

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

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ
В ЗАВИСИМОСТИ ОТ КАТЕГОРИИ ДОНОРА И БЫКА,
ИСПОЛЬЗУЕМОГО ДЛЯ ОСЕМЕНЕНИЯ**

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

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

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

Одной из задач трансплантации эмбрионов является размножение потомства выдающихся родителей с целью отбора среди них и последующего размножения потомков ещё более высокого качества. В представленном материале изложены результаты исследований по изучению влияния категории донора (корова или телка) и быка-производителя на эффективность трансплантации эмбрионов. Установлено, что уровень приживляемости эмбрионов, полученных от коров и тёлочек, практически не отличался и составил 51,7 и 50 % соответственно. В отличие от коров, у которых уровень стельности не зависел от стороны пересадки, трансплантация эмбрионов у тёлочек оказалась более эффективной при их переносе в правый рог по сравнению с левым на 16,6 п. п. Приживляемость эмбрионов на стадии морулы от коров была выше при их пересадке в левый рог на 4,7 п. п., в то время как у тёлочек она была на 14,7 п. п. выше в правом роге. Приживляемость blastocysts, полученных как от коров, так и от тёлочек, оказалась выше при их трансплантации в правый рог. Уровень приживляемости эмбрионов снижался по мере снижения их качества независимо ни от донора, ни от рога, в который они пересаживались. В целом уровень стельности в зависимости от быка колебался от 20 до 80 %. Отмечена достаточно высокая вариабельность по приживляемости эмбрионов от доноров, которые осеменялись одними и теми же быками.

Ключевые слова: донор, реципиент, морула, blastocyst, качество, приживляемость, бык, рог, телка, корова.

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

EFFICIENCY OF TRANSFER OF EMBRYOS OBTAINED DEPENDING ON THE CATEGORY OF DONOR AND BULL, USED FOR INSEMINATION

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

²Grodno State Agrarian University, G. Grodno, Republic of Belarus

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

One of the objectives of embryo transfer is to reproduce the offspring of outstanding parents in order to select among them and subsequently reproduce offspring of even higher quality. The presented material contains the results of research on the influence of the category of donor (cow or heifer) and stud bull on the efficiency of embryo transfer. It was found that the survival rate of embryos obtained from cows and heifers was practically the same and amounted to 51.7 and 50%, respectively. In contrast to cows, in which the pregnancy rate did not depend on the side of transfer, embryo transfer in heifers was more effective when transferred to the right horn compared to the left one by 16.6 p.p. The survival rate of embryos at the morula stage from cows was 4.7 p.p. higher when transferred to the left horn, while in heifers it was 14.7 p.p. higher in the right horn. The survival rate of blastocysts obtained from both cows and heifers was higher when transferred to the right horn. The survival rate of embryos decreased as their quality declined, regardless of either the donor or the horn into which they were transferred. Overall, pregnancy rates ranged from 20 to 80% depending on the bull. There was quite a high variability in the survival rate of embryos from donors inseminated by the same bulls.

Keywords: donor, recipient, morula, blastocyst, quality, survival rate, bull, horn, heifer, cow.

Введение. Одним из аспектов, имеющих решающее влияние на рост продуктивности молочного скота за счёт генетического фактора, является качество используемых при искусственном осеменении быков. В свою очередь высокое качество быков обеспечивается подбором родителей и последующим отбором лучших по продуктивности дочерей. Как правило, для получения одного быка с требуемыми качественными характеристиками необходимо провести до 20 целенаправленных спариваний. С помощью же трансплантации эмбрионов необходимое количество приплода для отбора бычков можно получить от одной коровы-донора, тем самым увеличивая селекционное давление среди матерей быков в 20 и более раз. Поэтому одной из задач трансплантации эмбрионов является размножение потомства выдающихся

родителей с целью отбора среди них и последующего размножения потомков ещё более высокого качества. Таким образом, пересадка эмбрионов является системным биотехническим методом ускорения селекционного процесса по совершенствованию скота в ряде поколений.

