

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«КУБАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ И. Т. ТРУБИЛИНА»



НИМБОНА КОНСТАНТИН

РАЗРАБОТКА ИННОВАЦИОННОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ  
И ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ У ТЕЛОК И КОРОВ

4.2.5. Разведение, селекция, генетика и биотехнология животных

Диссертация на соискание ученой степени кандидата  
сельскохозяйственных наук

Научный руководитель: доктор с.-х. наук,  
профессор Куликова Надежда Ивановна

Краснодар 2023

## Содержание

ВВЕДЕНИЕ	3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1 История и характеристика скота голштинской и айрширской пород	9
1.2 Физиология эмбрионального развития крупного рогатого скота	14
1.3 Современные методы биотехнологии воспроизводства коров	22
1.4 Факторы, влияющие на производство эмбрионов и уровень оплодотворяемости крупного рогатого скота	33
1.5 Особенности кормления крупного рогатого скота	39
1.6 Факторы, влияющие на состав крови крупного рогатого скота	45
2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	51
2.1 Материал и схема исследований	51
2.2 Методики исследований	52
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	63
3.1 Продуктивные качества коров-доноров и телок-доноров голштинской породы	63
3.2 Характеристика коров- и телок-реципиентов айрширской породы	69
3.3 Влияние быков-производителей на количество и качество эмбрионов	71
3.4 Результаты получения эмбрионов от коров-доноров и телок-доноров	76
3.5 Приживаемость эмбрионов у коров-реципиентов и телок-реципиентов	90
3.6 Кормление коров- и телок-доноров и реципиентов	93
3.7 Биохимические показатели крови коров-доноров и реципиентов	97
4 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	104
ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ	106
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	107
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	108

## ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Для обеспечения населения нашей планеты молочными продуктами питания необходимо постоянно увеличивать поголовье и продуктивность крупного рогатого скота [18, 53]. По статистике в России, а также в странах Африки население не полностью обеспечено молоком и продуктами его переработки. Это послужило основанием для разработки и внедрения в животноводство новых биотехнологий, способствующих быстрому размножению высокопродуктивных коров [39, 70].

Современная биотехнология воспроизводства животных является ключевым показателем в производстве достаточного количества молока и обеспечивает постоянное увеличение популяции [28, 64, 67]. Разработанные процедуры биотехнологии должны применяться для повышения эффективности разведения сельскохозяйственных животных, сохранения генетических ресурсов животных, улучшения качества продукции [163]. К различным современным биотехнологическим приемам воспроизводства крупного рогатого скота относятся: искусственное осеменение, суперовуляция и перенос эмбрионов, обработка ооцитов и производство эмбрионов *in vitro*, репродуктивное клонирование и другие технологии [164].

Применение этих технологий в животноводстве связано с их воздействием на повышение эффективности молочного животноводства, что в конечном итоге определяет возможности конкурентоспособного и надежного производства продуктов питания для потребления их людьми [172]. Технология в скотоводстве влияет на будущие поколения за счет изменения уровня генетического потенциала у будущих потомков [1].

Разработанные новые различные методы, применяются для получения большого количества потомства от генетически превосходных животных или получения потомства от бесплодных животных. Для использования новых репродуктивных технологий, необходимо знать физиологию женской и мужской репродуктивной систем, а также различные методы синхронизации непродук-

тивных циклов [15, 16]. Разработанные методы исследований сельскохозяйственных животных для внедрения программы искусственного осеменения в передовых странах и распространение биотехнологий становятся все более актуальными в тех странах, где животноводство начинает интенсивно развиваться. С целью достижения цели в биотехнологии разрабатывались поколениями в течение многих лет: вначале – искусственное оплодотворение (ИО), затем трансплантация эмбрионов (ТЭ), манипуляции с оплодотворением и получением эмбрионов «in vitro», а также размножение методом клонирования с применением трансгенеза [129, 131].

Основной целью использования репродуктивных биотехнологий в животноводстве являются повышение продуктивности, эффективности воспроизводства стада и темпов генетического улучшения коров. Современные технологии могут использоваться для борьбы с акушерскими заболеваниями с помощью разработанных процедур и протоколов [17]. При использовании интенсивного и точного отбора с помощью искусственного осеменения можно достичь четырехкратного увеличения скорости генетического улучшения молочного скота по сравнению с естественным спариванием [36]. Внедрение таких технологий ускоряет генетический прогресс, снижает риск передачи заболеваний и увеличивает количество животных за счет искусственного оплодотворения, множественной овуляции и трансплантации эмбрионов [62].

В настоящее время основной причиной использования трансплантации эмбрионов сельскохозяйственным животным является способность к размножению элитных дойных коров и сохранения ценных генетических и практических особенностей спаривания [47, 52]. Трансплантация эмбрионов позволяет фермерам улучшить общее качество своего стада при использовании элитных коров в качестве доноров и менее продуктивных коров в качестве коров-реципиентов [120, 121, 135, 142].

Репродуктивная биотехнология позволяет увеличивать производство молока с более высоким содержанием питательных веществ (белка, жира и лактозы). Риск передачи инфекционных заболеваний при переносе эмбрионов очень

низок [136]. Репродуктивная недостаточность также может быть связана с серьезным повреждением слизистой оболочки матки, приводящим к пиометре (гною в матке) или эндометриту при естественном спаривании. В репродуктивной биотехнологии этого можно избежать [15, 16, 138, 155, 162].

Степень разработанности темы исследований. В последнее время значительно увеличился интерес к разработке новых приемов в получении и трансплантации эмбрионов, к стимуляции множественной овуляции, вымыванию и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, а также отмечено, что репродуктивная биотехнология способствует улучшению состава и качества молока [6, 105, 115, 134, 130].

Однако до сих пор недостаточно изучены комплексно все процессы от суперовуляции до трансплантации эмбрионов. Большая часть нашей работы посвящена изучению функциональных изменений яичников, количества и качества полученных эмбрионов, комплексному изучению процессов от суперовуляции до трансплантации эмбрионов [28, 64, 156].

Цель исследований. Целью наших исследований является разработка и оценка методов увеличения количества, повышения качества и приживаемости эмбрионов, полученных от высокопродуктивных коров и телок голштинской породы.

Задачи исследований. Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- совершенствование методов стимуляции формирования фолликулов у коров и телок голштинской породы в условиях скотоводческой фермы;
- изучение влияния эндогенного прогестерона и эстрадиола на суперовуляцию, развитие яичниковых фолликулов, определение влияния эстрадиола и прогестерона на количество и качество эмбрионов от коров и телок;
- определение приживаемости свежеполученных и замороженных эмбрионов у коров- и телок-реципиентов;
- изучение особенностей кормления коров и телок-доноров;
- определение генетического потенциала телят-трансплантантов, полу-

ченных от телок- и коров-доноров в результате исследований;

- изучение биохимических показателей крови коров-доноров и реципиентов;

- анализ экономической эффективности трансплантации эмбрионов.

Научная новизна исследований заключается в том, что впервые в условиях юга России разработаны и одобрены новые способы получения эмбрионов от телок-доноров и коров-доноров голштинской породы, обладающих высоким уровнем генетического потенциала, а также трансплантация эмбрионов коровам- и телкам-реципиентам айрширской породы, оценка эмбрио-животных, полученных с помощью различных биотехнологических приемов.

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в том, что использование разработанных методов стимуляции и формирования фолликулов, суперстимуляции развития яичниковых фолликулов, повышение приживаемости и развития эмбрионов позволяют быстро получить большое поголовье телят с генетикой высокой продуктивности.

Методология и методы исследований. Основой методологии постановки исследования и выполнения задач послужили научные положения зарубежных и отечественных авторов, разработанные инновационные технологии в процессе трансплантации. Разработали и изучили влияние эндогенного прогестерона и эстрадиола на суперстимуляцию развития яичниковых фолликулов, определили влияние эстрадиола и прогестерона на количество и качество эмбрионов от коров и телок, приживаемость свежеполученных и замороженных эмбрионов у коров- и телок-реципиентов. Для проведения производственных и лабораторных исследований были использованы как общепринятые методы исследований, так и современные генетические, зоотехнические, технологические и биологические методы.

Положения выносимые на защиту:

- показатели использования нового метода стимуляции формирования фолликулов у коров и телок голштинской породы в условиях фермы;

- влияние эндогенного прогестерона и эстрадиола на супер стимуляцию

развития яичниковых фолликулов и на количество и качества эмбрионов от коров и телок;

- степень приживаемости свежеполученных и замороженных эмбрионов у реципиентов коров и телок айрширской породы;

- уровень генетического потенциала телят-трансплонтантов, полученных от телок и доноров и коров-доноров;

- биохимические и гематологические показатели доноров и реципиентов;

- экономическая целесообразность получения и использования эмбрионов.

Степень достоверности и апробации результатов исследований. Достоверность результатов исследований обусловлена репрезентативностью выборки животных, использованием современных методов исследований и биометрических методов обработки полученных данных. Производственная проверка научных положений и разработок по теме диссертационных исследований проведена в племзаводе Агрохолдинг «Кубань» Усть-Лабинского района на ферме № 3.

Основные результаты исследований доложены и получили одобрение на пяти международных конференциях: одной Всероссийской научно-практической конференции и четырех национальных конференциях.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из следующих разделов: введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, результаты собственных исследований, характеристики коров и телок айрширской и гоштинской пород, влияние на качество и количества эмбрионов от быков-производителей и коров- и телок-доноров, приживаемость эмбрионов у коров- и телок-реципиентов. Описаны рационы кормления коров- и телок-доноров и реципиентов, а также биохимические показатели их крови. Расчитана и обсуждена экономическая эффективность трансплантации эмбрионов, представлены заключение и предложение для производства, а также перспективы дальнейшей разработки по использованию инновационного способа получения и трансплан-

тации эмбрионов у телок и коров, представлен список использованной литературы.

Работа изложена на 127 страницах компьютерного текста и содержит 29 таблиц и 12 рисунков. Библиографический список содержит 175 источников литературы, из них 60 – на иностранном языке.



## 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1 История и характеристика скота голштинской и айрширской пород

По мнению некоторых ученых, скот черно-пестрой породы произошел на побережье Северного моря, расположенного между Фрисландией (Нидерланды) и Ютландией (Дания), недалеко от Гольштейна (Германия). Эта порода является смешанным типом, и располагалась там в основном до конца XVIII века [39, 58].

