирированных фолликулов и уровню дробления на 60.7% на 9.5п.п., а по выходу ооцитов и выходу эмбрионов ниже на 7.7п.п. и 4.3п.п. соответственно. Наличие у донора на момент аспирации персистентного желтого тела, эндометрита или фолликулярной кисты, приводит к снижению эффективности получения эмбрионов в зависимости от патологии по количеству аспирированных фолликулов на 3,9-49,0%, общему выходу ооцитов на 11.1-18.0п.п., в т.ч. жизнеспособных на 6.8-13.6 и по выходу эмбрионов на 1.9-11.3п.п. При этом уровень дробления и выход пригодных к дозреванию ооцитов в случае использования эндометритных животных оказался выше по сравнению с контролем на 4.8 и 1.1п.п.

Ключевые слова: аспирация, ооциты, эмбрионы, половой цикл, лютеиновая фаза, фолликулярная фаза, персистентное желтое тело, фолликулярная киста, эндометрит.

Введение. Принципиально новая технология ускоренного размножения племенных животных, включающая в себя получение ооцитов, их дозревание и оплодотворение вне организма, культивиро-

вание ранних зародышей до предимплантационных стадий с последующей трансплантацией полученных таким образом эмбрионов реципиентам существенно повышает возможности для генетического совершенствования популяции животных, сохранения и ускоренного размножения выдающихся животных путем максимально возможного использования резервных репродуктивных и продуктивных потенциалов животного, которые не реализуются при искусственном осеменении [1].

По своей сути технология получения эмбрионов в культуре *in vitro* является длительным, высокотехнологичным и достаточно сложным процессом, который требует высококвалифицированных специалистов, хорошо оборудованной лаборатории, дорогостоящего оборудования и реактивов. Именно ввиду этого далеко не все центры, занимающиеся трансплантацией эмбрионов, могут позволить себе использование данной технологии [3]. В норме, как правило, половой цикл животного продолжается в среднем 21 день с вариациями от 18 до 24 дней и состоит из двух основных стадий - фолликулярной и лютеиновой, последняя в свою очередь характеризуется двумя или тремя волнами фолликулярного роста [4, 5]. В каждую волну образуется один доминантный фолликул. Фолликулярная волна начинается с появления группы мелких антральных фолликулов за сутки до овуляции. На протяжении следующих нескольких дней из когорты фолликулов выделяется один и становится доминантным, подавляя появление новой фолликулярной волны, а также рост и развитие остальных фолликулов группы. В последующем они атрезируют также как и доминантный фолликул, которому не дает закончить развитие и овулировать наличие в яичнике желтого тела цикла. При спонтанной регрессии желтого тела доминантный фолликул последней волны завершает свое развитие и овулирует, стимулируя к росту новую фолликулярную волну следующего полового цикла [6-9]. Все эти процессы характерны для нормального течения полового цикла. Однако, при нарушении, условий содержания и кормления, отсутствии профилактических мероприятий и несвоевременной ветеринарной помощи возникают различные гинекологические проблемы, нарушающие нормальное течение физиологических процессов в матке и яичниках, в том числе фолликуло- и оогенез [10].

Цель исследований - изучить эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* у нормально циклирующих доноров в фолликулярную и лютеиновую фазу цикла, а также у животных с различными нарушениями репродуктивных функций.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет», г. Гродно Гродненской области.

Ооциты получали путем трансвагинальной пункции фолликулов с использованием ультразвуковой системы AlokaSSD 500. В качестве промывной жидкости использовали фосфатно-солевой буфер Дюльбекко с добавлением 50 мкг/мл гентамицина и 0,5 % эстральной сыворотки.

Поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под стереоскопическим микроскопом Olympus SZ51. Пригодные для созревания ооцит-кумулюсные комплексы помещали в культуральную среду созревания и помещали в CO₂ инкубатор «Mettmert» при температуре 38,7 °С с максимальной влажностью 96-98% и уровнем углекислого газа 5%.