В мировом научном сообществе большое внимание уделяется изучению эффективности рассматриваемой технологии, однако научные исследования до настоящего времени не привели к её ощутимому улучшению. Как правило, на гормональную обработку не реагирует до 15–20 % животных, выход качественных эмбрионов в расчёте на донора по-прежнему не превышает 5–6, а уровень приживляемости после их пересадки реципиенту – 55–60 %. Для рождения живого здорового телёнка необходимы следующие условия: овуляция яйцеклетки, способной к оплодотворению; наличие в половых путях сперматозоида, способного её оплодотворить; формирование эмбриона с признаками, наследуемыми от сперматозоида и яйцеклетки, которые позволяют ему развиваться; репродуктивного тракта, способного поддерживать транспорт гамет, зачатие и развитие эмбриона. Отсутствие хотя бы одного из этих составляющих приводит или к прохолосту, или же к эмбриональной смертности. Так, по данным ряда авторов [1, 2, 3], в результате ановуляции или ранней эмбриональной смертности потеря стельности у молочных коров колебалась от 3,4 до 6,7 %, а в условиях температурного стресса это показатель увеличивался до 12,4 % [4]. Анализ результатов исследований по данной проблеме разных авторов, проведенный М.С. Wiltbank et.al., показал, что по не установленным до конца причинам в термонеutralных условиях не оплодотворяется до 18 % яйцеклеток лактирующих коров, а эмбриональная смертность к 6–8 дню развития оценивается в 39 % [5]. Казалось бы, что пересадка эмбрионов в возрасте 7–8 дней поможет устранить проблемы, ответственные за прохолост и эмбриональную смертность, свойственные для искусственного осеменения или случки, в том числе вызванными врожденными дефектами гамет или эмбрионов. Однако, как показывает практика, около 25–40 % эмбриональных потерь приходится на первые несколько дней после пересадки [6], что характеризовалось перегулом тёлочек-реципиентов в пределах полового цикла, через 20–22 дня. Считается, что эмбриональная смертность происходит между 7 и 17 днями [2, 7]. Также отмечается потеря стельности между 28 и 98 днями после пересадки. Её величина может достигать от 7 до 33 % [4, 8]. В ряде исследований [9, 10, 11] пристальное внимание уделялось влиянию категории донора эмбрионов (корова или тёлка) как потенциальному фактору, влияющему на сохранение беременности реципиентов, особенно при работе с самками голштинской породы. По результатам исследований установлено, что у

реципиентов, получавших эмбрионы от коров-доноров, наблюдались лучшие результаты стельности по сравнению с эмбрионами, полученными от тёлочек. Эти данные контрастируют с другими исследованиями, в которых не было установлено различий в выживаемости эмбрионов между эмбрионами, полученными от лактирующих и не лактирующих доноров [11, 12]. Вышесказанное определяет необходимость и актуальность проведения исследований, направленных на выработку целостного, системного подхода к совершенствованию технологии на основании изучения вопросов, связанных с применением отдельных технологических приемов, опирающихся на современные научные знания, позволяющие в итоге достигать максимально возможных значений результативности и тем самым решать задачи повышения эффективности технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в целом.

Целью настоящих исследований явилось изучение влияния на эффективность трансплантации эмбрионов категории донора (корова или тёлочка) и быка-производителя, используемого для осеменения.

Материалы и методы исследований. В качестве доноров использовались лактирующие полновозрастные коровы и тёлочки голштинской породы в возрасте 11-12 месяцев. Суперовуляцию вызывали путём внутримышечной инъекции фолликулостимулирующего гормона «Плюсет» на протяжении 5 дней дважды в день с 12-часовым интервалом между инъекциями в сочетании с аналогом простагландина $F_{2\alpha}$ эстрофан на третий день гормональной обработки. Извлекали эмбрионы на 6-8 дни после первого осеменения с использованием катетеров «Нойштадт» и фосфатно-солевого буфера Дюльбекко с добавлением 50 мкг/мл гентомицина и 1%-ной эмбриональной сыворотки крупного рогатого скота. Поиск, оценку качества и стадию развития эмбрионов проводили под микроскопом Olympus 61Z при 20- и 90-кратном увеличении соответственно. Пересадку проводили тёлочкам-реципиентам в возрасте 14-16 месяцев с синхронизированным половым циклом по отношению к донорам.

