

ляет 0,6-2,0%, что окупается за счет снижения затрат кормов на единицу прироста.

**Заключение.** Проведенными исследованиями установлено, что добавка в комбикорма цыплят-бройлеров ферментных препаратов («Ронозим VP», «Ронозим WX», «Роксазим G-2») способствует повышению живой массы молодняка на 4,4-6,1%, снижению затрат кормов на единицу прироста на 2,1-4,1%. Экономический эффект составил 275-320 тыс. руб. на 1000 голов выращенного молодняка.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Фисинин В.И. Роль и задачи науки в развитии общественного птицеводства / В.И.Фисинин // Зоотехния. — 1996. — №3. — С. 2-7.
2. Почебут О.Н. Новая ферментная добавка в питании цыплят-бройлеров / О.Н. Почебут // Агроэкономика. — 2001. — №6. — С. 14-16.
3. Почебут О.Н., Василюк Я.В., Дадашко В.В. Сравнительная эффективность ферментных препаратов в питании бройлеров / О.Н. Почебут, Я.В. Василюк, В.В. Дадашко // Известия Академии аграрных наук Республики Беларусь. — 2001. — №2. — С. 22-23.
4. Василюк Я.В., Почебут О.Н., Медведский Н.С., Тарас А.М. Влияние ферментных препаратов на естественную резистентность цыплят-бройлеров Я.В.Василюк и др. // Тезисы докладов X съезда белорусского общества физиологов. — Мн. — 2001. — С. 22-23.

УДК 636.2.612.64.089.67

### НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В СИСТЕМЕ IN VITRO

**Л.В. Голубец, М.П. Старовойтова, А.Е. Отрошенко, А.С. Дешко,  
Е.К. Стецкевич**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»  
г. Гродно, Республика Беларусь

**Аннотация.** По итогам исследований установлено, что средняя длина яичников составила  $33,1 \pm 4,1$  с колебанием от 21,3 до 43,1 мм; ширина —  $19,2 \pm 1,32$  и объем яичника в среднем —  $6,8 \pm 0,62$  (lim — 3,5-12,1). На один яичник было получено  $11,5 \pm 0,93$  ооцита, в том числе  $5,9 \pm 0,57$  пригодных для постановки на дозревание (51,3%). Наиболее эффективным оказалось использование яичников объемом свыше  $6,0 \text{ см}^3$ . При использовании доноров первой и второй лактации выход качественных клеток превышал их выход у доноров 3 и 4 лактации на 12,4 и 15,7; 13,4 и 16,7% при  $P < 0,01$ . Уровень дробления колебался от 39,2 до 49,7%, а выход бластоцист от 6,2 до 10,3%. Заболевания репродуктивных органов отрицательно сказываются на здоровье животных. Так, уровень дробящихся зародышей сокращается на 15,4 и 10,7%, а выход бластоцист (по отношению к дробящимся зародышам) на 13,8%.

**Summary.** Following the results of researches it is established that the average length ovaries has made  $33,1 \pm 4,1$  with fluctuation from 21,3 to 43,1 mm; width –  $19,2 \pm 1,32$  and volume ovary on the average –  $6,8 \pm 0,62$  (lim – 3,5-12,1). On one ovary it has been received  $11,5 \pm 0,93$  oocytes, including  $5,9 \pm 0,57$  suitable for statement on ripening (51,3%). Use ovaries in volume over 6,0 sm<sup>3</sup> has appeared the most effective. At use to-habit the first and second lactation the exit of qualitative cages exceeded their exit at donors of 3 and 4 lactations on 12,4 and 15,7; 13,4 and 16,7% at  $P < 0,01$ . Crushing level hesitated from 39,2 to 49,7%, and an exit blastocysts from 6,2 to 10,3%. Diseases of reproductive bodies negatively affect on health of animals. So, level of split up germs is reduced to 15,4 and 10,7%, and an exit blastocysts (in relation to split up germs) on 13,8%.

**Введение.** С разработкой технологии искусственного осеменения роль быков-производителей в совершенствовании стада резко возросла. Потомство, полученное от них, может достигать десятков тысяч голов.