Оплодотворение проводили замороженно-оттаянной спермой в концентрации 1x10⁶/мл. Совместная инкубация продолжалась в течение 18-20 часов при температуре 38,7 °С, максимальной влажности и в присутствии 5% CO₂ в атмосфере. После завершения инкубации предположительные зиготы отмывались от спермы в среде для культивирования ранних зародышей и помещались в CO₂ инкубатор на 7-9 дней, до получения эмбрионов на предимплантационных стадиях развития. Аспирацию проводили у доноров в фолликулярную и лютеиновую фазу полового цикла, а также у животных, имеющих такие нарушения репродуктивных функций, как персистентное желтое тело, фолликулярную кисту и эндометрит.

Результаты исследований и их обсуждение. При проведении аспираций в фолликулярную фазу (табл. 1) аспирированных фолликулов оказалось на 8.4% больше в контроле по сравнению с опытом, в то время по всем остальным показателям более успешными были аспирации в опытной группе. Так, общий выход ооцитов был выше на 4.8п.п., в т.ч. пригодных для дозревания на 2.3п.п., дробящихся зародышей на 7.7п.п. и выход эмбрионов на 2.6п.п. (26,1 против 23,5%). Аспирации ооцитов в лютеальную фазу полового цикла характеризовались практически одинаковым количеством аспирированных фолликулов (6,4±0,75 и 6,5±0,77) и уровнем дробления (63,0 %), по общему выходу ооцитов контрольная группа превышала опытную на 6.0п.п., в то время как по выходу ооцитов, пригодных к культивированию и выходу эмбрионов, несколько выше оказалась аспирация в опытной группе доноров на 4.7п.п. и 2.2п.п. соответственно. Сравнительный анализ эффективности получения эмбрионов в культуре *in vitro* при аспирации ооцитов в фолликулярную и лютеиновую фазу показал,

что по количеству аспирированных фолликулов более результативной оказалась аспирация в фолликулярную фазу – на 64,6% ($10,7 \pm 0,39$ против $6,5 \pm 0,77$), также как и уровень дробления – 9,5 п.п. (72,5% против 63,0%), в то время как по общему выходу ооцитов и эмбрионов, пригодных для пересадки, более успешными оказались аспирации в лютеиновую фазу цикла на 7,7 и 4,3 п.п. соответственно. По выходу жизнеспособных ооцитов результаты оказались примерно одинаковы – 87,3 и 86,8%.

При аспирации ооцитов у животных, у которых в одном из яичников присутствовало персистентное желтое тело, более высокие результаты по всем показателям получены у контрольной группы доноров. Так, количество аспирированных фолликулов на 15,1%, общий выход ооцитов на 13,7 п.п., в т.ч. пригодных для культивирования на 6,5 п.п., уровень дробления на 16,1 п.п. и выход жизнеспособных эмбрионов на 1,9 п.п. При использовании в качестве доноров ооцитов животных с наличием эндометрита отмечается более низкое количество аспирированных фолликулов (на 3,9%), общее количество ооцитов (на 11,1 п.п.), выход эмбрионов 8,2 п.п. (27,8% против 19,6%), в то время как выход ооцитов, пригодных для созревания, и уровень дробления оказался выше по сравнению с контролем на 1,8 и 4,8 п.п.

Наличие в одном из яичников фолликулярной кисты снижало все учитываемые показатели: количество аспирированных фолликулов на 49%, общий выход ооцитов и ооцитов, пригодных для культивирования, на 11,2 и 23,6 п.п., и выход эмбрионов на 11,3 п.п. (25,6% против 14,3%). Уровень дробления оказался примерно на одинаковом уровне и составил 62,8% и 61,9% в контроле и опыте соответственно.

