

9. Сушеная барда в рационах бычков / А. Н. Кот [и др.] // Современные технологии сельскохозяйственного производства: сб. науч. ст. по материалам XXI Международной науч.-практ. конф. – Гродно: ГГАУ, 2018. – С. 161-163.
10. Комбикорм кр-3 экструдированным обогатителем в рационах бычков на откорме / В. Ф. Радчиков [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства: сб. науч. тр. – Горки, 2014. – Вып. 17, ч. 1. – С. 114-123.
11. Радчиков, В. Ф. Новые ферментные препараты в кормлении молодняка крупного рогатого скота / В. Ф. Радчиков. – Жодино, 2003. – 71 с.
12. Радчиков, В. Ф. Скармливаем жом деньги бережем / В. Ф. Радчиков, В. П. Цай, В. К. Гурин // Бел. сельское хозяйство. – 2012. – № 1. – С. 58-59.
13. Экструдированный пищевой концентрат в рационах молодняка крупного рогатого скота / В. Ф. Радчиков [и др.]. – Жодино, 2017. – 42 с.
14. Технология получения конкурентоспособной говядины от мясного скота в условиях пойменного земледелия / Н. А. Попков [и др.]. – Жодино, 2015. – 95 с.
15. Организация полноценного кормления сельскохозяйственных животных с использованием органических микроэлементов / И. П. Шейко [и др.] // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. – 2014. – № 3. – С. 80-86.

УДК [636.2:612.646]:57.083.134

ВЛИЯНИЕ ДЕЛИПИДИРУЮЩЕГО АГЕНТА L-КАРНИТИНА НА СОХРАННОСТЬ ЗАМОРОЖЕННО-ОТТАЯННЫХ ЭМБРИОНОВ КОРОВ

А. И. Будевич, Ю. К. Кирикович, С. А. Сапсалева

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

г. Жодино, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 222163,
г. Жодино, Минская область, ул. Фрунзе, 11; e-mail: belniig@tut.by)

Ключевые слова: криопротектор, зародыши, криоконсервирование, биологически активное вещество, L-карнитин, глицерин, этиленгликоль, диметилсульфоксид.

Аннотация. В технологии криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота использование липолитических агентов в составе защитных сред представляет собой новый подход к решению задачи повышения качества замороженно-оттаянных зародышей коров-доноров. При изучении влияния различных концентраций делипидирующей добавки L-карнитина в составе некоторых криофилактиков на сохранность эмбрионов выявлена тенденция повышения их криовывиаемости, наиболее выразившейся в применении разработанной среды на основе 1,5М этиленгликоля и вышеуказанного биологически активного вещества.

THE EFFECT OF THE DELIPIDIZING AGENT L-CARNITINE ON THE SAFETY OF FROZEN-THAWED COW EMBRYOS

A. I. Budevich, Yu. K. Kirikovich, S. A. Sapsaliou

RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding»

Zhodino, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 222160, Zhodino, Minsk region, 11 Frunze st.; e-mail: Belniig@tut.by)

Key words: cryoprotector, embryo, cryopreservation, biologically active substance, L-carnitine, glycerin, ethylene glycol, dimethyl sulfoxide.

Summary. *In the technology of cryopreservation of cattle embryos, the use of lipolytic agents as part of protective media represents a new approach to solving the problem of improving the quality of frozen-thawed embryos of donor cows. When studying the effect of various concentrations of the delipidating additive L-carnitine in some cryophylactics on the safety of embryos, a tendency to increase their cryopreservability was revealed, most pronounced in the use of the developed medium based on 1,5M ethylene glycol and the above biologically active substance.*

(Поступила в редакцию 17.06.2024 г.)