До XVIII в. в Нидерландах животноводство развивалось медленно в связи с природными катаклизмами, в частности наводнениями и холодными ветрами. Черно-пестрый скот в Нидерландах до XIX века был малочисленен и низкопродуктивен. Позже, в XIX веке, животные этой породы экспортировали голландские мореплаватели. Они купили несколько тысяч животных голштино-фризской породы в Канаде и голштинской – в США. Эти породы быстро распространились в Центральной и Южной Америке, а также в Европе. В это же время животных голштино-фризской породы завезли на территорию Франции и стали интенсивно их использовать не только для получения молочной продукции, но и размножать и продавать этот скот.

Голштинский скот постепенно размножался по всей Европейской части, повышая количественные и качественные показатели молока, о чем стало повсеместно известно. Позднее голштинский скот достаточно широко распространился и в Нидерландах. Скотоводы интенсивно размножали поголовье этой породы, обращая особое внимание на качественные показатели быков-производителей. Племенных быков-производителей из Нидерландов разводили для реализации. Известно, что до 1914 года продолжали увеличивать поголовье быков-производителей с высоким уровнем генетического потенциала. Использование этих быков в стадах других хозяйств позволило увеличить женское потомство с высоким уровнем генетического потенциала и получить большее количество молока [58].

После Первой мировой войны поголовье быков-производителей и коров

голштинской породы с высоким уровнем генетического потенциала продуктивности быстро увеличивалось. В крупных городах было большое потребление населением молочной продукции. Это способствовало строительству перерабатывающих молочных предприятий во многих крупных городах.

Скотоводы из северной части Франции стремились улучшить продуктивные показатели коров голландской породы. Это побудило заводчиков в 1922 году в Лилле создать «Генеалогическую книгу голландской породы». Роль этой книги состояла в том, чтобы регистрировать в ней животных, отвечающих требованиям «стандарта породы», и фиксировать там точное их происхождение.

В течение двух мировых войн численность коров фризской породы резко сократилась. Появилась необходимость быстрее восстановить поголовье с высокой продуктивностью. В 1943 году поголовье скота голштинской породы насчитывалось 840 000 голов, но до сих пор это лишь 5,2 % от поголовья крупного рогатого скота во Франции.

В настоящее время животные голштинской породы в Америке и европейских странах имеют одинаковые продуктивные и морфологические характеристики.

Именно в конце второй мировой войны американские заводчики совершенствовали селекцию скота по молочной продуктивности и качеству вымени, в то время как в Европе проводилась селекционная работа по увеличению содержания жира в молоке и улучшению экстерьера животных от фризской породы [39, 104].

Уровень продуктивности коров голштинской породы уменьшился в 50-х годах прошлого столетия, когда проводился отбор коров одинаковой масти. В 70-х годах скот голштинской породы из Соединенных Штатов Америки был импортирован на разные континенты и использовался для увеличения продуктивности молока. Это привело к получению более крупных животных, с более выраженными статями телосложения, характерными для высокопродуктивных животных [29, 40, 49].

Крупный рогатый скот современной голштинской породы – это преиму-

щественно пастбищное животное, способное поддерживать высокую молочную продуктивность в течение многих лактаций как на низменных, так на возвышенных пастбищах.

Животные голштинской породы были выведены путем интенсивной селекции в течение прошедших 100 лет. Было зафиксировано, что некоторые коровы этой породы дают молоко в течение 12–15 лактаций, что говорит о присущей им высокой естественной плодовитости. В период повышения спроса на белок в молоке селекционеры путем генетического отбора и подбора животных увеличили содержание белка в молоке в целом по всей породе. В процессе селекции в настоящее время уровень белка в молоке у коров голштинской породы составляет от 3,4 до 3,5 % [15, 174].

Эта порода имеет самую высокую молочную продуктивность в мире. Их достижения не имеют биологического предела, а улучшения на 1–2 % в год являются реалистичными ожиданиями. Голштинский скот в равной степени подходит для содержания в стойлах или на пастбищах.

Коровы голштинской породы всемирно известны своей непревзойденной молочной продуктивностью: 83 % молочного стада Австралии, 94 % молочного стада Канады и 93 % молочного стада Америки. У австралийских «голштинов» средний период лактации составляет 305 дней в году, при этом надои составляют до 18 000 кг молока за лактацию. Содержание жира и белка в молоке составляет, соответственно 3,82 % и 3,21 %. Используют голштинскую породу 9 256 австралийских фермеров. Известно, что лучших продуктивных коров доят три раза в день, и в результате они дают более 30 000 кг молока за 305 дней лактации [113].

Висконсинская первотелка по кличке Джиджи побила мировой рекорд по надоям в 2016 году, дав 33 860 кг молока за 305 дней лактации. Эта девятилетняя корова голштинской породы почти утроила продуктивность своих сверстниц, намного превзошла предыдущий рекорд, установленный в 2010 году до 40 000 кг за лактацию. Голштинская порода скота считается наиболее ценной из всех пород крупного рогатого скота.

Айрширская порода коров была выведена в графстве Эйр в Шотландии до 1800 г. Она официально была признана породой в 1812 г. Во время выведения породы ее называли сначала Данлоп, затем Каннингем и, наконец, Айршир.

Каким способом выводили айрширскую породу коров точно неизвестно. В книге «Сельское хозяйство, древнее и современное», которая была опубликована в 1866 году, Самуэль Копленд описывает местный скот региона «маленьким по размеру, плохо откормленным и плохо доящимся». Известно, что до 1800 года значительная часть крупного рогатого скота айрширской породы была черной масти. В 1775 году было отмечено появление коричневых и пестрых животных [112]. Общепринято считать, что улучшение местного поголовья началось примерно в 1750 году. Имеющихся коров скрестили с быками других пород крупного рогатого скота на территории Тисуотер и на Нормандских островах.

Независимо от происхождения в прошлом животноводы старательно скрещивали и отбирали крупный рогатый скот различных пород для того, чтобы вывести новую породу коров, вероятно, известную нам сейчас как айрширскую. Она была хорошо адаптирована для природных условий, где находилось много продуктивных пастбищ, что соответственно улучшило молочность коров. Скот айрширской породы особенно известен великолепной формой и качеством вымени. Благодаря своему составу молоко айрширских коров идеально подходило для получения сливочного масла и сыра, изготавливаемого первыми шотландскими молочниками.

В конце 1980-х и в начале 1990-х гг. произошло много изменений, которые повлияли на поголовье скота айрширской и других пород, что привело к их уменьшению. Во многом это связано с увеличением удоев всех дойных коров и появлением избытка молока на внутренних рынках. Тем не менее грамотное управление процессами убедило заводчиков в том, что айрширская порода отличается от других пород молоком с высоким содержанием белка и жира, необходимых для производства переработанных продуктов питания [112].

Коровы айрширской породы бывают красной и белой масти. У некоторых

коров на коже, покрытой белыми волосами, наблюдается крапчатый рисунок красной пигментации. Когда-то были распространены тигровая и чалая масти коров айрширской породы. В настоящее время у айрширской породы редко встречаются «узоры» на туловище [104].

У коров айрширской породы молоко умеренной жирности. Самые продуктивные коровы айрширской породы часто дают более 20 000 кг молока за лактацию. У скота айрширской породы был достигнут свой мировой рекорд. Корова Иде Бетти из Летте фермы за 305 дней лактации при двухкратном доении дала 37 170 кг молока и 1 592 кг молочного жира. Ассоциация заводчиков айрширской породы официально не признает записи, превышающие 305 дней, но одна корова айрширской породы дала более 41 000 кг молока и 1800 кг молочного жира за 365 дней [112]. Молоко коров айрширской породы называют «идеальным питьевым молоком», так как оно не слишком жирное, содержит достаточное количество жира и обезжиренных твердых веществ, таких как белок [66].

На удой коров айрширской породы хорошо реагируют условия содержания и кормления. В среднем удой по стаду достигают 17 000 кг молока и 700 кг молочного жира. В настоящее время от большинства коров айрширской породы получают более 10 000 кг молока за лактацию или 80 000 кг и более за всю жизнь.

Во многих регионах мира (Россия, Северная Америка, Великобритания, Австралия, Новая Зеландия, Африка и в некоторых частях Европы и Южной Америки) чаще всего выбирают коров айрширской породы для получения молока с высокой жирностью и белковостью, чем коров других пород.

В Россию скот айрширской породы завезли из Финляндии в конце XIX–середине XX веков. В 2011 году поголовье айрширского скота составляло примерно 2,8 % от общего поголовья молочного стада из оцененных 90 000 голов. Средний удой коров этой породы составил 5 500 кг молока, а содержание жира и белка в молоке – 4,09 % и 3,27 % соответственно. В России также были зафиксированы рекордные надои молока от айрширских коров в хозяйстве

«Новоладожский» – свыше 11 тонн. От лучших коров получили молока за лактацию 12 248 кг, жирностью 4,05 %, содержанием белка 3,32 %. Корова по кличке Майка № 32972 в хозяйстве средней полосы России дала за лактацию 11957 кг молока жирностью 4,20 %, содержанием белка – 3,32 %. От коровы по кличке Ватиканка в хозяйстве «Новоладожский» получили молока за лактацию 11457 кг жирностью 4,33 %, содержанием белка 3,16 % [103, 106].

## 1.2 Физиология эмбрионального развития крупного рогатого скота

Репродуктивная система самки крупного рогатого скота включает несколько органов: яичники, половые пути или трубчатые части, которые окружают яйцеводы, матку, влагалище и вульву, прикрепленные железы, эмбриональные остатки, кровеносные сосуды и нервы. Яичники имеют две дифференцированные части: мозговую зону, образованную соединительной тканью, фиброэластиками и сосудами (артериями, венами и лимфатическими сосудами), а также нервами, которые вместе отвечают за сохранение и питание органа [5].

Другая часть – кортикальная зона, которая окружена зародышевым эпителием и белковой оболочкой внутри него. Фолликулы и желтые тела на разных стадиях развития и регрессии расположены в этой последней части. У взрослых коров эта структура корковой зоны подвергается циклическим изменениям в зависимости от регуляции полового цикла или беременности [25].

Женские половые органы включают две функции, необходимые для воспроизводства самок: гаметогенную функцию, состоящую из фолликулогенеза и оогенеза, и эндокринную функцию, в которой основными продуцируемыми гормонами являются эстроген, прогестерон и релаксин. Яичник коровы или телки по сравнению со своей живой массой очень маленький. Он имеет яйцевидную форму и изменяется по размеру и контуру в каждом половом цикле из-за появления фолликулов и желтого тела, расположенных на его поверхности [25, 26].