Результаты эксперимента и их обсуждение. В таблице 1 отражены результаты исследований по изучению эффективности трансплантации эмбрионов в зависимости от донора, стадии развития и рога, в который пересажен эмбрион. Как показывает анализ представленных данных, результаты пересадки эмбрионов у коров практически не зависели от стороны пересадки: 51,1 % стельностей в левом роге и 52,2 % в правом. В то же время у тёлочек пересадки эмбрионов в левый рог оказались на 16,6 п. п. эффективней. Сравнительный анализ уровня приживляемости между коровами и тёлочками показал, что пересадка эмбрионов в левый рог у коров оказалась на 10,5 п. п. выше по сравнению с аналогично

пересадкой тёлкам, в то время как при трансплантации эмбрионов в правый рог уровень стельности оказался выше у тёлочек на 4,9 п. п. Уровень приживляемости морул у коров оказался выше на 4,7 п. п. в левом роге по сравнению с правым, в то время как у тёлочек уровень стельности в левом роге оказался на 14,4 п. п. ниже по сравнению с правым. При трансплантации бластоцист более успешной, как у коров так и у тёлочек, оказалась трансплантация зародышей в правый рог – 56,1 % против 46,1 % у коров и 66,7 % против 45,4 % у тёлочек.

Таблица 1 – Эффективность пересадки эмбрионов в зависимости от донора и стадии их развития

Стадия их развития						
Донор	Рог пересадки	Стадия развития		Количество пересадок, п	Стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
Корова	левый	всего		100	51	51,0
		из них	Мо	61	33	54,1
			Бл	39	18	46,1
	правый	всего		136	71	52,2
		из них	Мо	79	39	49,4
			Бл	57	32	56,1
Итого				236	122	51,7
Тёлка	левый	всего		37	15	40,5
		из них	Мо	26	10	38,5
			Бл	11	5	45,4
	правый	всего		49	28	57,1
		из них	Мо	34	18	52,9
			Бл	15	10	66,7
Итого				86	43	50,0

Таким образом, в целом эффективность трансплантации эмбрионов, полученных от коров, не зависела от того, в какой рог они пересаживались, в то время как от тёлочек эмбрионы приживлялись лучше в правом роге. Морулы от коров оказались более жизнеспособными в левом роге, а бластоцисты – в правом. От тёлочек наоборот уровень приживляемости морул была выше в правом роге, а бластоцист – в левом.

В таблице 2 представлены результаты исследований по изучению взаимовлияния качества эмбрионов, рога, в который они пересаживались, и донора, от которого они получены. Представленные данные говорят о том, что уровень приживляемости эмбрионов, независимо от донора, от которого они получены и в какой рог они переносились, снижался по мере снижения качества зародышей: у коров их приживляемость при пересадке в левый рог снижалась с 54,8 (отличные) до 42,8 %

(удовлетворительные), при пересадке в правый – с 58,2 до 44,4 % соответственно. У тёлочек при пересадке в левый рог приживляемость снижалась с 55,5 до 0 %. При пересадке в правый рог эмбрионы отличного и хорошего качества показали примерно одинаковый результат – 62,5 и 63,6 %, а приживляемость эмбрионов удовлетворительного качества снижалась до 42,9 %. В целом эмбрионы, удовлетворительные по качеству, независимо от того, в какой рог они пересажены и от какого донора они получены, оказались ниже по сравнению с эмбрионами отличного и хорошего качества – 0-44,4 против 50,0-63,6 % соответственно.

Таблица 2 – Эффективность пересадки эмбрионов в зависимости от донора и их качества

Донор	Рог пересадки	Качество эмбрионов	Количество пересадок	Стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
Корова	левый	отличные	42	23	54,8
		хорошие	30	16	53,3
		удовлетворительные	28	12	42,8
	правый	отличные	55	32	58,2
		хорошие	53	28	52,8
		удовлетворительные	28	11	44,4
Тёлка	левый	отличные	18	10	55,5
		хорошие	10	5	50
		удовлетворительные	9	-	-
	правый	отличные	24	15	62,5
		хорошие	11	7	63,6
		удовлетворительные	14	6	42,9