Введение. Использование различных биологически активных соединений в составе сред для заморозки эмбрионов является одним из направлений, преследующих решение важнейшей задачи в технологии криоконсервирования зародышей крупного рогатого скота, повышение качества биоматериала коров-доноров. При этом вводимые в криопротекторы компоненты должны быть в первую очередь не токсичны для клеток, в т. ч. для их фосфолипидных оболочек, включая мембраны и внутриклеточных органелл, наиболее чувствительных к понижению температуры и особенно замораживанию [1, 2], обладать определенной молекулярной массой и структурой для возможности их проникновения через зону пеллюцида или, наоборот, сдерживания потоков растворенных веществ, способных нанести повреждения клетке, а при образовании комплексов с другими элементами не приводить к формированию соединений, нарушающих метаболизм эмбрионов при их замораживании-оттаивании.

В свою очередь, по данным некоторых авторов (Van Soom A., 2010), наличие цитоплазматических липидных капель, повышающих чувствительность клеток к переохлаждению во время криоконсервации, является негативным фактором, снижающим жизнеспособность генетического материала. В практике для регулирования липидного обмена в организме применяются различные вещества, такие как форсколин [3], феназинэтосульфат (PES) [4], пирролин 5-карбоксилат [5], аскорбат [6], L-карнитин [7], комплексное использование последнего с конъюгированными изомерами линолевой кислоты [8] и др. Вместе с тем

использование липолитических агентов в составе защитных сред представляет собой новый подход к решению задачи повышения качества зародышей после оттаивания, т. к. предполагается, что применение биологически активных веществ, таких как L-карнитин, позволит снизить плотность липидных капель путем стимуляции гидролиза внутриклеточных жиров и тем самым повысить биодоступность последних, кроме того, улучшить их диффузию через мембраны, существенно уменьшив деструкцию оболочек, и перераспределить продукты липидного распада в направлении от периферии (от зоны пеллюцида) к внутренней цитоплазме, что, вероятно, может привести к повышению устойчивости эмбрионов к воздействию низких температур, создав условия к более успешному их развитию после оттаивания.

Цель работы – изучить влияние различных концентраций делипидирующего агента L-карнитина в составе проникающих криопротекторов на качество замороженно-оттаянных эмбрионов коров.

Материал и методика исследований. Исследования проводились в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» и в племенных хозяйствах РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского и СПК «Агрокомбинат Снов» Несвижского районов Минской области.

Объектом исследования служили эмбрионы, полученные от высокоценных племенных животных. В процессе замораживания зародыши насыщались следующими стандартными защитными средами, которые служили контролем: 1,4М раствор глицерина (ГЛ, GLY), 1,5М раствор этиленгликоля (ЭГ, EG) и 1,5М раствор диметилсульфоксида (ДМСО, DMSO), и модифицированными (опыт), в состав которых добавлялся липолитический агент L-карнитин (L-carnitine, LC; «Sigma-Aldrich», Germany) в количестве 0,75; 1,518 и 3,03М. Качество эмбрионов до криоконсервирования и после культивирования оттаянных клеток в питательной среде в газовой атмосфере, состоящей из 5 % CO₂, 5 % O₂ и 90 % N₂, при температуре 38,5 °С в течение 1 часа, оценивалась по пятибалльной шкале.

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты исследований по качеству оттаянных эмбрионов, замороженных с включением L-карнитина в криопротекторные среды на основе 1,4М глицерина, представлены в таблице 1.

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение комплексной среды для криоконсервации способствовало увеличению доли полноценных зародышей после их оттаивания. Так, в контрольной группе сохранили свое первоначально отличное качество 50,0 % эмбрионов (3 из 6), а в опыте при концентрации LC 0,75 мМ – 55,6 % (5 из 9),

1,518 мМ – 60,0 % (6 из 10), 3,03 мМ – 40,0 % (2 из 5) клеток соответственно. Из общего числа оттаянных отличными оказались 33,3 % эмбрионов в контроле и 41,7; 40,0 и 25,0 % в опыте, хорошими – 44,4 % и 33,3; 40,0 и 37,5 %, удовлетворительными – 11,1 % и 16,7; 13,3 и 25,0 % и неудовлетворительными – 11,1 % и 8,3; 6,7 и 12,5 % соответственно, в зависимости от концентрации липолитического агента. Выход эмбрионов отличного и хорошего качества в контрольной группе составил 77,8 %, что было выше на 2,8 и 15,3 п. п. по сравнению с опытными с количеством LC в среде 0,75 мМ и 3,03 мМ и ниже на 2,2 п. п. в группе с его концентрацией 1,518 мМ соответственно. У эмбрионов, замороженных с L-карнитином, снизились показатели сохранности по сравнению с контролем на 0,21 балла при использовании криопротектора с 3,03 мМ LC, при этом при включении в среду 0,75 мМ липолитического агента биоматериал не изменился, а при 1,518 мМ морфологический состав клеток улучшился на 0,13 балла.