Масса яичника колеблется от 3 до 20 г, а длина его может достигать 37

мм. В корковой области яичников присутствуют структуры, называемые фолликулами, которые циклически входят в фазу роста. Если корова или телка не беременны, фолликул растет и овулирует через каждый 21 день [30, 43, 44].

Разработаны и совершенствуются методы суперовуляции у коров [76]. Определено, что на формирование фолликулов незначительно влияет порода коровы [75].

Когда фолликулы достигают созревания, они разрываются и высвобождают ооцит изнутри. Первородный фолликул – это ооцит, окруженный одним слоем низких фолликулярных клеток. Когда эти клетки размножаются путем митоза, они называются вторичными фолликулами. Когда фолликул достигает своего максимального развития, его называют везикулярным, зрелым или антральным фолликулом. Фолликулярное развитие происходит во внутриутробном периоде у неполовозрелых телок, циклических коров и во время выращивания плода [82, 83].

Широко используется стимуляция овуляции по различным схемам [76]. Использование стимулирующих процессов с помощью гонадотропина и прогестерона позволяет проявляться множественной овуляции. Для улучшения качества ооцитов апробирована и используется методика получения их множества [109, 111].

Формируются ооциты из половых клеток, которые образуют женские половые клетки, содержат в своей цитоплазме рибосомы, митохондрии, гранулы гликогена, большие липидные капли и эндоплазматический ретикулум, а также плохо развитый комплекс Гольджи. Во время роста ооцитов происходят изменения в распределении количества и размеров цитоплазматических органелл [26].

Во время овуляции ооцит-ядро, которое вошло в профазу первого мейотического деления, будет поддерживать восстановительные деления. Появляются две дочерние клетки, которые содержат половину хромосомной нагрузки при первом делении, где каждая из клеток получает большую часть цитоплазмы, называемую вторичным ооцитом. Желтое тело – это эндокринная железа,

которая циклически образуется в яичниках самок и проявляет короткую секреторную активность во время полового цикла. У крупного рогатого скота он имеет яйцевидную или сферическую форму [5, 25].

Его основная функция – выработка прогестерона, который отвечает за подготовку эндометрия и бластоцистов к имплантации. Согласно А.Гордону, требуется 11 дней, чтобы желтое тело развилось и достигло массы 4 г у самки крупного рогатого скота; у самки молочной породы его масса больше. Быстрый рост желтого тела в первой фазе овуляторного цикла происходит до десятых суток. Воронка достаточно плотно охватывает яичник, а ее отверстие открывается. Он служит для захвата ооцитов и их направления в яйцевод, где оплодотворение происходит в присутствии жизнеспособных сперматозоидов.

Матка – это мускулистый, полый тазовый орган брюшной полости, обладающий большой способностью расширяться и смещаться, чтобы возможно было развитие эмбриона. Этот орган разделен на три части: рог матки и задняя часть, проходящая через черепное отверстие цервикального канала; шейка матки, которая представляет собой каудальную часть матки с хорошо индивидуализированной структурой из-за ее толстой стенки, суженного просвета и множества выступов и углублений, а также шейные кольца. Тело матки коровы короткое и неразвитое [30, 42, 43].

Размер тела матки изменяется в зависимости от возраста и количества родов. Тело матки может достигать 5 см в длину. Оно выполняет несколько функций: помощь в перемещении сперматозоидов в яйцевод и в изгнании новорожденного теленка. В этом органе также развивается плацента, которая обеспечивает питание и его защиту. Шейка матки – это уникальная структура репродуктивного аппарата коровы. Она имеет толстые стенки и прикрепляет влагалище к матке. Его основная функция – защита матки от внешней среды [42, 43].

Влагалище – это копулятивный орган с тонкой эластичной стенкой, которая позволяет ему растягиваться во время спаривания и родов. Влагалище служит свободным проходом для теленка во время его изгнания.

Фолликулогенез начинается с образования примордиальных фолликулов,



прогрессирующих до первичных, вторичных, третичных и преовуляторных. Заканчивается он овуляцией зрелого ооцита, т. е. процессом образования, роста и созревания фолликулов, включающим пролиферацию и дифференцировку клеток. Эти циклы начинаются, когда телка достигает половой зрелости, но развитие ооцитов и фолликулов начинается в матке матери еще до отела.

Первичные половые клетки размножаются путем митоза с образованием первичных ооцитов. Первая профза мейоза начинается между 75 и 80 днями периода беременности [44, 46, 50].

Оплодотворение ооцитов – это сложная последовательность процессов, которые начинаются от контакта сперматозоида с ооцитом и заканчиваются смешением материнских и отцовских хромосом в метафазе первого митотического деления эмбриона. Объединение мужских и женских гамет включает несколько фаз [46, 50].

Во-первых, прохождение сперматозоидов через корону радиата, которая окружает пеллюцидную зону ооцита. Движения хвоста сперматозоида нужны для его проникновения в корону радиата. Самая важная фаза начала оплодотворения включает проникновение окружающей блестящей оболочки к ооциту. Затем происходит слияние плазматических мембран ооцита и сперматозоида, при котором головка и хвост ооцита и сперматозоида проникают в цитоплазму ооцита, а внизу остается плазматическая мембрана [50].

Впервые овулированные ооциты крупного рогатого скота и эмбрионы на двухклеточной стадии были описаны П. Хартменом и его сотрудниками в 1931 г. Д. Гимильтон и С. Лэйнг лишь только 15 лет спустя, более подробно описали стадии развития от неоплодотворенного ооцита до бластоцисты.

Процессом активации эмбрионального генома считается то, что зигота и эмбрион на раннем этапе дробления контролируются по материнской линии с помощью молекул РНК прежде, чем произойдет геномная активация. Переход от оогенетической к эмбриональной геномной активации (ЕГА) называется переходом от матери к эмбриону. Он позволяет дальнейшему эмбриогенезу становиться зависимым от экспрессии эмбрионального генома.

У крупного рогатого скота начало перехода от матери к эмбриону происходит на стадии развития от 8 до 16 клеток. Однако было высказано предположение, что начало перехода от матери к эмбриону может контролироваться во время, а не на стадии развития, так как незначительная транскрипционная активность была выявлена уже на стадии пронуклеуса после оплодотворения *in vitro* [59, 69].

Установлено, что на формирование фолликулов влияет порода коровы [75]. И установлено, что на получение и выживаемость эмбрионов влияет сезон года. В российском «Холдинге» Усть-Лабинского района разрабатывают технологии отечественной эмбриологии [82, 83].

У крупного рогатого скота беременность продолжается около 282 дней, ее разделяют на три этапа. На первом этапе происходит формирование зиготы и начинается имплантация эмбриона [91]. Затем, на втором этапе, происходит начало трофоэктодермальной адгезии к эндометрию, а кульминация периода эмбриональной дифференцировки наступает тогда, когда происходит начало минерализации костей плода. Последний этап называется фазой плода, которая находится между началом минерализации костей плода и концом – моментом «изгнания» плода (родов) [82, 83, 91].

Развитие эмбриона в яйцевом после оплодотворения, в то время как одноклеточные эмбрионы проецируются к матке с помощью перистальтики и биения ресничек, зиготы претерпевают пять или шесть быстрых делений митотических клеток, при этом не увеличивая общий объем процесса [110].

Расщепление зиготы определяется как повторяющиеся митотические деления зиготы. Это приводит к быстрому увеличению количества клеток (бластомеров). Они уменьшаются в размере с каждым делением расщепления. Зигота сначала делится на два бластомера, а затем эти две клетки делятся на четыре бластомера, восемь бластомеров и т. д. Это деление происходит примерно через 30 ч после оплодотворения, а за ним следуют другие деления, образуя все более мелкие бластомеры. Вплоть до стадии из восьми клеток они образуют кластер. После третьего расщепления бластомеры максимально контактируют друг с

другом, давая начало компактному кластеру клеток, называемому уплотнением. Примерно через три дня после оплодотворения клетки уплотненной эмбриональной структуры снова делятся с образованием 16 клеток (морула) [100, 110].

Отмечено влияние климатических условий на количество и качество эмбрионов. Заболевание эндометрит у коров отрицательно влияет на формирование эмбрионов [110]. Разработана классификация оценки качества эмбрионов, необходимая для присвоения им определенного класса [100].

Для сохранения эмбрионов разработана оптимальная шкала температуры для сохранения ооцитов. По мере того, как эмбрион морулы продолжает расти, эти бластомеры будут делиться на два типа клеток – внутренние и внешние. Внутренняя клеточная масса, т. е. внутренние клетки-морулы, дадут жизнь зародышевым тканям, а окружающие клетки создают внешнюю клеточную массу, которая будет способствовать образованию плаценты. Затем, оказавшись внутри матки (примерно через 4–5 дней после оплодотворения), клеточная масса свободно «плавает» еще несколько дней, создавая клубок примерно из 100 клеток, потребляя при этом питательные выделения эндометрия, называемые маточным молочком. В это время слизистая оболочка матки утолщается и формируется бластоцист. Внутри этой структуры небольшое количество клеток формируют внутреннюю клеточную массу, которая становится эмбрионом, а затем плодом.

Другие клетки, образующие внешнюю оболочку, называются трофобластами (от греч. *trophe* – «питать»), а затем они разовьются в хорионический мешок и плодную часть плаценты, которые служат органом обмена питательными веществами, отходами и газами между ними. В результате этого процесса формируются материнские органы и развивающегося в них потомства. Этот процесс мать / эмбрион вызывает динамические изменения в эпителии матки, которые жестко регулируются стероидными гормонами, цитокинами и факторами роста, которые устанавливают восприимчивость матки к развивающемуся эмбриону.

Внутренняя масса эмбриональных клеток гипотента на этой стадии, а это

означает, что каждая клетка может дифференцироваться в любой тип клеток в организме. В процессе, называемом «штриховкой», формирующаяся бластоциста вырывается из блестящей оболочки и начинается процесс имплантации. Бластоциста обычно имплантируется на дно матки или на ее заднюю стенку.

В это время трофобласт выделяет белок. В сыворотке крови при беременности (PSPB или PAG) гормон, который «заставляет» желтое тело выжить, увеличивается и продолжает производить прогестерон и эстроген для подавления менструации, а также для создания среды, подходящей для развивающегося эмбриона. Исследования четко показали, что ПАГ / ПСПБ увеличивается от начала до конца беременности, достигая максимума в день отела [110].