Таблица 1 – Фаза полового цикла

Физиологическое состояние донора	Группа животных	Количество аспираций	Аспирировано фолликулов	Получено ОКК		Оплодотворено ОКК	Количество дробящихся зароды	Выход эмбрионов				
				всего	пригодных			день цикла				всего
								7	8	9	10	
ФФ	контроль	12	$11,6 \pm 0,96$	$8,0 \pm 0,67$	$6,8 \pm 0,73$	$6,8 \pm 0,67$	$4,4 \pm 0,40$	$0,4 \pm 0,14$	$0,6 \pm 0,22$	$0,3 \pm 0,13$	$0,3 \pm 0,13$	$1,6 \pm 0,30$
	опыт	15	$10,7 \pm 0,39$	$7,9 \pm 0,31$	$6,9 \pm 0,52$	$6,9 \pm 0,52$	$5,0 \pm 0,4$	$0,4 \pm 0,18$	$0,9 \pm 0,24$	$0,4 \pm 0,13$	$0,1 \pm 0,09$	$1,8 \pm 0,35$
ЛФ	контроль	16	$6,4 \pm 0,75$	$5,6 \pm 0,83$	$4,6 \pm 0,70$	$4,6 \pm 0,63$	$2,9 \pm 0,44$	$0,2 \pm 0,13$	$0,5 \pm 0,16$	$0,6 \pm 0,22$	-	$1,3 \pm 0,26$
	опыт	12	$6,5 \pm 0,77$	$5,3 \pm 0,81$	$4,6 \pm 0,68$	$4,6 \pm 0,68$	$2,9 \pm 0,63$	$0,2 \pm 0,11$	$0,3 \pm 0,18$	$0,7 \pm 0,22$	$0,2 \pm 0,11$	$1,4 \pm 0,25$
ПЖТ	контроль	14	$8,4 \pm 0,56$	$7,6 \pm 0,56$	$6,6 \pm 0,58$	$6,5 \pm 0,57$	$4,0 \pm 0,69$	$0,5 \pm 0,13$	$0,8 \pm 0,18$	$0,2 \pm 0,11$	-	$1,5 \pm 0,28$
	опыт	11	$7,3 \pm 0,65$	$5,6 \pm 0,58$	$4,5 \pm 0,45$	$3,3 \pm 0,47$	$1,5 \pm 0,35$	$0,1 \pm 0,09$	$0,3 \pm 0,19$	$0,3 \pm 0,13$	-	$0,7 \pm 0,19$
ЭНДМ	контроль	45	$8,0 \pm 0,73$	$6,6 \pm 0,64$	$5,4 \pm 0,53$	$5,4 \pm 0,54$	$3,5 \pm 0,37$	$0,3 \pm 0,07$	$0,8 \pm 0,12$	$0,4 \pm 0,09$	-	$1,5 \pm 0,18$
	опыт	33	$7,7 \pm 0,70$	$5,5 \pm 0,53$	$4,6 \pm 0,46$	$4,6 \pm 0,46$	$3,2 \pm 0,31$	$0,2 \pm 0,09$	$0,5 \pm 0,13$	$0,2 \pm 0,07$	-	$0,9 \pm 0,15$
ФК	контроль	14	$7,9 \pm 0,77$	$6,1 \pm 0,76$	$5,1 \pm 0,66$	$4,3 \pm 0,71$	$2,7 \pm 0,51$	$0,3 \pm 0,12$	$0,6 \pm 0,22$	$0,2 \pm 0,11$	-	$1,1 \pm 0,36$
	опыт	10	$5,3 \pm 0,49$	$3,5 \pm 0,56$	$2,1 \pm 0,48$	$2,1 \pm 0,48$	$1,3 \pm 0,38$	-	$0,3 \pm 0,15$	-	-	$0,3 \pm 0,15$

ФФ – фолликулярная фаза; ЛФ – лютеиновая фаза; ПЖТ – персистентное желтое тело; ЭНДМ – эндометрит; ФК – фолликулярная киста.

Заключение

1. При аспирации ооцитов в фолликулярную фазу отмечается более высокий выход ооцитов как в целом, так и пригодных к культивированию, по сравнению с контролем на 4,8 и 2,3 п.п. соответственно, также как и уровень дробления (на 7,7 п.п.) и выход эмбрионов (на 2,6 п.п.). В лютеальную фазу отмечаются более высокие показатели, по сравнению с контролем, по выходу пригодных ооцитов и эмбрионов на 4,7 и 2,2 п.п. соответственно.