Таблица 1 – Результаты морфологической оценки заморожено-оттаянных эмбрионов, криоконсервированных в 1,4М глицерине с L-карнитином

Показатель		Контрольная группа		Опытные группы					
				L-карнитин, мМ					
				0,75		1,518		3,03	
				до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания
Количество эмбрионов	п	9	9	12	12	15	15	8	8
	%	100	100	100	100	100	100	100	100
в т. ч. по качеству: отличное	п	6	3	9	5	10	6	5	2
	%	66,7	33,3	75,0	41,7	66,7	40,0	62,5	25,0
хорошее	п	3	4	3	4	5	6	3	3
	%	33,3	44,4	25,0	33,3	33,3	40,0	37,5	37,5
удовлетворительное	п	-	1	-	2	-	2	-	2
	%	-	11,1	-	16,7	-	13,3	-	25,0
неудовлетворительное	п	-	1	-	1	-	1	-	1
	%	-	11,1	-	8,3	-	6,7	-	12,5
Пригодных к пересадке	п	9	8	12	11	15	14	8	7
	%	100	88,9	100	91,7	100	93,3	100	87,5
Средний балл		4,67 ± 0,17	4,00 ± 0,33	4,75 ± 0,13	4,08 ± 0,29	4,67 ± 0,13	4,13 ± 0,24	4,63 ± 0,18	3,75 ± 0,37
Среднее снижение качества после оттаивания, балл		0,67		0,67		0,54		0,88	

Таким образом, применение комплексной среды на основе глицерина с добавлением делипидирующего агента L-карнитина в концентрации 1,518 мМ способствовало увеличению количества пригодных к пересадке зародышей на 4,4 п. п., доли отличных и хороших клеток на 2,2 п. п., выходу биоматериала отличного качества, сохранившего свое первоначальное развитие, на 10,0 п. п. и среднему показателю снижения полноценности эмбрионов после оттаивания на 0,13 балла по сравнению с контролем.

Сохранность оттаянных зародышей, замороженных в криофилактике 1,5М этиленгликоле в комплексе с LC, представлена в таблице 2.

Таблица 2 – Качество деконсервированных эмбрионов при комплексном использовании 1,5М этиленгликоля и L-карнитина

Показатель		Контрольная группа		Опытные группы					
				L-карнитин, мМ					
				0,75		1,518		3,03	
		до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания
Количество эмбрионов	n	11	11	16	16	14	14	12	12
	%	100	100	100	100	100	100	100	100
в т. ч. по качеству:	n	5	3	11	7	11	8	7	4
	%	45,5	27,3	68,8	43,8	78,6	57,1	58,3	33,3
отличное	n	6	6	5	6	3	5	5	5
	%	54,5	54,5	31,3	37,5	21,4	35,7	41,7	41,7
хорошее	n		1		2		1		2
	%	-	9,1	-	12,5	-	7,1	-	16,7
удовлетворительное	n		1		1		-		1
	%	-	9,1	-	6,3	-	-	-	8,3
неудовлетворительное	n	11	10	16	15	14	14	12	11
	%	100	90,9	100	93,8	100	100	100	91,7
Пригодных к пересадке	n	4,45 ±0,16	4,0 ±0,27	4,69 ± 0,12	4,19 ± 0,23	4,79 ± 0,11	4,5 ± 0,17	4,58 ± 0,15	4,0 ± 0,28
	%								
Средний балл									
Среднее снижение качества после оттаивания, балл		0,45		0,5		0,29		0,58	

Данные таблицы свидетельствуют о тенденции более высокой сохранности оттаиваемых зародышей, соответствующих отличному и хорошему их качеству, для консервации которых был использован 1,5М этиленгликоль совместно с липолитическим веществом L-карнитином.