Клетки внутренней клеточной массы в этот период являются эмбриобластами, которые находятся в центре, а клетки внешней клеточной массы называются трофобластами, которые уплощаются и образуют эпителиальную стенку бластоцисты. На этом этапе эмбрион отделяется от блестящей оболочки, что позволяет начать имплантацию.

У крупного рогатого скота, хотя бластоциста образуется через несколько дней после оплодотворения, плацентация начинается на 21-й день, а затем начинается имплантация. Матка при имплантации находится в секреторной фазе; бластоциста и имплантируется в эндометрий по передней или задней стенке.

Трофобласт дифференцируется на одно ядро митотически активных клеток, называемое цитотрофобластом, и быстро увеличивающуюся многоядерную массу, синцитиотрофобласт, которая вызывает эрозию материнских тканей.

На девятые сутки в синцитиотрофобласте образуются разрывы. Впоследствии синусоиды матери разрушаются синцитиотрофобластом, кровь матери переходит в лакунарную сеть, и в конце второй недели начинается примитивное маточно-плацентарное кровообращение. За это время бластоциста прекрасно имплантируется и уплотняется. Эмбриобласт разделяется на эпибласт и гипобласт, которые образуют биламинарный диск. Амниобласты выстилают амниотическую полость выше слоя эпибласта. В свою очередь, клетки гипобласта являются продолжением экзоцеломической мембраны и вместе они окружают

примитивный желточный мешок. Амниотическая полость и желточный мешок формируются из примитивной внеэмбриональной мезодермы с началом соматоплевры и спланхноплевры [55].

В течение третьей недели происходит гастрюляция – процесс, при котором биламинарный эмбриональный диск превращается в трехламнарный эмбриональный диск (это означает начало морфогенеза). Гастрюляция начинается с появления примитивной линии, где примитивный узел находится на своем головном конце. Клетки эпибласта узла и примитивной линии инвагинируются с образованием новых листочков – энтодермы и мезодермы.

В конце третьей недели уже демонстрируются три основных листочка зародыша в головной области (эктодерма, мезодерма и энтодерма). Эктодерма дает начало органам и структурам, которые поддерживают контакт с внешним миром, центральной нервной системой, периферической нервной системой, гипофизом, молочными железами, потовыми железами и зубной эмалью. К концу четвертой недели эти листочки зародыша образуются в более каудальных областях эмбриона. Начинается дифференциация тканей, вне эмбриональных оболочек и органов [59].

Трофобласт быстро прогрессирует. Первичные ворсинки получают мезенхимальное ядро и возникают мелкие капилляры. Когда эти ворсинчатые капилляры контактируют с капиллярами гориональной бляшки и прикрепительной ножки, ворсинчатая система готова обеспечить эмбрион питательными веществами и кислородом. В это время перекрестные помехи эмбриона и матери остаются одним из самых сложных процессов в репродуктивной биологии.

Расшифровка взаимодействий эмбриона и матери может позволить разработать новые терапевтические процессы для повышения выживаемости эмбрионов. Это окажет большое влияние на репродуктивную эффективность крупного рогатого скота и прибыль современной животноводческой отрасли, обеспечивая соответствующие достижения в наших знаниях о проявляющихся нормальных и аномальных отклонений здоровья животных [55].

### 1.3 Современные методы биотехнологии воспроизводства коров

Учеными были разработаны и усовершенствованы различные вспомогательные репродуктивные методы для получения большого количества потомства от генетически более совершенных животных или получения потомства от бесплодных (или субфертильных) животных в дополнение к контролю заболеваний [158].

Развитие репродуктивных технологий, таких как синхронизация эструса, суперовуляция, безоперационный сбор эмбрионов, перенос эмбрионов, криоконсервация эмбрионов, получение эмбрионов *in vitro*, не могли повлиять на качество продукции животноводства из-за отсутствия низкой стоимости эмбрионов, полученных от животных с высоким уровнем генетического потенциала [158, 165].

Технология искусственного осеменения стала востребованной и в молочном животноводстве. Искусственное осеменение позволяет использовать сперматозоиды, полученные от самцов и самок с высоким уровнем генетического потенциала продуктивности. Впервые успешное искусственное осеменение было проведено Spallanzani в 1784 г. у собаки [166, 169].

В России впервые в 1899 году попытались апробировать искусственное оплодотворение животных. Русский ученый И. И. Иванов (1922) изучал искусственное осеменение сельскохозяйственных животных, собак, лисиц, кроликов и домашней птицы. Во всем мире такая технология применялась многими исследователями и на разных животных. Позже стали использовать замороженную сперму. Полученные результаты произвели «революцию» в процессе искусственного осеменения, поскольку замороженную сперму начали транспортировать по всему миру [56, 57].

Искусственное осеменение как метод был впервые использован И. И. Ивановым в 1899 г. в Институте экспериментальной медицины на лошадях. Позже скрещивание животных значительно повысило продуктивные качества местных низкопродуктивных коров различных пород. Технология искусствен-

ного осеменения позволяет максимально использовать высокопродуктивных самцов с высокой генетикой и, соответственно, распространять прекрасный генетический материал, а также повысить скорость и эффективность генетической селекции самцов.

Использование импортной спермы дает возможность создавать новый генетический материал, а не живых животных, и таким образом сокращать затраты на международные перевозки. Современная технология также позволяет использовать замороженную сперму даже после смерти донора и уменьшает риск распространения заболеваний, передающихся половым путем. Различные аспекты новой технологии искусственного осеменения были глобально стандартизированы для каждого вида животных. Во всем мире в настоящее время проводится большое количество искусственных осеменений. Статистика свидетельствует, что ежегодно искусственно осеменяют более 100 млн голов коров и телок, 40 млн. голов свиней, 3,3 млн. голов овец и 0,5 млн. голов коз [133].

Искусственное осеменение является более эффективным и экономичным, так как животноводы имеют доступ к более совершенным технологическим и организационным возможностям. Например, у коров следует учитывать 4 стадии полового цикла: первая – проэструс (перед наступлением половой охоты), вторая – эструс (половая охота), третья – метаэструс (после половой охоты), четвертая – диэструс (не в половой охоте) [164, 166, 167].

В результате нарушений при оплодотворении и выживаемости эмбрионов проявляется репродуктивная недостаточность осемененного крупного рогатого скота. На оплодотворяемость животных влияют различные факторы. Исследования показали, что наиболее вредное влияние на оплодотворяемость коров с высокой продуктивностью был тепловой стресс. В результате проведенного опыта оказалось, что всего 55 % коров были стельными [167]. После оплодотворения у коров или телок наступает беременность, появляется и выживает эмбрион и развивается плод. Точное определение точки имеет большое значение для плодотворного осеменения и правильного содержания коров в дальнейшем [169].

Синхронизация половой охоты позволяет обнаружить течку у коров и телок, манипулировать эстральный цикл или индукцию эструса, а также стимулировать процесс половой охоты, большой группы самок в заранее определенное время [159, 164]. Разработан и используется ряд различных методов и исследований, которые создают и апробируют программы синхронизации с использованием различных синхронизируемых гормонов (ГнРГ, PGF2 $\alpha$  и прогестерона т. д.) и графиков, используемых в этих программах.

В программе синхронизации половой охоты используются несколько методов, рассмотренных Б.Чакраварти и Шри Баладжи (2010) [122, 156]. Авторы заявили, что необходимо использовать следующие методы:

1) использование инъекции PGF2 $\alpha$ : циклическим самкам, представляющим собой циклически повторяющиеся морфологические изменения в половой системе, связанные с созреванием гамет и их выходом в брюшную полость в процессе овуляции. В регуляции эстрального или полового цикла принимают участие гормоны гипоталамо-аденогипофизарной системы и яичника. Эстральный цикл подразделяется на 4 стадии: проэструс (предтечка), эструс (течка), метаэструс (послетечка) и диэструс (межтечка) Самкам необходимо сделать две инъекции PGF2 $\alpha$  с интервалом в 11 дней. При этом проявление течки обычно не обязательно ни до, ни после инъекций. Все циклические самки будут реагировать на вторую инъекцию независимо от того, на какой стадии эстрального цикла они находились, когда была введена первая инъекция;

2) использование протокола ГнРГ-PGF2 $\alpha$ -ГнРГ. Циклические животные, независимо от любого дня эстрального цикла, подвергались протоколу ГнРГ-PGF2 $\alpha$ -ГнРГ для синхронизации эструса.

Гонадотропин-рилизинггормон (ГнРГ) формируется секреторными нейронами, расположенными в ядре медиобазального гипоталамуса и в преоптическом ядре переднего гипоталамуса. Нервные окончания этих клеток находятся в латеральных отделах наружного слоя срединного возвышения, прилегающих к воронке гипоталамуса [119, 120, 122].

Разработанный протокол предусматривает инъекцию ГнРГ в 1-й день, за-



тем инъекцию PGF2 $\alpha$ . Стимуляционная проба гонадотропин-рилизинг-гормоном (ГнРГ) позволяет дифференцировать гонадотропин зависимые формы ППП от гонадотропин независимых и от изолированного гормона у самок на восьмой день и вторую инъекцию ГнРГ на десятый день. Затем рекомендуется осеменение на 11-й день.

3) использование CIDR. Основной протокол включает в себя препарат CIDR, контролирующей выход лекарственного средства из пластикового устройства, которым пропитано влагалище прогестинном на седьмой день и введение инъекции PGF2 $\alpha$  на 6-й день имплантации, а также наблюдение за проявлением эструса на 8-й день цикла [94, 119].

Такие программы синхронизации позволяют устранить проявление течки и разработать программы искусственного осеменения с определенным временем. В молочном и мясном скотоводстве по пересадке эмбрионов этот метод должен обеспечивать большую гибкость при использовании коров-реципиентов и высококачественных доноров [99, 109].

Лактирующие молочные коровы, по-видимому, наиболее подвержены репродуктивной недостаточности: одни из-за низкого уровня оплодотворения (~76 %), а другие от жизнеспособности эмбрионов в первые несколько дней беременности маток, а также из-за большой гибели эмбрионов и плодов (~60 %). Совершенствование репродуктивных программ и использование таких методов должны быть направлены на повышение показателей оплодотворения и минимизацию эмбриональных потерь для оптимизации показателей оплодотворяемости молочного и мясного скота. Однако синхронизация появления фолликулярной волны и овуляции с помощью разных протоколов должна увеличить частоту использования искусственного оплодотворения [109].

Множественная овуляция и перенос эмбрионов (МОПЭ) часто называют вспомогательными репродуктивными технологиями, т. е. «для самки, тогда как и искусственное осеменение – для самца», т. е. метод получения большого количества потомства от генетически ценной самки, чем было бы получено при естественном размножении.