В то же время роль маток осталась на прежнем уровне, т.е. за всю продуктивную жизнь она может произвести от 3 до 6 телят. С внедрением современных технологий, когда на комплексах содержится до тысячи голов коров одновременно, круглогодичное стойловое содержание – этот срок уменьшается на порядок до 2-3 лактаций [6].

Между тем биологические возможности коров достаточно велики. Так, у новорожденных телочек в яичниках насчитывают свыше 70 тысяч потенциальных яйцеклеток, а у половозрелых коров этот показатель по некоторым данным может превышать 700 тыс. В связи с чем исследования многих ученых еще с конца 19 века были направлены на решение проблемы максимального использования этого огромного репродуктивного потенциала [1, 4, 10].

В настоящее время благодаря последним достижениям в области биологии размножения открылись новые возможности интенсификации процессов воспроизведения высокоценных генотипов сельскохозяйственных животных. Было установлено, что ооциты, извлеченные из фолликулов, при создании соответствующих условий способны возобновлять мейоз и созревать до стадии оплодотворения (M-II). Оплодотворение созревших вне организма яйцеклеток позволяет получать эмбрионы на разных стадиях развития, а их пересадка реципиентам – возможность получать племенной молодняк [2].

Выполняя ту же самую роль, что и трансплантация эмбрионов (максимально использовать репродуктивный и генетический потенциал), технология получения эмбрионов к культуре *in vitro* имеет целый ряд преимуществ:

1. Не требует гормональной обработки (гормонального вмешательства в половой цикл животного) и не удлиняет сервис-период.

2. Отпадает необходимость в такой трудоемкой операции, как ежедневная (в течение 4-х дней по два раза в день через 12 часов) инъекция гентропина.

3. Использование метода трансцервикальной аспирации ооцитов позволяет получать клетки независимо от дня полового цикла до двух раз в неделю без ущерба для здоровья животного. Извлекать ооциты у половозрелых телочек. Кроме этого роль *in vitro* значительно возросла с точки зрения экологии. Получение эмбрионов в культуре *in vitro* играет важную роль в получении трансгенных животных-продуцентов биологически активных веществ, различных лекарственных препаратов дешевых и экологически безопасных [7].

Технология *in vitro* позволяет получать неограниченное количество ооцитов и оплодотворять их в культуре *in vitro* и в любой момент времени получать зиготы на стадии двух пронуклеусов [3, 5, 8, 9].

Таким образом, перечисленные выше биотехнологические направления интенсификации использования генетического ресурса высокопродуктивного стада, имеющегося в области и в республике, дополняя и расширяя друг друга, должны стать неотъемлемым звеном повышения эффективности селекционного процесса, расширения возможности использования репродуктивного потенциала не только быков-производителей, но и материнского стада. Что крайне важно для Гродненской области, обладающей высоким генетическим потенциалом крупного рогатого скота, современными технологиями производства молока, кормопроизводства, кормления и содержания животных.

**Цель работы.** Изучить влияние различных факторов на эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro*.

**Материал и методика исследований.** Исследования проведены в биотехнологическом центре по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Объектом исследований служили ооциты крупного рогатого скота и коровы-доноры ооцитов. Предмет исследований – эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* в зависимости от возраста доноров и их физиологического состояния.

Яичники получали путем вариозектомии на конвейере Гродненского мясокомбината. После чего они помещались в бытовой термос с солевым раствором Хенкса при температуре 25-27<sup>0</sup>С. После доставки в лабораторию яичники освобождали от жира и жировой ткани, дважды промывали в свежем растворе Хенкса. Ооциты выделяли путем рассечения ткани яичников стерильным лезвием безопасной

бритвы в стеклянной чашке Петри диаметром 90 мм в солевом растворе Хенкса с добавлением 1% эстральной сыворотки коров, 10 ед/мл гентомицина и 1 ед/мл гепарина. Поиск и оценку качества ооцитов проводили под бинокулярным микроскопом «Olympus».

Подготовку спермы проводили по методу «флотации», суть которого заключается во всплытии наиболее активной фракции сперматозоидов в верхние слои среды для капацитации. После часовой инкубации эта фракция отмывается путем центрифугирования при 3000 об/мин в течение 10 минут и сначала в среде для капацитации (1 мл) без гепарина, затем с добавлением 50 ед/мл гепарина. После этого осадок со спермой помещается в среду для оплодотворения и дважды отмывается в том же режиме, что и в среде для капацитации.

