

УДК 636.2: 612.646:618.11–008.64

И. И. БУДЕВИЧ¹, А. И. БУДЕВИЧ¹, Д. Н. ВОРОБЬЕВ¹, В. В. КОЧЕТКОВ¹, Р. Г. КУЗЬМИЧ²

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОРОВ В КАЧЕСТВЕ ДОНОРОВ ЭМБРИОНОВ ПОСЛЕ РЕПАРАЦИИ ИХ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИИ

¹ Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству,

² Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

(Поступила в редакцию 25.02.2009)

Технология трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота предусматривает широкое использование коров в качестве доноров ценного в генетическом отношении биоматериала с целью получения максимально возможного количества потомков от выдающихся особей. Одним из важнейших критериев отбора доноров является отсутствие различного рода акушерско-гинекологических заболеваний, при наличии которых существенно снижаются основные показатели эмбриопродукции животных. Вместе с тем воспроизводительная система большей части потенциальных доноров зародышей, как правило, наиболее сильно подвержена гинекологическим патологиям, вследствие чего выбор и проведение терапевтических процедур может повлиять на продолжительность восстановления репродуктивной функции, проявление половой цикличности животных и, как следствие, на возможность и сроки запуска коров в суперовуляторную обработку [1].

По данным некоторых авторов [2–4], дифференцированная подготовка коров к индукции множественной овуляции и вымыванию эмбрионов в 80% случаев позволяет получать полноценные зародыши от доноров после лечения и восстановления половой цикличности. Однако, другие исследователи [5–7] указывают на низкую эмбриопродуктивность животных после репарации таких патологий, как эндометрит и гипофункция яичников. Тем не менее использование высокопродуктивных коров с восстановленной репродуктивной функцией в качестве доноров эмбрионов является важным звеном, обеспечивающим повышение рентабельности метода трансплантации эмбрионов в хозяйствах, специализирующихся на выращивании племенного молодняка, вследствие наличия в республике ограниченного количества выдающихся животных для получения быков с целью своевременного пополнения и ремонта стад племпредприятий, что предопределяет наиболее полную реализацию генетического потенциала доноров через их эмбриопродукцию и трансплантацию биоматериала реципиентам.

Цель исследования – изучение эмбриопродуктивности коров-доноров после восстановления их воспроизводительной функции.

Материалы и методы исследования. Исследования проводили в РУСП «Племзавод «Красная Звезда» Минской, РСУП «Племзавод «Кореличи» Гродненской и РСУП «Брестплемпредприятие» Брестской областей. В качестве доноров использовали лактирующих и выбракованных коров черно-пестрой породы в возрасте 5–8 лет с удоем не менее 8000 кг молока за наивысшую лактацию жирностью 3,8% и более.

Из отобранных и поставленных на лечение потенциальных коров-доноров было сформировано четыре опытные группы: в I ($n = 10$) и II ($n = 10$) группы вошли животные с диагнозом гипофункции яичников, в III ($n = 15$) и IV ($n = 17$) – с диагнозом фолликулярной кисты.

Контрольную группу ($n = 12$) составили клинически здоровые лактирующие коровы чернопестрой породы, пригодные для индукции множественной овуляции, проводимой через 60–90 дней после отела.

Перед вызыванием суперовуляции у коров опытных групп осуществляли восстановление репродуктивной функции с использованием ветеринарных препаратов согласно наставлениям по их применению по нижеприведенным разработанным схемам (табл. 1), при этом животным дважды в первый день лечебных курсов и далее через 10–15 дней инъецировали комплексный препарат «Мультивит + Минералы» (Голландия) по 20 мл.

По результатам нормализации воспроизводительной функции и проявлению половой охоты у коров определяли эффективность предлагаемых схем лечения. В последующем выздоравливавших животных обрабатывали гонадотропными препаратами с целью вызывания суперовуляции по стандартным схемам. В качестве гонадотропина использовали ФСГ-супер (Россия) в общей дозе 50 А. Е. на одного донора.