Вместе с тем множественная овуляция и трансплантация эмбрионов еще недостаточно широко распространены для улучшения генетического потенциала по целому ряду причин: высокая их стоимость, малая изученность новых технических требований, а также часто встречаемые – изменчивость показателей и непредсказуемая эффективность. Раньше был проведен весь обзор полученных данных, которые показали значение множественной овуляции и переноса эмбрионов у молочного скота [76, 79, 80].

Однако на использование процедур многократной овуляции и трансплантации эмбрионов продолжает также влиять изменчивость овуляторной реакции на гормональное лечение, а также на небольшое и изменчивое количество переносимых эмбрионов и их получение. Такая изменчивость классически определяется как внешними (источник, чистота гонадотропинов и протокол введения), так и внутренними факторами (порода, возраст, кормление и репродуктивный статус). Результаты исследований Т. Менчасы и других исследователей показали, что использование недавно полученных новых методик привело к улучшению в программах множественной овуляции и трансплантации эмбрионов у мелких жвачных животных [7, 10, 31, 48].

Технология трансплантации эмбрионов позволяет очень быстро улучшить поголовье большого стада, а также дает возможность использовать одновременно высокий уровень генетического потенциала как у самцов, так и у самок.

Ученые Н. Николас и М. Смит отметили, что с помощью методов трансплантации эмбрионов или МОЕТ – перенос эмбрионов с множественной овуляцией – можно ускорить улучшение поголовья и быстро увеличить количество высокопродуктивных животных, повысить уровень их генетического потенциала продуктивности, а также ускорить развитие и сохранение высокого генетического потенциала продуктивности у всех животных в стаде [56, 57].

Пересадка эмбрионов и другие репродуктивные технологии животных способствуют генетическому улучшению и успешному использованию для быстрого увеличения популяции элитных пород крупного рогатого скота, буйволов, овец, коз, лошадей и свиней. В 2002 г. во всем мире было проведено око-

ло 539 680 пересадок эмбрионов, в основном у молочного скота, из которых 62 % были транспортированы в Северную Америку и Европу, 16 % – в Южную Америку и 11% в Азию. В последнем отчете Комитета по данным Международного общества переноса эмбрионов отмечено, что получено количество пересаженных эмбрионов 800 000 у крупного рогатого скота, 25 000 овец, 7 000 коз, 30 000 свиней и 12 000 эмбрионов лошадей, пересаженных во всем мире. По статистике две трети эмбрионов, полученных *in vivo*, и одна треть эмбрионов, полученных *in vitro*, имеет коэффициент беременности 55–70 % [79, 92, 95, 99, 121].

Ученые Б. Чакраварти и Шри Баладжи (2010) разработали методы получения множественной овуляции и проведения трансплантации эмбрионов:

1) коровам-донорам – высокопродуктивным животным – вводили гормоны (ФСГ и ЛГ) для увеличения количества яйцеклеток, получаемых при традиционной и множественной овуляции [156];

2) затем коров искусственно осеменяли обычной спермой быка или сексированной спермой;

3) через 6–7 дней после осеменения эмбрионы вымывали нехирургическим способом, а с помощью катетера, введенного в матку. Это было возможно, потому что у крупного рогатого скота эмбрионы имплантируются постепенно к стенке матки. В среднем получали 4–7 эмбрионов от каждой коровы;

4) затем эмбрионы имплантировали коровам-реципиентам и телкам-реципиентам, у которых проявлялась стадия эстрального цикла в результате гормональной стимуляции;

5) эмбрионы можно замораживать и хранить с использованием аналогичных методов, которые применяются для замораживания спермы (однако необходимо учитывать более точный контроль режима используемых методов) [119, 122, 128].

Таким образом, трансплантация эмбрионов может улучшить генетический потенциал в два раза быстрее, чем при искусственном осеменении. Кроме того, использование методов множественной овуляции и трансплантации эмбрионов

может привести к увеличению интенсивности селекции и сокращению интервалов между поколениями, что приведет к быстрому улучшению генетических показателей животных [135, 142, 144, 158].

С помощью экстракорпорального осеменения возможно получить генетически превосходных эмбрионов с высоким потенциалом продуктивности. В течение последних нескольких десятилетий произошла беспрецедентная эволюция технологии получения эмбрионов сельскохозяйственных животных *in vitro*. При этом ускорились темпы прогресса в последнее десятилетие с характеристикой эффективно определенной и полуопределенной среды для различных видов животных.

В 2013 г. во всем мире было получено более 500000 эмбрионов с помощью технологии сбора яйцеклеток (OPU) и получение эмбрионов *in vitro* (IVP), причем Южная Америка лидирует в области OPU/IVP.

Впервые оплодотворение *in vitro* было успешно проведено у кроликов в 1959 г. Позже в 1968 г. впервые оплодотворили *in vitro* мышей. В 1978 г. впервые было проведено оплодотворение *in vitro* у человека. И первый теленок произведен с помощью экстракорпорального оплодотворения, проведенного в 1981 г. Исследователь Д. Кейн (2003) представил обзор о созревании гамет *in vitro* и о культивировании эмбрионов [146, 153].

В настоящее время технологию производства потомства *in vitro* используют у животных с высоким уровнем генетического потенциала. Вместе с тем обеспечивают получение эмбрионов для новых биотехнологий, таких как определение пола эмбрионов, клонирование, перенос ядер клеток, трансгенез и т. д. Кроме того, анализируется потенциал развития эмбрионов, в том числе экспрессия генов, эпигенетические модификации и цитогенетические нарушения в процессе развития [158, 170].

Несмотря на постоянные усилия по улучшению производства эмбрионов крупного рогатого скота *in vitro*, его эффективность все еще невысокая. Лишь только 30–40 % развития бластоцисты было получено из ооцитов после созревания *in vitro*, оплодотворения и культивирования эмбрионов. Через OPU ооци-

ты могут быть получены от живых животных. В настоящее время OPU-IVP используется во многих странах для производства и реализации большого количества эмбрионов. Получить больше эмбрионов можно при стандартной практике – повторно восстановить производство эмбрионов [158, 174].

Для крупного рогатого скота доступны методы созревания *in vitro*, оплодотворения и культивирования, которые способствуют рождению большого количества телят во всем мире.

До сих пор современные методы не получили должного распространения в процессе созревания ооцитов при использовании комплекса кумулюсных ооцитов даже при использовании сбора яйцеклеток (OPU). Следующей проблемой является низкий выход ооцитов из одного яичника, несмотря на постоянное использование аспирации для увеличения количества ооцитов в расчете на корову.

Оказались более эффективными оптимизированные графики OPU (сбор яйцеклеток), учитывающие половину эстрального цикла и спонтанную овуляцию, так как они не влияют на физиологию яичников и на проявление нормальных признаков эструса.

Важнейшие этапы технологии производства эмбрионов *in vitro* включают:

- 1) сбор ооцитов (ооциты забирают у живого животного или после убоя на бойне);
- 2) отбор и очистка ооцитов и помещение ооцитов в среду созревания на 18–24 часа;
- 3) очистка спермы с использованием градиента перколла;
- 4) осеменение созревших ооцитов очищенными сперматозоидами в течение 8–24 ч;
- 5) удаление комплексов кумулюсных клеток;
- 6) помещение предполагаемых зигот в питательную среду на 7–9 дней;
- 7) получение ранних эмбрионов крупного рогатого скота, готовых к трансплантации суррогатным матерям [135, 139].

Для получения эмбрионов *in vitro* имеет значение относительно короткая продолжительность беременности млекопитающих, способных к производству ооцитов или эмбрионов. Учеными предложено использовать хранение неоплодотворенных ооцитов, что позволит проводить эксперименты в любое удобное время, следовательно, имеет практическое значение для создания банка гамет,

из которого можно было бы получать определенные генетические комбинации. В течение последних нескольких десятилетий был достигнут значительный прогресс в области криоконсервации ооцитов и эмбрионов млекопитающих. Благодаря этим методикам было успешно получено живое потомство от 25 видов животных в результате трансплантации криоконсервированных эмбрионов или ооцитов [126, 131, 137].

Основной проблемой, связанной с криоконсервацией зародышевой плазмы, является механическое, а также осмотическое повреждение на этапах обработки. С появлением глицерина, который является криозащитным агентом, процесс криоконсервации стал более осуществимым. Другие криозащитные агенты также широко используются как по отдельности, так и в различных комбинациях. К ним относятся проникающие криозащитные вещества, такие как этиленгликоль и пропиленгликоль, и непроникающие, такие как сахароза, глюкоза или фруктоза [115].

С развитием традиционных методов криоконсервации была введена витрификация зародышевой плазмы. Витрификация – более простая, быстрая и менее дорогая технология, чем медленное замораживание. Кроме того, было отмечено, что оно более эффективно, чем медленное замораживание, особенно для материалов, более чувствительных к охлаждению. Криоконсервация ооцитов путем витрификации была протестирована с переменным успехом на ооцитах крупного рогатого скота, свиней, лошадей и буйволов [145].

Общепризнанной практикой в настоящее время является замораживание эмбрионов. Основная цель ее состоит в сохранении эмбриона в жизнеспособном состоянии, что способствует дальнейшему восстановлению, продолжению нормального развития, а также дает возможность избежать образования кристаллов льда, которые очень вредны для эмбриона при оттаивании. Замораживание эмбрионов имеет важное значение для их переноса и временного хранения.

Следует учитывать, что жизнеспособность эмбрионов начинает снижаться после 12 ч хранения в среде для выдерживания. Эмбрионы, естественно,

должны храниться как мужские, так и женские, чтобы обеспечить репрезентативность обоих полов и широкое генетическое разнообразие [147, 149].

С одной стороны, сохранение ооцитов снижает риск и расходы, связанные с транспортировкой живых животных, опасность передачи болезней, а также обеспечивает страхование от катастроф и стихийных бедствий. С другой стороны, сохранение яйцеклеток и эмбрионов исчезающих видов животных защищает от опасности полного исчезновения. Крриоконсервацию можно считать, как полезную методику сохранения исчезающих пород животных. Для редких видов «криобанкирование» эмбрионов может быть полезным для создания в будущем популяций-основателей с целью возможной реинтродукции в дикую природу [146, 152, 157].

В настоящее время управление современной молочной промышленностью требует оптимального размера стада, а также дополнительно для замены животных с низкой или средней продуктивностью. В последнее десятилетие появилась необходимость получения ремонтных телок с высокой генетикой. В последние десятилетия в стадах начали разрабатывать нескольких методов разделения хромосом, несущих X и Y [166].