Результат пересадки эмбрионов, полученных от коров, не изменялся от того, в какой рог они пересаживались, в то время как эмбрионы, полученные от тёлочек, показали более высокую приживляемость при их пересадке в правый рог на 7,0-42,9 п. п. Анализ уровня приживляемости проводился среди быков-производителей, спермой которых было оплодотворено не менее пяти доноров. Данные таблиц 3 и 4 показывают, что уровень приживляемости колебался в зависимости от быка от 20 % (бык № 750782) до 80 % (бык 400840). Среди быков, спермой которых было осеменено свыше 10 доноров, уровень стельности составил от 28,6 % (бык № 750811) до 72,7 % (бык 750749).

Таблица 3 – Влияние быка-производителя на уровень стельности

№ п/п	бык	Количество пересадок, п	Стельных реципиентов, п	Уровень стельности, %
1	750749	11	8	72,7
2	750808	25	17	68,0
3	750783	15	10	66,7
4	750873	14	9	64,3
5	750763	46	29	63,0
6	750717	39	20	51,3
7	750746	61	31	50,8
8	500781	65	32	49,2
9	750810	54	26	48,1
10	750871	23	11	47,8
11	750880	16	7	43,8
12	750809	14	5	35,7
13	750701	34	10	29,4
14	750811	14	4	28,6
15	400840	5	4	80,0
16	750875	9	7	77,8
17	750874	5	3	60,0
18	750718	9	3	33,3
19	750870	6	2	33,3
20	750757	9	3	33,3
21	500727	8	2	25,0
22	750782	5	1	20,0

Таблица 4 – Влияние быка-производителя на приживляемость эмбрионов, полученных от коров и тёлочек

Инд. номер быка	Доноры эмбрионов					
	коровы			телки		
	количество пересадок	стельных реципиентов	уровень стельности	количество пересадок	стельных реципиентов	уровень стельности
750746	40	21	52,5	20	10	50,0
750763	38	23	60,5	4	4	100
750812	37	21	56,8	11	4	36,4
750757	13	5	38,5	4	2	50,0
750871	15	12	80,0	26	9	34,6
750873	9	6	66,7	6	4	66,7

Таким образом, разница составляла от 44,1 до 60 п. п. Два быка (750746 и 750873) показали практически одинаковые результаты как у

коров, так и у тёлочек, - 52,5 %, 50,0 и 66,7 %. У двух быков 750763 и 750757 отмечено снижение уровня приживляемости эмбрионов, полученных от коров, по сравнению с эмбрионами, полученными от тёлочек, на 33,6 и 11,5 п. п. соответственно. И два быка показали более высокую приживляемость эмбрионов, полученных от коров, по сравнению с эмбрионами, полученными от тёлочек. Разница составила 20,4 п. п. (бык № 750812) и 45,4 п. п. (бык № 750871).

Заключение. Таким образом, эффективность трансплантации эмбрионов, полученных от коров и тёлочек, практически не отличалась – 51,7 и 50,0 % соответственно. При этом пересадка эмбрионов, полученных от тёлочек, в правый рог, в отличие от коров, оказалась более эффективной по сравнению с пересадкой в левый на 16,6 п. п. Приживляемость эмбрионов на стадии морулы от коров была выше при их пересадке в левый рог на 4,7 п. п., в то время как у тёлочек она была на 14,7 п. п. выше в правом роге. Приживляемость blastocysts, полученных как от коров, так и от тёлочек, оказалась выше при их трансплантации в правый рог. Уровень приживляемости эмбрионов снижался по мере снижения их качества независимо ни от донора, ни от рога, в который они пересаживались. Уровень приживляемости эмбрионов от тёлочек, в отличие от коров, при пересадке в правый рог независимо от качества был более высоким.

Установлено влияние быка-производителя на уровень приживляемости эмбрионов. В целом уровень стельности в зависимости от быка колебался от 20 до 80 %.