Так, в опытной группе эмбрионов с концентрацией LC 1,518 мМ значение указанного показателя составило 92,9 %, в то время как в контроле он был на 11,1 п. п. ниже (81,8 %). При других концентрациях БАВ жизнеспособность биоматериала находилось на уровне или была ниже по сравнению с контрольной группой зародышей. При содержании в криофилактике 0,75 мМ и 1,518 мМ LC свое первоначальное отличное качество сохранили 63,6 и 72,7 % клеток, что на 3,6 и 12,7 п. п. выше по сравнению с контролем (60,0 %) без использования добавок, стимулирующих липолиз, соответственно. Включение в состав защитной среды L-карнитина позволило увеличить выход зародышей отличного качества на 16,5 (43,8 % против 27,3 %), 29,3 (57,1 % против 27,3 %) и 6,0 п. п. (33,3 % против 27,3 %) при концентрации LC 0,75; 1,518 и 3,03 мМ соответственно. У эмбрионов всех опытных групп, кроме 1,518 мМ L-карнитина в среде, значение показателей качества снизилось: применение добавки LC в концентрации 0,75 мМ и 3,03 мМ способствовало незначительному ухудшению жизнеспособности биоматериала на 0,05 и 0,13 балла, соответственно, вместе с тем, среднее значение сохранности зародышей после оттаивания в группе с содержанием 1,518 мМ LC в криопротекторе составило 0,29 балла, что было на 0,16 балла выше, чем в контроле.

Таким образом, использование L-карнитина в концентрации 1,518 мМ позволило получить 100,0 % зародышей, пригодных для эмбриотрансплантации, из которых доля отличного и хорошего качества составила 92,9 %, при этом из них свое первоначальное отличное качество после оттаивания сохранили 72,7 % клеток, тем самым сведя к нулю выход неудовлетворительных клеток, что в итоге поспособствовало увлечению на 9,1; 11,1 и 12,7 п. п. и снижению на 18,2 п. п. значений вышеизложенных показателей по сравнению с контролем соответственно.

Данные результатов морфологической оценки, представленные в таблице 3, свидетельствуют о том, что замораживание зародышей в 1,5М растворе диметилсульфоксида с добавлением L-карнитина оказало положительное влияние на показатели их качества после оттаивания.

Введение дополнительного компонента в защитную среду привело к увеличению процента зародышей, сохранивших свое отличное качество после оттаивания, при использовании LC в концентрации 0,75 и 1,518 мМ на 2,6 и 7,1 п. п., соответственно, по сравнению с контролем. По выходу жизнеспособных клеток отличного и хорошего качества достоверных различий не выявлено (69,3-71,4 % против 70,0 % в контрольной группе). Средний показатель снижения сохранности эмбрионов после оттаивания во всех опытных группах был ниже, чем в

контроле (0,9 балла) и составил в группах LC в зависимости от концентраций липолитического агента: 0,75 мМ – 0,86 и 1,518 мМ – 0,72 балла. Максимальное снижение качества зародышей (на 1,0 балл) было выявлено в опытной группе с содержанием в криофилактике 3,03 мМ L-карнитина, что, тем не менее, было выше на 0,1 балл по сравнению с контролем.

Таблица 3 – Влияние L-карнитина в составе 1,5М диметилсульфоксида на сохранность заморожено-оттаянных зародышей