Из предложенных и апробированных методов предварительного выбора пола спермы оказалась успешной проточная цитометрия в получении спермы, отсортированной по полу. Представленная вспомогательная репродуктивная технология действует на основе врожденной разницы в содержании ДНК сперматозоидов, несущих X и Y хромосомы. Можно повысить продуктивную эффективность отсортировкой по полу идеального соотношения самцов и самок. Более эффективный отбор ремонтных телок высшего качества стал бы возможен после использования семени, отсортированного по полу.

После внедрения спермы, отсортированной по полу, в процессе различных исследований, ученые и практики изучали ее эффективность в стадах или в целой популяции животных, а также точность предварительного выбора пола животного. С помощью проточной цитометрии точность предварительного выбора пола составила 90 %. В результате исследований было доказано, что спер-

ма, разделенная по полу, проявляет более низкий уровень оплодотворяемости по сравнению с обычной спермой [169].

Из-за снижения уровня оплодотворяемости спермы, отсортированной по полу, ее использование обычно ограничивается при осеменении коров, но чаще используют более фертильных телок, способных к воспроизводству. Позже было отмечено, что использование спермы, отсортированной по полу, во второй или более поздних осеменениях телок, также может снизиться уровень оплодотворяемости по сравнению с первотелками [171].

Повышение уровня генетического потенциала продуктивности, биобезопасности и формирования стада, а также снижение цен семени на ремонтных телок в будущем станет одним из основных преимуществ, животноводы будут использовать сперму, разделенную по полу и для первотелок.

С экономической точки зрения применение спермы, отсортированной по полу, снижает затраты на производство молока. Кроме того, ожидается, что более эффективные программы тестирования потомства, МОПЭ (множественная овуляция и перенос эмбрионов) и IVP (производство эмбрионов *in vitro*) будут направлены на использование сексированного семени.

Разработано несколько методов для определения пола эмбрионов до их трансплантации:

1) одним из первых был цитологический метод, при котором пол животного определялся путем наблюдения половых хромосом из метафазных спредов биопсии. Хотя точность этого метода составляет практически 100 %, эффективность (доля определяемых эмбрионов) остается на неудовлетворительном уровне. Кроме того, этот метод требует больше навыков, чем другие методы.

2) в 1980-х гг. обнаружили NY-антигена на эмбрионах самцов мышей. Был разработан простой метод в использовании и достаточно быстрый, чтобы можно было им работать в полевых условиях. Исследования показали, что точность метода с эмбрионами крупного рогатого скота составляет 80–90 % в лучшем случае, и этот метод оказался не широко используемым. Разработан другой подход, который используется для эмбрионов различного пола, то есть секси-



рованного семени;

3) в обмене веществ отмечено различие между полами животных. Оказалось, что до инактивации одной из X-хромосом у самок экспрессия X-сцепленных генов будет выше, чем у самцов. Одним из таких генов является G<sub>6</sub>PDH (глюкозофосфатдегидрогеназа), экспрессию которого можно измерить с помощью цветовой реакции. Хотя этот метод не требует биопсии, его точность еще не доказана. Кроме того, он может не подходить для эмбрионов, которые развились после стадии средней бластоцисты, потому что эти эмбрионы уже подвергались инактивации.

4) большое внимание уделяется дезоксирибонуклеиновой кислоте (ДНК), особенно после разработки полимеразной цепной реакции (ПЦР). Определение пола с помощью ПЦР обеспечивает приемлемую точность, эффективность и скорость, однако при этом основным недостатком является необходимость биопсии [153, 164].

#### 1.4 Факторы, влияющие на производство эмбрионов и уровень оплодотворяемости крупного рогатого скота

Занимаясь трансплантацией эмбрионов, D. Looney (1986) отметил, что в среднем было получено по 6,6 эмбрионов от каждой коровы из 2048 суперовуляций мясного скота, а T. Hasler [и др.] (1983) получили в среднем по 5,1 хороших эмбрионов почти от 1 000 различных коров голштинской породы. В 1992 г. T. Hasler отметил, что от одного донора в среднем получено эмбрионов 5–7 штук. Эти показатели практически не изменились в течение многих лет.

Позже было отмечено, что использование препарата СИДР позволило успешно сократить межсуперовуляционный интервал, что способствовало получению большего количества эмбрионов за тот же период [144, 145, 146].

В течение многих лет в процессе трансплантации эмбрионов было признано, что для достижения наилучших результатов у коров-доноров должно быть не менее двух эстральных циклов между суперовуляциями [149]. При та-

ком подходе доноры в программах трансплантации эмбрионов раньше супероулировали примерно каждые 65–70 дней. Однако, начиная с конца 1990-х годов, ученые разработали и использовали протокол супероуляции, который значительно уменьшил этот интервал. В предложенный протокол включали инъекцию простагландина и вводили имплантанту прогестерона сразу после нехирургического вымывания эмбрионов. Через 10 дней имплантант удалялся, и после следующей половой охоты вновь была проведена супероуляция. Если эструс не проявлялся в течение 3 дней после удаления имплантанта, тогда вводили вновь новый имплантант и через 5 дней начиналась супероуляция. Эти доноры подвергались супероуляции через каждые 40 дней, что в среднем составило 13,8 раз в год. При этом некоторые коровы подвергались супероуляции лишь 11 раз или 16 раз в течение 18-месячного периода. Расчеты показали, что в среднем было получено 5,5 штук эмбрионов от каждого донора при использовании супероуляции [149, 151].

Исследования показали, что на эффективность супероуляции не оказало существенного влияния множество различных препаратов ФСГ, применявшихся на протяжении многих лет.

У крупного рогатого скота в возрасте 8–10 лет при использовании супероуляции получали меньше эмбрионов, чем в молодом возрасте. Было отмечено, что при интенсивной лактации у молочного скота может снизиться реакция овуляции на эффективность супероуляции.

Умеренный климат сезона оказывает меньшее влияние на супероуляцию. Однако было отмечено, что повышение температуры и влажности в окружающей среде представляют угрозу протеканию процесса супероуляции, особенно при использовании лактирующего молочного скота в качестве донора.

Индивидуальные различия среди самок по показателям супероуляции остаются недостаточно изученными. Наблюдения показали, что некоторые самки постоянно производят большое количество эмбрионов в процессе супероуляции, в то же время как другие самки того же возраста, породы, условий содержания и т.д. производят гораздо меньше эмбрионов. Возможно, что имеет

значение наследственность на суперовуляцию у крупного рогатого скота, следует изучить причины не достаточного формирования эмбрионов [120]. Из-за короткого периода полураспада ФСГ в кровеносной системе крупного рогатого скота (не более 5 часов) необходимо вводить всего 8 инъекций ФСГ по два раза в сутки в течение 4 дней.

Позже была проведена работа с составом, используемым для восстановления фоллитропина, ФСГ. Исследования показали, что положительная суперовуляция может быть достигнута всего двумя инъекциями фоллитропина, ФСГ, вводимыми с интервалом 48 ч [146].

Влияние самца на трансплантацию эмбрионов проявляется в двух факторах: во-первых, является показателем оплодотворенности яйцеклеток, а во-вторых – количеством полученных эмбрионов хорошего качества. Известно, что качество спермы, количество сперматозоидов и время осеменения тесно связаны с показателем оплодотворения у суперовулированного крупного рогатого скота. Большинство доноров с использованием суперовуляции оплодотворяются при введении одной порции спермы через 12 и 24 ч после начала половой охоты [149, 151].

Даже после оплодотворения и хорошего развития морфологически ценных эмбрионов были отмечены изменения во времени наступления беременности, а также показатели качества спермы у разных производителей. Недавно уровень оплодотворяемости коров и телок определяли по данным процентов беременных животных после выявления половой охоты и фактического их искусственного осеменения. В исследованиях L. Hasler и др. (1987) было отмечено, что после пересадки 146 эмбрионов, полученных от сексированных (не суперовулированных) доноров голштинской породы, оказались беременными 71% животных. Получено 2 061 эмбрионов, пересаженных от суперовулированных доноров голштинской породы (16 или более яйцеклеток / эмбрионов) телкам голштинской породы, коэффициент беременности – 73 %. Ни величина суперовуляторной реакции, ни процент оплодотворенных яйцеклеток не повлияли на процесс развития 7 000 перенесенных эмбрионов [149, 153, 154, 163].

Также на процесс беременности коров не повлияли ни день эстрального цикла (8–14), когда началось суперовуляторное лечение; ни процент оплодотворенных яйцеклеток. Существует множество неподтвержденных данных о том, что эмбрионы от доноров джерсейской породы не выдерживают замораживания и оттаивания в той же мере, как переносят эмбрионы голштинского скота [154].

Периодичность наступления беременности для эмбрионов джерсейской породы значительно ниже по сравнению с эмбрионами голштинской породы, замороженными либо в этиленгликоле, либо в глицерине. Также относительно широко распространена информация о том, что как свежие, так и замороженные эмбрионы от *Bos indicus* влияют на уменьшение частоты наступления беременности в сравнении с эмбрионами от крупного рогатого скота *Bos taurus*. Однако до настоящего времени пока нет опубликованных аналогичных и убедительных доказательств по этому поводу. Среди пород *Bos taurus* эмбрионы молочного скота оплодотворялись и наступала беременность столько же, как и эмбрионы крупного рогатого скота мясных пород [154, 158].

Эмбрионы от коров, возраст которых старше 15 лет, меньше приживались после пересадки, чем эмбрионы от более молодых животных. Уровень оплодотворяемости, достигнутый телками-реципиентами после пересадки эмбрионов: у здоровых был 68 % и выше, по сравнению с бесплодными – 58 %, а лактационный статус и возраст доноров голштинской породы не влияли на уровень оплодотворяемости трансплантирующихся эмбрионов.

В недавнем исследовании, посвященном изучению качества эмбрионов, оказалось, что значительно меньший процент эмбрионов получен от лактирующих молочных коров, но был высокого качества по сравнению с эмбрионами, полученными от молочных телок или нелактирующих мясных коров.

Качество эмбрионов определяли, основываясь на морфологии и степени темноты или плотности эмбриона [153]. Хорошо известно, что быки-производители могут оказывать сильное влияние на уровень оплодотворяемости самок после естественной случки или искусственного осеменения. Считает-

ся, что самцы, способные эффективно оплодотворять самок, должны использоваться в дальнейшем.