Т а б л и ц а 1. Схемы восстановления репродуктивной функции коров-доноров при гипофункции яичников и фолликулярной кисте

Вариант опыта	День обработки	Препарат	Способ введения	Общая доза
<i>Гипофункция яичников</i>				
I группа	1	Фоллигон	Внутримышечно	600 МЕ
II группа		Фоллимаг	Внутримышечно	600 МЕ
I и II группы	3, 5–6 (контроль охоты)	Эстрофан	Внутримышечно	500 мкг
I и II группы	16, 18–19 и 39–40 (контроль охоты)	Эстрофан	Внутримышечно	500 мкг
	49–50	Гормональная индукция суперовуляции		
<i>Фолликулярная киста</i>				
III группа	1	Прогестерон	Внутримышечно	250 мкг
III и IV группы		Сурфагон	Внутримышечно	20 мкг
IV группа		Хорулон	Внутримышечно	1500 ИЕ
III и IV группы	9	Фоллигон	Внутримышечно	500 МЕ
III и IV группы	11, 13–14 (контроль охоты)	Эстрофан	Внутримышечно	500 мкг
III и IV группы	23, 25–26 и 45–46 (контроль охоты)	Эстрофан	Внутримышечно	500 мкг
	55–56	Гормональная индукция суперовуляции		

Основные технологические элементы трансплантации (индукция суперовуляции, извлечение, оценка и пересадка эмбрионов) осуществляли согласно методическим рекомендациям Института животноводства [8]. Осеменение коров-доноров проводили замороженно-оттаянной спермой ректоцервикальным способом дважды с интервалом 10–12 ч, используя сперму с активностью не ниже 4 баллов.

В исследованиях учитывали следующие основные показатели: количество животных, проявивших половую охоту после лечения; реакцию суперовуляции у коров-доноров; выход эмбрионов, в том числе пригодных к использованию; возрастной и качественный состав зародышей.

Полученные экспериментальные данные были обработаны биометрически.

Результаты и их обсуждение. Данные исследований по основным показателям эмбриопродукции коров-доноров после лечения гипофункции яичников (табл. 2) свидетельствуют о том, что все животные проявили половую охоту, таким образом животные были признаны пригодными для вызывания суперовуляции. В среднем на донора в опытных группах реакция суперовуляции составила 8,1 желтых тел, что на 24,6% меньше по сравнению с контрольной группой животных. Также отмечено превосходство контрольной группы по количеству извлеченных и качественных эмбрионов над донорами с восстановленной репродуктивной системой на 37,4% (8,58 против 5,37) и 33,0% (5,5 против 3,68) соответственно.

Т а б л и ц а 2. Эмбриопродуктивность коров-доноров после лечения гипофункции яичников

Показатель	I группа	II группа	Среднее по группам	Контрольная группа
Поставлено на лечение, гол.	10	10	20	–
Из них проявили половую охоту, гол. (%)	10 (100,0)	10 (100,0)	20 (100,0)	–
Подвергнуто вызыванию суперовуляции, гол.	10	10	20	12
Реагировало суперовуляцией, гол. (%)	10 (100,0)	10 (100,0)	20 (100,0)	12 (100,0)
Реакция полиовуляции, ж. т.	7,50±1,27	8,70±1,09	8,10±0,82	10,75±1,46
Положительных по извлечению доноров, гол. (%)	10 (100,0)	9 (90,0)	19 (95,0)	12 (100,0)
Извлечено эмбрионов, всего	5,40±1,47	5,33±0,75	5,37±0,83	8,58±1,36
В том числе:				
пригодных	3,60±0,81	3,78±0,49	3,68±0,47	5,50±1,14
непригодных	1,80±0,90	1,55±0,41	1,68±0,50	3,08±1,29
из них:				
дегенерированные	0,90±0,50	0,44±0,24	0,68±0,29	1,41±0,53
неоплодотворенные яйцеклетки	0,90±0,48	1,11±0,42	1,00±0,32	1,67±0,84
Выход качественных эмбрионов, %	66,7	70,9	68,5	64,1
Оплодотворяемость, %	83,4	79,2	81,4	80,5

По средним показателям выхода полноценных эмбрионов из общего эмбриосбора и оплодотворяемости яйцеклеток получены схожие результаты (64,1 против 68,5% и 80,5 против 81,4% соответственно). Следует отметить, что эффективность проведенного лечения и показатели вызывания суперовуляции у коров-доноров в I и II опытных группах существенно не различались.

Анализ эмбриопродукции коров-доноров после восстановления воспроизводительной способности при гипофункции яичников (табл. 3) показал, что стадии развития полученных зародышей в целом соответствовали периоду их извлечения (7-е сутки от начала половой охоты), а количественные показатели поздних морул и ранних бластоцист были практически аналогичны таковым в контрольной группе животных (68,6% против 75,6%). Вместе с тем опытные группы доноров отличались наличием ранних морул (12,9%), а число полученных зародышей, оцененных как «отлично» и «хорошо», находилось на уровне показателей животных, не подвергавшихся репарации репродуктивной функции (90,0% против 93,9%).