Оплодотворение проводили замороженно-оттаянной спермой, подготовленной по методу флотации в концентрации 800-850 тыс/мл.

Совместная инкубация продолжалась в течение 18-20 часов при температуре 38 °С, максимальной влажности и в присутствии 5% CO<sub>2</sub> в атмосфере. После совместной инкубации ооциты отмывались от спермы и в среде для культивирования ранних зародышей помещались в CO<sub>2</sub> инкубатор на 7-9 дней до получения эмбрионов на предимплантационных стадиях развития.

Питательные среды для созревания, капацитации и оплодотворения были приготовлены по нашим методикам на основе реактивов фирмы Sigma.

Биометрическую обработку полученного цифрового материала проводили общепринятыми методами вариационной статистики.

**Результаты исследований и их обсуждение.** По мнению многих отечественных и зарубежных авторов, выход и качество ооцитов во многом определяется морфофункциональным состоянием яичников.

В таблице 1 представлены усредненные данные морфологических параметров яичников, использованных в опытах по получению эмбрионов в культуре *in vitro*.

Таблица 1 – Параметры яичников коров, использованных для получения ооцит-кумулусных комплексов

Показатели	M±m	lim	Cv
1	2	3	4
Длина яичника (мм)	33,1±4,1	21,3 - 43,1	47,7
Ширина яичника (мм)	19,2±1,32	10,9 - 27,1	26,6
Объем яичника (см <sup>3</sup> )	6,8±0,62	3,5 - 12,1	35,3
Количество антральных фолликулов	18,7±1,45	11 - 32	29,9
Количество фолликулов диаметром до 2 мм	10,6±0,83	5 - 15	30,2
Количество фолликулов диаметром 2-4 мм	6,1±0,93	1 - 15	59,0
Количество фолликулов диаметром более 4 мм	2,0±0,59	1 - 5	68,0

Продолжение таблицы 1			
1	2	3	4
Количество ооцитов на один яичник	11,5±0,93	5 – 19	31,3
в том числе пригодных для созревания	5,9±0,57	3 – 9	37,3
непригодных к культивированию	5,6±0,92	2 - 12	63,9

Как видно из приведенных данных, средняя длина яичников составляла 33,1±4,1 с колебанием от 21,3 до 43,1 мм. Ширина – 19,2±1,32 при коэффициенте вариации 26,6%. Объем яичника составлял в среднем 6,8±0,62 см<sup>3</sup> (lim – 3,5-12,1).

Общее количество антральных фолликулов на один яичник составляло 18,7±1,45, в том числе диаметром до 2 мм – 10,6±0,83; от 2 до 4 мм – 6,1±0,93 и диаметром свыше 4 мм – 2,0±0,59 с размахом колебаний 5-15; 1-15 и 1-5, соответственно. Что касается выхода ооцитов, то на один яичник было получено 11,5±0,93 ооцита, в том числе 5,9±0,57 пригодных для постановки на дозревание (51,3%).

В таблице 2 представлены данные о взаимосвязи количества фолликулов и полученных ооцитов с объемом яичника.

Как показывает анализ данных, наблюдается четкая тенденция увеличения указанных показателей у яичников объемом свыше 6,0 см<sup>3</sup>, за исключением количества пригодных для культивирования ооцитов.

При этом отмечается достоверное (P<0,05) увеличение количества фолликулов диаметром 2-4 мм.

Таблица 2 – Взаимосвязь количества ооцитов и фолликулов с объемом яичников

Показатели	Объем яичников, см <sup>3</sup>	
	до 6,0 n=7	более 6,0 n=8
Количество антральных фолликулов	16,6±1,42	20,5±2,30
Количество фолликулов диаметром до 2 мм	9,1±1,46	10,6±4,50
Количество фолликулов диаметром 2-4 мм	4±0,81	7,9±1,35*
Количество фолликулов диаметром свыше 4 мм	2±0,96	2,0±0,60
Количество ооцитов на один яичник	10,8±1,15	12,5±1,50
Количество ооцитов пригодных для культивирования	6,6±1,3	5,2±1,28
Количество ооцитов не пригодных для культивирования	4,3±0,99	6,7±1,25

В таблице 3 представлены результаты исследований по определению эффективности получения эмбрионов вне организма в зависимости от порядкового номера лактации.