Некоторые ученые утверждают, что при трансплантации эмбрионов влияние отца воздействует на уровень оплодотворяемости даже после того, как эмбрион был использован для трансплантации. От быков с низким уровнем генетического потенциала при искусственном осеменении наблюдались более высокие показатели гибели эмбрионов по сравнению с быками отличающимися высоким уровнем генетического потенциала [105, 168].

Также отмечено, что у быков при искусственном осеменении проявляется невысокая плодовитость и отмечены более высокие показатели гибели эмбрионов, чем у быков с высокой плодовитостью [105, 168].

Н. Страуд и У. Hasler представили данные о прямой связи между качеством спермы, а также скоростью оплодотворения доноров и суперовуляцией. В результате исследований была отмечена значительная положительная связь между качеством спермы и процентом эмбрионов высокого качества. Из общего количества полученных эмбрионов во время вымывания процент эмбрионов отличного качества был аналогично связан с высоким качеством спермы [146, 171].

Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) – это вспомогательная технология, репродуктивная (ВРТ), позволяющая осуществить оплодотворение яйцеклетки вне организма животного, т. е. в искусственных условиях. Яйцеклетку извлекают из организма самки, искусственно оплодотворяют «в пробирке» (*in vitro*). Полученный эмбрион несколько дней содержат в условиях инкубатора, после чего переносят в полость матки для дальнейшего развития.

Для использования работ по пересадке эмбрионов животных большое значение имеет криоконсервация – процесс низкотемпературного сохранения живых биологических объектов с возможностью восстановления их биологических функций после размораживания. В процессе проведения пересадки эмбрионов до использования криоконсервации эмбрионы часто собирали уже на 5-й день после эструса, а иногда на 9-й или 10-й дни. Как известно, криоконсерва-

ция в настоящее время очень широко практикуется. В США в 2005 г. 64 % эмбрионов, получены с помощью методики криоконсервация.

В настоящее время большую часть эмбрионов у доноров собирают между 6,5 и 7,5 днями после половой охоты, в результате чего большинство полученных эмбрионов варьируются от поздних, компактных морул (стадия 4) до средних бластоцист (стадия 6). Наиболее важными критериями, связанными с морфологией эмбриона, являются возраст, стадия и качество [170, 172].

Стадия и качество эмбриона обычно основываются на описаниях, опубликованных Международным обществом переноса эмбрионов (IETS) [162]. Во множественном количестве пересадок не было отмечено различий в частоте наступления беременности у коров-реципиентов, извлеченных между 5 и 8 днями после наступившей фазы эструса. Исследования показали, что на 9-й день или позже, когда большинство эмбрионов крупного рогатого скота подвергались «выходу», частота наступления беременности уменьшалась [95, 120].

Возраст эмбриона достаточно близко соответствует стадии развития, а на основании большого количества свежих трансплантантов-эмбрионов, полученных *in vivo*, можно утверждать, что стадии эмбриона варьируются от поздних морул (стадия 4) до расширенных бластоцист (стадия 7) [126].

Отмечено, что показатели эмбрионов, полученных *in vitro*, более чувствительны к стадии, чем эмбрионы, полученные *in vivo*. Более высокие показатели были достигнуты после переноса расширенных бластоцист по сравнению с морулами и бластоцистами ранней стадии [130].

Тем не менее, морфологическое качество эмбриона (на каждой стадии) существенно зависит от частоты наступления беременности животных. Е. Фарин и др. (1995) выявили, что более высокое качество было у эмбрионов, полученных *in vivo*, по сравнению с эмбрионами, полученными *in vitro*.

Термин «*in vivo*» в переводе означает как «в жизни», соответственно, эксперимент проходит в естественных условиях. Термин «*in vitro*» переводится как «в стекле» и означает, что эксперименты проводятся вне живого организма.

Кроме того, наблюдалась относительно высокая степень согласия при

оценке превосходных и вырожденных (плохих) эмбрионов, но более низкая степень согласия в сравнении с хорошими и удовлетворительными эмбрионами. Как температура, так и продолжительность хранения эмбрионов может оказывать значительное влияние на их жизнеспособность. Однако, повышенная температура может оказывать вредное влияние на эмбрионы. Мужские эмбрионы могут успешно выдерживать в течение короткого времени достаточно широкий диапазон температур [130].

Самые высокие показатели уровня при пересадке эмбрионов крупного рогатого скота достигаются при использовании свежих эмбрионов, полученных *in vivo*. Замороженные и модифицированные эмбрионы, а также эмбрионы, полученные при помощи различных систем *in vitro* (включая клонированные и трансгенные эмбрионы), характеризуются более низкими показателями зачатия.

Клонирование (от греч. – «ветвь», «побег», «отпрыск») в биологии – это появление или получение нескольких генетически идентичных живых организмов. В некоторых странах клонирование, при котором воспроизводится целый многоклеточный организм, запрещено.

Представлены некоторые данные о частоте зачатия эмбрионов. Из разных источников в рамках одной программы: для эмбрионов 1-й степени частота зачатия составляет 76 % – для свежеполученных *in vivo*, 64 % – для замороженных *in vivo*, 56 % – для свежих, полученных в результате экстракорпорального оплодотворения. Было выявлено 42 % замороженных эмбрионов, полученных в результате экстракорпорального оплодотворения. Аналогичные результаты для эмбрионов, полученных *in vivo*, были в Нидерландах: 77,8 % свежих эмбрионов 1-й степени и 66,6 % замороженных эмбрионов 1-й степени привели к беременности [135, 137, 144].

### 1.5 Особенности кормления крупного рогатого скота

Для поддержания жизнедеятельности и получения продуктивности коров большое значение имеет кормление. Ряд факторов влияют на потребление кор-

ма коровами: тип и состав рациона; качество кормов и степень их переваримости, количество белка в рационе. Также от кормления животных зависит уровень продуктивности, состояние физиологических процессов организма, упитанность, живая масса и зоогигиенические условия содержания. Энергия коровы ограничена возможностью потреблять в рационе определенное количество сухого вещества, что дает возможность выделять молоко и выращивать плод [151].

В разные стадии лактации у коров отличаются требования к составу и питательности рационов, на что влияют множество факторов, в том числе возраст, стадия лактации, живая масса. Для проявления у коров уровня генетического потенциала продуктивности необходимо их группировать по стадиям лактации. Исследования показали, что не следует группировать коров по уровню продуктивности [121].

Необходимо выделять и кормить сухостойных коров отдельно от молочного стада. При этом сухостойных коров следует разделить на 2 группы: первая и вторая фазы сухостоя.

По данным недавних исследований известно, что на крупных животноводческих предприятиях в настоящее время целесообразно готовить полноценные кормосмеси в «смесителях». В настоящее время хорошо известно, что ответственными периодами физиологического состояния коров являются: вторая заключительная фаза сухостойного периода (21–0 дней до отела), начало лактации после отела (0–21 день) и первая фаза лактации (21–120 дней) после отела.

По результатам опытов было установлено, что в последнюю стадию сухостойной фазы кормление следует ограничивать, нормы для голштинских коров определяли на уровне 10–12 кг сухого вещества в сутки.

Для высокопродуктивных коров «транзитный период» является очень важным. Он начинается за 3 недели до отела и продолжается 3 недели после него [70]. Для получения высоких удоев и эмбрионов у коров необходимо учитывать в рационе гликопротеин [160]. На удой и качество молока существенно влияет здоровье животных [127].



Обильное кормление сухостойных коров, как известно, является причиной накопления значительных запасов жира, что может стать причиной интенсивного накопления жира в начальный период лактации, являющегося причиной цирроза печени у коров. Было научно доказано, что к отелу как коровы, так и телки имеют среднюю упитанность, в связи с чем важно тщательно оценивать данный показатель у коров за 2–3 месяца до отела по 5-балльной шкале Уилтмана.

Во многих высокопродуктивных стадах коров отслеживают отклонения упитанности от требуемых норм. Оптимальной должна быть упитанность коров на уровне 3–3,5 баллов. Для достижения этих показателей разработаны приемы регулирования питания соответствующим рационом. Научкой определено, что для сухостойных коров концентрация энергии в рационе должна быть не более 8 МДж/кг сухого вещества. Практически можно легко снизить энергетическую насыщенность рациона коров путем ввода в рацион 3–5 кг соломы, а для нетелей до 3–4 кг [45].

Большое значение при кормлении коров имеет оптимизация соотношения в рационе сухой массы сыпучих кормов (СВОК) и концентратов (СВК), наличие в рационе достаточного количества нейтрально-детергентной клетчатки (НДК) грубых кормов, стимулирующих процесс жевания и слюноотделение. При кормлении высокопродуктивных коров необходимо учитывать количество физически эффективных НФК (фНДФ), которое определяется величиной нарезки объемистых кормов. При наличии 40 % укуса силоса длиной 0,8–1,8 см, сена и сенажа до 5 см нормальная жвачка и слюноотделение у коров обеспечены. Исследования показали, что у высокопродуктивных коров с суточным удоем 38–45 кг он составляет 45–50 % УПК и 55–50 % УПК в период максимальной лактации [45].

Современные рационы для сухостойных коров второй фазы должны состоять из качественного сенажа и силоса, при чем в этот период в рацион следует включать 3–4 кг концентрированных кормов (включая шроты). По сути, состав рациона сухостойных коров 2-го периода будет аналогичен состав у ра-

циона 1-й лактации. Ближе к отелу у коров наблюдается дефицит энергии за счет естественного уменьшения поедания корма. Чтобы при этом не нарушить естественные процессы роста телят и физиологическое состояние коровы, рекомендуют применять специальные диетические энергетические продукты с глюкопластическими добавками [87].

Важно подготовить корову к изменениям в ее организме, происходящим перед отелом и в самом начале лактации. Для предупреждения послеродового пареза необходимо снизить содержание кальция в рационе, несмотря на то, что это необходимо для поддержания мышечного тонуса и профилактики судорог. Наряду с этим у коров за несколько дней до отела снижается потребление корма, а после отела резко возрастает потребность в кальции для получения молока и молочива [107].

Во второй период сухостоя важно не только подготовить корову к отелу, но и в последующее время кормить рационом с высоким содержанием концентратов. Это важно для подготовки изменения микрофлоры рубца при скармливании новой порции и организма коровы к интенсивному молокоотделению [87].