Т а б л и ц а 3. Характеристика эмбриопродукции коров-доноров после восстановления воспроизводительной способности при гипофункции яичников, n (%)

Показатель	I группа	II группа	Среднее по группам	Контрольная группа
<i>Стадия развития полноценных эмбрионов</i>				
Морула ранняя	8 (22,3)	1 (2,9)	9 (12,9)	–
Морула поздняя	15 (41,5)	16 (47,1)	31 (44,3)	36 (54,5)
Бластоциста ранняя	8 (22,3)	9 (26,4)	17 (24,3)	14 (21,1)
Бластоциста поздняя	5 (13,9)	8 (23,6)	13 (18,5)	16 (24,4)
Всего	36 (100,0)	34 (100,0)	70 (100,0)	66 (100,0)
<i>Качественная характеристика эмбрионов</i>				
Отлично	30 (83,3)	20 (58,8)	50 (72,0)	40 (60,6)
Хорошо	5 (13,9)	8 (23,5)	13 (18,0)	22 (33,3)
Удовлетворительно	1 (2,8)	6 (17,6)	7 (10,0)	4 (6,1)
Всего	36 (100,0)	34 (100,0)	70 (100,0)	66 (100,0)

Эффективность восстановления воспроизводительной функции у доноров при фолликулярной кисте (табл. 4) была недостаточно высокой, что вполне свойственно при терапии данной патологии. Так, из 32 коров после проведенного курса лечения половую охоту проявила 21 (65,6%), а признаны пригодными для вызывания суперовуляции – 20 (62,5%).

Таблица 4. Эмбриопродуктивность коров-доноров после лечения фолликулярной кисты

Показатель	I группа	II группа	Среднее по группам	Контрольная группа
Поставлено на лечение коров	15	17	32	–
Из них проявили половую охоту, гол. (%)	10 (66,7)	11 (64,7)	21 (65,6)	–
Подвергнуто вызыванию суперовуляции, гол.	10	10	20	12
Реагировало суперовуляцией, гол. (%)	9 (90,0)	9 (90,0)	18 (90,0)	12 (100,0)
Реакция полиовуляции, ж. т.	9,11±1,60	8,11±1,31	8,61±1,01	10,75±1,46
Положительных по извлечению доноров, гол. (%)	8 (88,9)	9 (100,0)	17 (94,4)	12 (100,0)
Извлечено эмбрионов, всего	4,88±1,61	5,66±0,82	5,29±0,85	8,58±1,36
В том числе:				
пригодных	4,00±1,64*	2,33±0,44*	3,12±0,80	5,50±1,14
непригодных	0,88±0,23*	3,33±0,99*	2,18±0,60	3,08±1,29
из них:				
дегенерированные	0,25±0,16	0,44±0,24	0,35±0,15	1,41±0,53
неоплодотворенные яйцеклетки	0,63±0,18	2,89±1,06	1,82±0,62	1,67±0,84
Выход пригодных эмбрионов, %	82,0	41,1	59,0	64,1
Оплодотворяемость, %	87,1	49,0	65,6	80,5

* $P \leq 0,05$.

Реагировало на введение гонадотропинов 90% животных опытных групп с количественным показателем желтых тел 8,61, что на 20% ниже по сравнению с контролем. По числу пригодных к пересадке эмбрионов III опытная группа превосходила IV на 41,7% (4,0 против 2,33; $P \leq 0,05$) и уступала последней по количеству некачественных зародышей в 3,8 раза (0,88 против 3,33; $P \leq 0,05$). Тем не менее достоверных различий по показателю полноценного биоматериала между III группой доноров и контролем (4,0 против 5,5) не отмечено, а процентное значение выхода качественных эмбрионов от числа извлеченных и оплодотворяемость в указанной группе было выше, чем у доноров, не подвергавшихся лечению, на 17,9 и 6,6% (82,0 и 87,1% против 64,1 и 80,5%).

Сравнительный анализ характеристики эмбриопродукции опытных животных (табл. 5) выявил различия между III и IV группами по количеству зародышей на стадии поздней бластоцисты и поздней морулы (62,6 и 33,4%; 18,7 и 52,3% соответственно).