2. Сравнительный анализ между аспирациями в фолликулярную и лютеиновую фазы показал некоторое преимущество фолликулярной фазы по количеству аспирированных фолликулов и по уровню дробления на 64,6% и 9,5 п.п., а лютеиновой по общему выходу ооцитов и эмбрионов на 7,7 и 4,3 п.п., соответственно

3. Наличие таких патологических отклонений воспроизводства как персистентное желтое тело, эндометрит и фолликулярная киста приводит к снижению эффективности получения эмбрионов в зависимости от патологии по количеству аспирированных фолликулов на 3,9-49,0%, общий выход ооцитов на 11,1-13,7 п.п., в т.ч. жизнеспособных на 6,5-23,6 и по выходу эмбрионов на 1,9-11,3 п.п. При этом уровень дробления и выход пригодных к дозреванию ооцитов в случае использования эндометритных животных оказался выше по сравнению с контролем на 4,8 и 1,8 п.п.

Литература

1. Galli, C. Bovine embryo technologies / C. Galli, R. Duchi, G. Crotti, P. Turini, N. Ponderato, S. Colleoni, I. Lagutina, G. Lazzari // *Theriogenology*. – 2003. – V.59. – P.599-616.
2. Gordon, Ian. 1994. *Laboratory Production of Cattle Embryos*. CAB International, Wallingford, Oxon OX10 8DE, UK. - 672pp. - ISBN 0 85198 928 4.210. 352.
3. Matton P., Acelakoun V., Couture Y. and Dufour J.J. Growth and replacement of the bovine ovarian follicles during the estrus cycle. *Journal of Animal Science*
4. Каиров В.А. Технология и качество выращивания ремонтных телок красной степной и чернопестрой пород / В.А. Каиров, А.Т. Кокоева // *Вестник научных трудов молодых учёных, аспирантов, магистрантов и студентов ФГБОУ ВО «Горский государственный аграрный университет»*. - Владикавказ, 2018. - С. 351-352.
5. Тезиев Т.К. Воспроизводительные показатели коров разной поведенческой активности / Т.К. Тезиев, Г.Б. Пицхелаури, А.Т. Кокоева // *Известия Горского государственного аграрного университета*. - 2009. - Т.46. - №2. - С. 39-41.
6. Sunderland S.J., Crowe M.A., Boland M.P., Roche J.F., Ireland J.J. Selection, dominance and atresia of follicles during the oestrous cycle of heifers. *J Reprod Fertil* 1994; 101:547-555.
7. Кадзаева З.А. Взаимосвязь воспроизводительных функций с живой массой телок при оплодотворении / З.А. Кадзаева, А.Т. Кокоева // *Материалы Всероссийской научно-практической конференции (заочной): Достижения науки - сельскому хозяйству*. – Владикавказ, 2017. - С. 92-93.
8. Кадзаева З.А. Репродуктивные качества телок в связи с интенсивностью их роста / З.А. Кадзаева, А.Т. Кокоева, В.В. Ногаева // *Материалы Всероссийской научно-практической конференции (заочной): Достижения науки - сельскому хозяйству*. – Владикавказ, 2017. - С. 93-95.
9. Тезиев Т.К. Воспроизводительная способность коров разных пород в Центральном Предкавказье / Т.К. Тезиев, А.Т. Кокоева, Ал.Т. Кокоева // *Известия Горского государственного аграрного университета*. - 2012. - Т.49. - №3. - С. 121-123.
10. Machatkova M., Jokesova E., Petilikova J., Dvoracek V. (1995) Developmental competence of bovine embryos derived from oocytes collected at various stages of the estrous cycle *Theriogenology*, 801-810, 52,813-820.

L.V. Golubets

IMPACT OF PHYSIOLOGICAL STATE OF DONORS ON EFFICIENCY OF IN VITRO EMBRYO PRODUCTION

In vitro technology is a complex process, its efficiency is impacted by many biological and technical factors. Efficiency of in vitro embryo production from donors in the normal estrous cycle during its follicular and luteal phases, as well as at various anomalies associated with factors such as persistent corpus luteum, endometritis and follicular cyst was studied. The research was carried out in the branch biotechnological laboratory for reproduction of farm animals at EI Grodno State Agrarian University, Grodno, Grodno region. According to the research results, during the oocytes aspiration in the follicular phase, a higher oocytes yield