Литература

1. Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and treatment with gonadotropin-releasing hormone at the time of insemination in lactating dairy cows / A. Valenza [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2012. – Vol. **95**. – P. 7115–7127. – DOI: 10.3168/jds.2012-5639.
2. Donor category and seasonal climate associated with embryo production and survival in multiple ovulation and embryo transfer programs in Holstein cattle / L. M. Vieira [et al.] // *Theriogenology*. – 2014. – Vol. **82**(2). – P. 204-212. – DOI: 10.1016/j.theriogenology.2014.03.018.
3. Hansen, P. J. The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle – why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it? / P. J. Hansen // *J. Anim. Sci.* – 2020. – Vol. **98**(11): skaa288. – DOI: 10.1093/jas/skaa288.
4. López-Gatius, F. Approaches to increase reproductive efficiency in artificially inseminated dairy cows / F. López-Gatius // *Anim. Reprod.* – 2013. – Vol. **10**, no 3. – P. 143-147.
5. Pivotal periods for pregnancy loss during the first trimester of gestation in lactating dairy cows / M. C. Wiltbank [et al.] // *Theriogenology*. – 2016. – Vol. **86**(1). – P. 239-253. – DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.04.037.
6. Santos, J. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrus synchronization programs / J. Santos, W. Thatcher, R. Chebel // *Anim. Reprod. Sci.* – 2004. – Vol. **83**. – P. 513-535. – DOI: 10.1016/j.anireprosci.2004.04.015.
7. Manipulation of ovarian and uterine function to increase conception rates in cattle / M. Binelli [et al.] // *Reprod. Dom Anim.* – 2012. – Suppl. 4. – P. 134–141. – DOI: 10.1111/j.1439-

0531.2012.02067.x.

8. Pregnancy losses in cattle: potential for improvement / M. G. Diskin [et al.] // Reproduction, Fertility and Development. – 2016. – Vol. 28. – P. 83–93. – DOI: 10.1071/RD15366.

9. Hasler, J. F. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle / J. F. Hasler // Theriogenology. – 2001. – Vol. 56(9). – P. 1401-1415. – DOI: 10.1016/s0093-691x(01)00643-4.

10. Effect of donor - embryo-recipient interactions on pregnancy rate in large-scale bovine embryo transfer program / J. F. Hasler [et al.] // Theriogenology. – 1987. – Vol. 27. – P. 139-168. – DOI:10.1016/0093-691X(87)90075-6

11. Chebel, R. C. Metzger Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds / R. C. Chebel, D. G. B. Demétrio, J. Metzger // Theriogenology. – 2008. – Vol. 69. – P. 98-106. – DOI: 10.1016/j.theriogenology.2007.09.008.

12. Influence of lactation on metabolic characteristics and embryo development in postpartum Holstein dairy cows / V. Maillo [et al.] // J. Dairy Sci. – 2012. – Vol. 95. – P. 3865-3876. – DOI: 10.3168/jds.2011-5270.

Поступила 19.02.2024 г.

УДК 636.2.034:612.02

Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ, В.П. СИМОНЕНКО, А.И. ГАНДЖА,
И.В. КИРИЛЛОВА, Е.Д. РАКОВИЧ, Н.В. ЖУРИНА,
М.А. КОВАЛЬЧУК

РАЗВИТИЕ ЯЙЦЕКЛЕТОК КОРОВ ПОСЛЕ ПРОЦЕДУРЫ ИКСИ

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

Метод ИКСИ (интрацитоплазматическая инъекция сперматозоида) – важный этап вспомогательной репродуктивной технологии для преодоления тех или иных причин бесплодия. Однако эффективность этой методики на сельскохозяйственных животных, в частности коров, остаётся низкой. В этой связи изучение способности яйцеклеток коров к дальнейшему развитию после процедуры ИКСИ актуально. Входе исследований установлено, что жизнеспособность клеток после проведения процедуры микроинъекции спермия обеспечивается введением сперматозоида непосредственно в оолему яйцеклетки с положением первого полярного тельца на 6 или 12 часов. Аспирация в микроиглу производится головкой вперед, а значит транспортировка в оолему после перфорации оболочки хвостовой частью мужской гаметы. Угол изгиба микропипетки в дистальной её части должен составлять 25-30 °. В целом из 52 яйцеклеток в опыте получено 6 дробящихся клеток, что составило 11,5 % от всех результатов микроинъекций. Соблюдение указанных технических параметров процедуры интрацитоплазматической инъекции сперматозоидов позволяет