Анализ представленных данных показывает, что достоверные данные получены только по выходу качественных ооцитов. При использовании доноров первой и второй лактации выход качественных клеток превышал их выход у доноров 3 и 4 лактации на 12,4 и 15,7; 13,4 и 16,7% при P<0,01. По остальным показателям достоверных раз-

личий не отмечено. Уровень дробления колебался от 39,2 до 49,7%, а выход бластоцист от 6,2 до 10,3%.

Таблица 3 – Влияние количества лактаций на количество и качество ооцитов и их оплодотворимость

Показатели	Порядковый номер лактации			
	1-я	2-я	3-я	4-я
Количество доноров, п	11	10	12	9
Количество ооцитов всего, п	208	197	271	184
Количество ооцитов на донора, п	18,9±2,2	19,7±2,0	22,6±1,54	20,4±1,67
Количество качественных ооцитов, п - %	148 -71,7**	142 - 72,1**	159 - 58,7	102 - 55,4
в т.ч. на донора	13,4±1,9	14,2±1,68	13,2±1,28	11,3±0,9
Оплодотворено ооцитов, п - %	148 - 100	142 - 100	159 - 100	102 - 100
Уровень дробления	58 - 39,2	60 - 42,2	79 - 49,7	46 - 45,1
Выход морул-бластоцист	26 - 17,6	22 - 15,5	29 - 18,2	16 - 15,7
в т.ч. бластоцист	2 - 7,7	2 - 9,1	3 - 10,3	1 - 6,2

Одной из наиболее распространенных причин выбытия животных на мясокомбинат являются заболевания репродуктивных органов. Как видно из таблицы 4, в которой приведены данные по изучению влияния дисфункции яичников, эндометрита и заболевания вымени на результаты культивирования ооцитов в системе *in vitro*.

Таблица 4 – Эффективность получения эмбрионов крупного рогатого скота в системе *in vitro* в связи с состоянием репродуктивных органов

Показатели	Группы животных				
	Контроль	Гипо-функция яичников	Киста яичников	Эндометрит	Мастит
1	2	3	4	5	6
Количество животных, п	10	9	7	12	7
Получено ооцитов всего, п	280	90	91	252	161
в т.ч. качественных, п - %	163 - 58,2	16 - 17,9	19 - 20,9	98 - 38,9	70 - 43,5
Получено ооцитов на донора всего, п	28±2,03***	10±1,23	13±2,1	19±1,5***	23±1,65
в т.ч. качественных, п	16,3±0,97	1,8±0,52	2,7±0,29	8,2±0,88	10,0±1,11
%	58,2	18,0	14,2	8,4	14,3
Оплодотворено ооцитов, п	163 - 100	16 - 100	19 - 100	98 - 100	70 - 100

Продолжение таблицы 4

1	2	3	4	5	6
Количество дробящихся зародышей, n - %	85 – 52,1	2* - 12,5	3* - 15,6	36 – 36,7	22 – 41,4
Выход морул-бластоцист, n - %	54 – 33,1	—	—	8 – 8,2	8 – 11,4
в т.ч. отличного качества, n - %	104 – 63,8	—	—	4 – 50,0	4 – 50,0
Выход бластоцист, n - %	39 – 72,2	—	—	1 – 25,0	2 – 50,0
из них отличного качества, n - %	35 – 89,7	—	—	1 - 100	2 – 66,7

Анализ приведенных данных показывает, что наиболее негативное влияние на успех работы при получении бластоцист оказывает наличие у животного заболеваний яичников (гипофункция и кистозное преобразование).

При наличии эндометрита и мастита выход ооцитов на донора сокращается на 32,1 и 17,8% ( $P < 0,001$ ), в том числе качественных на 49,7 и 38,6% ( $P < 0,001$ ). Уровень дробящихся зародышей – на 15,4 и 10,7%, а выход бластоцист (по отношению к дробящимся зародышам) – на 13,8%. Их наличие достоверно снижает выход ооцитов на донора на 64,3 и 53,6% ( $P < 0,01$ ), в том числе качественных на 88,9 и 83,4%, соответственно ( $P < 0,001$ ).