both in total and suitable number for maturation by 4.8 and 2.3 pp is determined compared to the control, and by the cleavage level – by 7.7 pp and embryo yield – by 2.6pp. Use of donors during luteal phase is noted by a higher yield of suitable oocytes and embryos compared to the control – by 4.0 and 2.2 pp, respectively. During follicular phase, in comparison with the luteal phase, slightly higher indicators in the number of aspirated follicles and the level of cleavage by 60.7% by 9.5 pp. were obtained, and in the oocytes and embryos yield – lower by 7.7 pp. and 4.3 pp, respectively. Persistent corpus luteum, endometritis or follicular cyst in the donor at the time of aspiration leads to a decrease in the efficiency of embryos production depending on the pathology in terms of the number of aspirated follicles by 3.9-49.0%, total oocyte yield by 11.1-18.0 pp, incl. viable - by 6.8-13.6 and embryos yield - by 1.9-11.3 pp. At that, the level of cleavage and the yield of oocytes suitable for maturation in case of using endometritic animals turned out to be higher compared to the control by 4.8 and 1.1 pp.

Keywords: aspiration, oocytes, embryos, estrous cycle, luteal phase, follicular phase, persistent corpus luteum, follicular cyst, endometritis.

Голубец Леонид Викторович, д.с.-х.н., доцент, главный научный сотрудник отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет». 230008, Республика Беларусь, г. Гродно, ул. Терешковой, 28, т. +375(29) 584-37-43. E-mail: ggaubio@mail.ru

Leonid Viktorovich Golubets, Dr.Agr.Sci., Associate Professor, Chief Researcher of the Branch Biotechnological Laboratory for Reproduction of Farm Animals, EI Grodno State Agrarian University, 230008, Republic of Belarus, Grodno, 28 Tereshkova Str., +375(29) 584-37-43. E-mail: ggaubio@mail.ru

УДК 636.2.034

Кадзаева З.А.

ВЗАИМОСВЯЗЬ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ КОРОВ С ВОЗРАСТОМ ПЕРВОГО ОПЛОДОТВОРЕНИЯ

Определение оптимального срока первого покрытия хорошо развитых телок позволяет достигать более высокой продуктивности коров, уменьшить период смены поколений животных в стадах и является актуальным вопросом. Исследования были выполнены в условиях племенной фермы СПК Ардонского района РСО–Алания на коровах швицкой породы. В задачу исследований входило изучение показателей молочной продуктивности коров на протяжении трех лактаций в зависимости от возраста их первого оплодотворения. В данной статье приведены результаты изучения молочной продуктивности коров разного срока ввода их в стадо. Для изучения поставленной цели были сформированы группы из первотёлок разного возраста первого осеменения. Результаты исследований позволяют констатировать, что если в первую лактацию преимущество имели коровы, впервые осеменённые в более старшем возрасте, то к 3 лактации коровы 2 группы имели значительное и достоверное преимущество перед животными 1 и 3 как по количеству молока, так и по молочному жиру. Разница по сравнению с 1 группой была 416,1 кг или 13,3% ($P \geq 0,99$) и 14,5 кг, или 12,8% ($P \geq 0,99$), а со второй - 231,2 кг, или 7,0% ($P \geq 0,95$) и 8,4 кг, или 7,0%. По жирности молока разница, как по лактациям, так и между группами была незначительной и недостоверной. Значения коэффициента молочности составили соответственно по группам – 644,6; 763,3 и 658,9, и говорят о том, что оптимальный возраст первого оплодотворения способствует формированию животных более молочного типа. Животные, впервые осеменённые в возрасте 18-22 месяца, имели в последующем более равномерную лактационную деятельность и характеризовались сильной устойчивой, плавно спадающей лактационной кривой. Прибыль от продажи молока во второй группе была больше на 2 880 рублей на голову, а всего на 28 800 рублей.

Ключевые слова: *удой, молочный жир, лактационные кривые, индекс молочности.*

В молочном скотоводстве одним из главных условий эффективной селекционной работы является длительность использования коров, так как этот показатель обуславливает как эффект отбора, так и генетический прогресс стада в целом. Это значительно повышает интенсивность селекции и влияет на экономические показатели отрасли. В тоже время известно, что в большинстве хозяйств