Таблица 5. Характеристика эмбриопродукции у коров-доноров после восстановления воспроизводительной функции при фолликулярной кисте, n (%)

Показатель	I группа	II группа	Среднее по группам	Контрольная группа
<i>Стадия развития пригодных эмбрионов</i>				
Морула поздняя	6 (18,7)	11 (52,3)	17 (32,2)	36 (54,5)
Бластоциста ранняя	6 (18,7)	3 (14,3)	9 (16,9)	14 (21,1)
Бластоциста поздняя	20 (62,6)	7 (33,4)	27 (50,9)	16 (24,4)
Всего	32 (100,0)	21 (100,0)	53 (100,0)	66 (100,0)
<i>Качественная характеристика эмбрионов</i>				
Отлично	26 (81,3)	13 (61,9)	39 (73,6)	40 (60,6)
Хорошо	6 (18,7)	7 (33,7)	13 (24,6)	22 (33,3)
Удовлетворительно	–	1 (4,70)	1 (1,8)	4 (6,1)
Всего	32 (100,0)	21 (100,0)	53 (100,0)	66 (100,0)

Эмбрионы, полученные от коров-доноров после лечения воспроизводительной системы, в 95,3–100% соответствовали категориям отличного и хорошего качества и по этому показателю превосходили в среднем на 4,3% коров-доноров контрольной группы.

Выводы

1. Использование высокопродуктивных коров после восстановления их репродуктивной функции в качестве доноров зародышей позволяет получать высокие показатели суперовуляции в технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

2. Разработаны комплексные схемы нормализации воспроизводительной системы у потенциальных доноров зародышей с последующей индукцией множественной овуляции, позволяющих увеличить количество коров (до 81,3% от общего числа животных, подвергнутых лечению), привлекаемых в качестве источника эмбриоматериала.

3. Репарация репродуктивной функции у потенциальных коров-доноров не оказывает отрицательного влияния на качество получаемого биоматериала у животных, а стадия развития эмбрионов соответствует временным параметрам их извлечения.

Литература

1. Воскобойников, В. М. Проблемы диагностики, терапии и профилактики незаразных болезней сельскохозяйственных животных в промышленном животноводстве / В. М. Воскобойников // Тезисы докл. всесоюз. науч. конф. – Воронеж, 1986. – С. 11.

2. Ибрагимов, Ю. Факторы, влияющие на эффективность гормонального вызывания суперовуляции, качества и приживляемость эмбрионов при трансплантации // Биотехнологические приемы в технологии трансплантации эмбрионов: бюл. науч. работ ВИЖ. – Вып. 104. – 1991. – С. 31–34.

3. Мадисон, В. Л. Методические рекомендации по отбору и использованию высокопродуктивных коров-доноров эмбрионов / В. Л. Мадисон, В. И. Лебедев, А. П. Дронин; ВИЖ. – Жодино, 1993. – 28 с.

4. Эффективность использования выбракованных высокопродуктивных коров в качестве доноров эмбрионов после лечения органов воспроизведения / Н. Ф. Жук [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. – Жодино, 2000. – Т. 35. – С. 69–75.

5. Мюйрсепп, И. Причины низкого количества и качества эмбрионов при суперовуляции / И. Мюйрсепп, Р. Хинт // Трансплантация эмбрионов у крупного рогатого скота: тез. докл. – Таллин, 1986. – С. 20–21.

6. Мюйрсепп, И. Я. Зависимость количества и приживляемость эмбрионов от состояния эндометрия коров-доноров эмбрионов / И. Я. Мюйрсепп, Ю. Р. Яакма // Профилактика незаразных болезней у коров: тез. докл. науч.-практ. конф. – Тарту, 1988. – С. 119–120.

7. Практикум по акушерству, гинекологии и искусственному осеменению сельскохозяйственных животных / В. С. Шипилов [и др.]. – М.: Агропромиздат, 1988. – 386 с.

8. Методические рекомендации по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота /сост.: И. И. Будевич [и др.] / БелНИИЖ. – Жодино, 2004. – 33 с.

I. I. BUDEVICH, A. I. BUDEVICH, D. N. VOROBYEV, V. V. KOCHETKOV, R. G. KUZMICH

USAGE OF COWS AS EMBRYO DONORS AFTER REPARATION OF THEIR REPRODUCTIVE FUNCTION

Summary

Complex schemes for normalization of the reproductive system of potential embryo donors with a further induction of multiple ovulation that let us raise the number of cows (up to 81.3% of the general amount of animals subjected to cure) that are the source of embryo material are developed. Usage of highly productive cows after restoration of their reproductive function as donors of embryos let us get high estimates of superovulation in the technology of cattle embryos transplantation, has no negative influence on the quality of biological material, and the embryo development stage corresponds to the time frameworks of their extraction.