**Заключение.** Таким образом, как показал анализ полученных результатов, средняя длина яичников составила  $33,1 \pm 4,1$  с колебанием от 21,3 до 43,1 мм. Ширина –  $19,2 \pm 1,32$  при коэффициенте вариации 26,6%. Объем яичника в среднем составил  $6,8 \pm 0,62 \text{ см}^3$  (lim – 3,5-12,1). На один яичник было получено  $11,5 \pm 0,93$  ооцита, в том числе  $5,9 \pm 0,57$  пригодных для постановки на дозревание (51,3%).

Наблюдается четкая тенденция увеличения количества фолликулов и ооцитов у яичников объемом свыше  $6,0 \text{ см}^3$ , за исключением количества пригодных для культивирования клеток. Кроме этого, отмечается достоверное ( $P < 0,05$ ) увеличение количества фолликулов диаметром 2-4 мм.

При использовании доноров первой и второй лактации выход качественных клеток превышал их выход у доноров 3 и 4 лактации на 12,4 и 15,7; 13,4 и 16,7% при  $P < 0,01$ . Уровень дробления колебался от 39,2 до 49,7%, а выход бластоцист от 6,2 до 10,3%.

При наличии эндометрита и мастита выход ооцитов на донора сокращается на 32,1 и 17,8% ( $P < 0,001$ ), в том числе качественных – на 49,7 и 38,6% ( $P < 0,001$ ). Уровень дробящихся зародышей на 15,4 и

10,7%, а выход бластоцист (по отношению к дробящимся зародышам) – на 13,8%.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Эрнст, Л.К., Сергеев, Н.И. Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных. – М.: Агропромиздат, 1989. – 302 с.
2. Brachett, B.G. Normal development following in vitro fertilization in the cow / B.G. Brachett, D. Bausque, W.J. Donawick // Biol. Reprod. – 1982. – Vol. 27. – P. 147-158.
3. De Loos, F. Morphology of immature bovine oocytes / F. De Loos, P. Van Mawik // Gametes Res. - 1989. - Vol. 24. - P. 197-204.
4. Dewit, A. Effect of urea during in vitro maturation on nuclear maturation and embryo development of bovine Cumulus-Oocyte-complexes / A. Dewit, M.L. Cesar // J. Dairy Sci. - 2001.- Vol. 84. - P. 1800-1804.
5. Dominguez, M.M. Effects of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows / M.M. Dominguez // Theriogenology. – 1995. - Vol. 43. - P. 1405 – 1418.
6. Kato, H. Effects of follicular fluid and follicular walls on bovine oocyte maturation // H. Kato // Theriogenology. - 1998. – Vol. 49, №1. - P. 313.
7. Kendrick, K.W. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows, using transvaginal follicular aspiration / K.W. Kendrick, T.L. Bailey, R.E. Pearson, A.S. Garst // J. Dairy Sci. – 1999. - Vol. 82. - P. 1731-1740.
8. Larocca, C. Effect of follicular fluid from different sized follicles on in vitro development of bovine embryos produced In Vitro / C. Larocca, J. Calvo, G. Roses // Theriogenology. - 1998. – Vol. 49, №1. - P. 289.
9. Vassena, R. Morphology and developmental competence of bovine oocytes relative to follicular status / R. Vassena, J. Singh, P. Adams, S. Allodi // Theriogenology. - 2003. - Vol. 60, №5. - P. 923-932.
10. Ward, F.A. Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production in vitro using ovum pick-up technology / F.A. Ward, P. Lonergan, M.P. Boland, B.P. Enright // Theriogenology. – 2000. - Vol. 54, №3. - P. 433-446.

УДК 636. 52/. 58. 087

### **ПРОДУКТИВНОСТЬ РЕМОНТНОГО МОЛОДНЯКА КУР ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ В КОМБИКОРМАХ НОВОЙ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ**

**В.Ю. Горчаков<sup>1</sup>, Я.В. Василюк<sup>1</sup>, В.В. Дадашко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

<sup>2</sup>РУП «Опытная научная станция по птицеводству»

г. Заславль, Минская обл., Республика Беларусь

***Аннотация.** Проведены исследования по использованию новой кормовой добавки на основе микробных белков КД-Л в кормлении ремонтного молодняка кур. В результате проведенных исследований установлено, что скармливание новой кормовой добавки оказывает положительное влияние на интенсивность*