Показатель	Контрольная группа		Опытные группы						
			L-карнитин, мМ						
			0,75		1,518		3,03		
	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	до замораживания	после оттаивания	
Количество эмбрионов	п	10	10	14	10	10	13	13	
	%	100	100	100	100	100	100	100	100
в том числе по качеству: отличное	п	7	3	11	5	8	4	9	3
	%	70,0	30,0	78,6	35,7	80,0	40,0	69,2	23,1
хорошее	п	3	4	3	5	2	3	4	6
	%	30,0	40,0	21,4	35,7	20,0	30,0	30,8	46,2
удовлетворительное	п	-	1	-	2	-	2	-	1
	%	-	10,0	-	14,3	-	20,0	-	7,7
неудовлетворительное	п	-	2	-	2	-	1	-	3
	%	-	20,0	-	14,3	-	10,0	-	23,1
Пригодных к пересадке	п	10	8	14	12	10	9	13	10
	%	100	80,0	100	85,7	100	90,0	100	76,9
Средний балл	4,7	3,8	4,79	3,93	4,8	4,08	4,69	3,69	
	± 0,15	± 0,36	± 0,11	± 0,29	± 0,13	± 0,29	± 0,13	± 0,31	
Среднее снижение качества после оттаивания, балл	0,9		0,86		0,72		1,0		

Из данных таблицы видно, что применение липолитического вещества L-карнитина в концентрации 1,518 мМ в составе диметилсульфоксида способствовало получению 90,0 % зародышей, пригодных для трансплантации реципиентам, с долей эмбрионов отличного и хорошего качества 70,0 %, из которых свою пятибалльную оценку сохранили 50,0 % клеток.

Заключение. Таким образом, в результате изучения влияния различных концентраций липолитического агента L-карнитина в составе

защитных растворов на сохранность замороженно-оттаянных зародышей коров выявлена тенденция повышения их криовывиаемости, наиболее выразившейся в применении разработанного криофилактика на основе 1,5М этиленгликоля и выше указанного биологически активного вещества в концентрации 1,518 мМ, позволившего получить 100,0 % зародышей, пригодных для эмбриотрансплантации с долей клеток отличного и хорошего качества 92,9 %, из которых свою первоначальную высшую оценку после оттаивания сохранили 72,7 % эмбрионов со средним показателем снижения биополноценности генетического материала на 0,29 балла.

ЛИТЕРАТУРА

1. Is the zonapellucida an efficient barrier to viral infection? / A. Van Soom [et al.] // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2010. – Vol. 22. – P. 21-31.
2. Menkhorst, E. Vertebrate extracellular preovulatory and postovulatory egg coats / E. Menkhorst, L. Selwood // *Biol. Reprod.* – 2008. – Vol. 79. – P. 790-797.
3. Cryosurvival and pregnancy rates after exposure of IVF-derived Bosindicus embryos to forskolin before vitrification / B. V. Sanches [et al.] // *Theriogenology.* – 2013. – Vol. 80(4). – P. 372-377.
4. Lipid content and apoptosis of in vitro-produced bovine embryos as determinants of susceptibility to vitrification / M. J. Sudano, Theriogenology. – 200b. – Vol. 75. – P. 1211-1220.
5. Effect of 2,4dinitrofenol on the energy metabolism of cattle embryos produced by in vitro fertilization and culture / D. Rieger [et al.] // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2002. – Vol. 14. – P. 339-343.
6. Lane, M. Addition of ascorbate during cryopreservation stimulates subsequent embryo development / M. Lane // *Human Reproduction.* – 2002. – Vol. 17(10). – P. 2686-2693.
7. Supplementation of maturation medium with L-carnitine improves cryo-tolerance of bovine in vitro matured oocytes / V. Chankitisakul [et al.] // *Theriogenology.* – 2013. – Vol. 79(4). – P. 590-598.
8. Effect of delipidant agents during in vitro culture on the development, lipid content, gene expression, and cryotolerance of bovine embryos / O. Dias [et al.] // *Reproduction in Domestic Animals.* – 2020. – Vol. 55(1). – P. 11-20.

УДК 636.222.7:612.018

МЯСНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ БЫКОВ ГЕРЕФОРДСКОЙ ПОРОДЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА ГОРМОНА РОСТА (GH)

О. В. Вертинская, Л. А. Танана, Н. Н. Пешко

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой ,28; e-mail: olga_vertinskaya@mail.ru)

Ключевые слова: *герекфорд, ген гормона роста, частота встречаемости, аллель, генотип, ДНК, убойные показатели.*