В первую фазу лактации (0–30 дней после отела) необходимо кормить коров лучшими объемистыми кормами с высоким содержанием энергии. Постепенно по мере увеличения процесса молокообразования увеличить дачу концентрированных кормов постепенно до 4–5 кг в сутки. Максимальная доза концентратов не должна составлять более 50 % в сухом веществе рациона. Это необходимо на данном этапе для сохранения здоровья коровы.

Желательно в условиях беспривязного содержания коров исключить отдельное кормление концентратами. Целесообразно все компоненты рациона смешивать в кормораздатчике и получать полнорационную кормосмесь. При таком кормлении новотельная корова будет обеспечена всеми питательными веществами, необходимыми не только для поддержания жизнедеятельности, но и для сохранения высокой продуктивности [87].

В первые 21 день после отела наступает колостральный период. В это

время рекомендуется медленно добавлять в рацион корма, богатые энергией и белком, а также увеличивать концентрацию сухого вещества (СВ) корма. Это применяется для снижения преобразования питательных веществ из жировой и мышечной тканей, что способствует уменьшению активности выработки кетонных тел. Средней концентрацией энергии и сырого белка для данного периода принято считать 11–14 МДж и 150–200 г (15–20 %), соответственно, в 1 кг СВ. После этого наступает период 21–120 дней, который считается пиком лактации. Среднее количество энергии – 11,5 МДж и 160–170 г белка (16–17 %), а для периода 120–220 дней – 10,6 МДж и 160 г (16 %) белка [107].

Для достижения необходимого показателя белка, специалисты рекомендуют внедрять в рацион сою и кукурузу в размере 1–2 кг в сутки на каждую голову, а для повышения количества энергии – говядину и жир, а также ЗПЖ (защищенный пальмовый жир). Выполнение данных рекомендаций способствует покрытию физиологических потребностей организмов животных в течение 3 недель после отела. Растительные жиры, такие как подсолнечные, рапсовые, малоэффективны из-за своего химического состава. Добавление до 150 г растительного масла в первые 21 день после отела также способствуют улучшению самочувствия животных.

По микро- и макроэлементам, витаминам балансировать рационы необходимо минерально-витаминными добавками. Важно использовать диетические энергетические продукты, содержащие глюкопластические ингредиенты в течение месяца после отела [86].

Пополнить рацион белком предложено смесью шротов: подсолнечного, рапсового, соевого. Важно в начале лактации повышать дачу корма постепенно, чтобы животные резко не снизили вес при адаптации к новому корму. Если корова снизила массу более чем на 10 %, это свидетельствует об ошибках в кормлении ее перед отелом. Исследования показали, что в основном такая ситуация бывает, если животные перед отелом имели высокую упитанность. При таких условиях может проявиться заболевание «кетоз».

Следует учитывать, что при расщеплении жира в организме коровы появ-

ляются кетоновые тела, которые вредны для печени. Важно учитывать, что пропионат из кормов не перерабатывается в глюкозу, а остается в виде гликогена в печени, что приводит ее к ожирению.

При различной функции печени у молочных коров с различным индексом функциональности печени в плазме крови формируются аминокислоты.

В различные периоды лактации возможно получить от коров высокие удои, без вреда для их здоровья при организации правильного кормления. Однако, максимальная продуктивность коров при сбалансированном кормлении может уменьшиться, если наступила у коровы стельность и появилась необходимость составлять рационы не только для получения молока, но и для роста приплода и подготовки матери к родам. В связи с этим снижается молочная продуктивность коров после 4–5 месяца лактации [87, 108].

В настоящее время СВ в рационах рассчитывается согласно нормам кормления и разнообразия состава кормов. Корм из натурального зерна, добавки протеина со средней нормой влажности 10–13 % считается важным кормом в рационе [86].

Установлены основные требования к составлению рационов высокопродуктивных коров:

- современные требования к питательным веществам: энергетическая ценность, расщепляемому и нерасщепляемому белку, жиру, минеральным веществам, микроэлементам и многим другим веществам, регулирующим баланс питания животных;

- наличие химического состава корма;

- наличие витаминно-минеральных премиксов, при необходимости препаратов аминокислот, ферментов, пробиотиков, вкусо-ароматических добавок, антиоксидантов и др. [45].

Для обеспечения животных сбалансированными рационами важно знать, что нужны не только корма, но и содержание в них необходимых питательных и биологически активных веществ. Для высокой продуктивности животным требуется не только нужное количество сена, силоса, сенажа, концентратов, но

и необходимые: обменная энергия, питательные вещества, макро - и микроэлементы, витамины [116].

Принято знать, что рацион считается сбалансированным, если потребности животных удовлетворяются за счет необходимого подбора кормов и их сочетания с кормовыми препаратами – источниками азота, аминокислот, минеральных веществ, витаминов.

### 1.6 Факторы, влияющие на состав крови крупного рогатого скота

На внутреннее состояние организма животного влияют многие факторы. В ответ на перемены в окружающей среде в организме животного происходят изменения физиологического состояния и в составе крови.

В условиях экосистемы Среднего Урала учеными было изучено физиологическое состояние организма коров зарубежной селекции [37, 74]. Было отмечено, что в период адаптации к экосистеме у животных проявлялись нарушения в обменных процессах, угнетение гемопоэза. Исследования показали, что на 2/3 площади Урала загрязнено тяжелыми металлами, пестицидами и бытовыми отходами. В организм коров вместе с кормами поступали тяжелые металлы. Оказалось, что это в 5 раз превышало предельно допустимую концентрацию меди и цинка. Отмечено, что у животных в почках содержание кадмия превышало норму на 270–320 %, в мышцах – на 185–210 %, свинца в костях в 6–8 раз выше нормы [62, 75].

Провели диспансеризацию коров в хозяйствах, где повышен уровень кадмия. Оказалось, что у 45–50 % животных в моче были белки и пигменты крови. Повышение концентрации уровня свинца до 40 % в окружающей среде вызвало у животных остеодистрофию и увеличение печени [93].

Анализ биохимии крови показал, что у 7 коров, не имеющих клинических признаков заболеваний, в крови оказались нарушения в соотношении кальция и фосфора, концентрации общего белка и их фракций, холестерина и мочевины [101, 117, 175].

При повышении уровня свинца и кадмия выявлено угнетение эритропоэза, увеличение концентрации микроцитарных форм эритроцитов. Были отклонения в белой крови: содержание лейкоцитов  $4,18-4,92 \times 10^9/\text{л}$ ; в пределах от 2,5 до  $4,7-5 \times 10^9/\text{л}$  было содержание лимфоцитов, а моноцитов – 246–294/мкл [60].

В неблагоприятных условиях у коров снижается фагоцитарная активность нейтрофилов. Установлено, что при воздействии радиации активизируется фагоцитоз как иммунологическая защита.

В зависимости от физиологического состояния закономерно у животного изменяется состав крови. Отмечено, что на двадцатый день после отела коров в крови уменьшается содержание кальция, а на пятидесятый день его концентрация уменьшается до количества 2,01 ммоль/л, в сухостойный период увеличивается на 0,73 ммоль/л.

Отмечены изменения в составе крови в последней стадии стельности коров. После отела у коров в период интенсивной лактации снижается содержание кальция в крови, так как секретировается молоко с насыщенным кальцием.

Выявлены изменения содержания фосфора в молоке коров в течение всей лактации по сравнению с периодом запуска. В период лактации концентрация неорганического фосфора уменьшается, до показателя ниже нормы за 20–10 дней до отела. Определено, что уменьшается концентрация фосфора в крови коров до отела (1,32 ммоль/л) и после отела (1,17 ммоль/л). В данный период у животных проявляются клинические признаки кетоза в легкой или тяжелой степени. Очень важное значение имеет у животных с высокой продуктивностью минеральный обмен. Установлено, что до отела у коров резко снижается концентрация минеральных веществ, а затем после отела возвращается показатель к норме [132].

В период от двадцатого до пятидесятого дней лактации снижается в крови концентрация глюкозы на 39–40 % по сравнению с периодом запуска коровы. В период сухостоя за 20–10 дней до отела снижается концентрация глюкозы, но остается в пределах нормы. Если снижается содержание глюкозы в крови до

минимальной концентрации, это приводит к нарушению углеводного обмена. Важное значение для обеспечения организма животного энергией имеет глюкоза. Она служит субстратом для образования молочного жира. Важно поддерживать у коровы оптимальные нормы глюкозы до 2,2–3,9 ммоль/л (40–70 мг/л) [132].

В процессе исследований установлено, что во время пищеварения в кровь попадает недостаточное количество глюкозы, так как в рубце она ферментируется до летучих жирных кислот – масляной, уксусной и пропионовой. В печени коров из пропионовой кислоты синтезируется до 3–4 кг глюкозы, а также аминокислоты и глицерин.

В норме в крови до отела остается содержание общего белка. Уже на 20-й день лактации снижается концентрация общего белка до его уровня в период запуска. Еще уменьшается общий белок до 71,16 г/л на 50-й день, по сравнению с 77,85 г/л во время запуска. Концентрация белка у коров за 20–10 дней до отела не значительно отличается от периода запуска и сухостоя. Нарушается белковый обмен у коров за 20–10 дней до отела и после него [102].

В период сухостоя за 20–10 дней до отела начинает уменьшаться концентрация гемоглобина в крови у коров. Однако через двадцать дней после отела концентрация гемоглобина уменьшается на 18 %, по сравнению с периодом сухостоя. Доказано, что снижение концентрации гемоглобина на 26 % в начале сухостоя, чем во время сухостоя на 50-й день лактации свидетельствует о клиническом признаке кетоза [174].

Изменяется концентрация каротина в крови коров в различные стадии межотельного цикла. Отмечено снижение содержания в крови каротина ниже нормы у всех подопытных коров, кроме животных в период за тридцать дней до отела. Самый низкий показатель 0,319 мг каротина был на 50-й день после отела, а за 20–10 дней до отела и 20-й дней после отела составлял 0,396 мг и 0,350 мг соответственно. Важно знать, что снижение доли каротина в крови свидетельствует о наличии скрытого кетоза [174].

При недостаточном поступлении витаминов с кормом у животных нару-

шается витаминный обмен за счет интенсивного расхода каротина и снижается секреция молока в период лактации. За 20–10 дней до отела у сухостойных коров увеличивается активность печеночного фермента аланинаминотрансферазы (АЛТ), по сравнению с коровами при запуске на 34 %. Данные показатели свидетельствуют о том, что происходят патологические процессы в печени, нарушаются ее функции в период сухостоя за 20–10 дней до отела и в период 20–50 дней после отела. Исследования показали, что после запуска у коровы было больше мочевины в крови. Уровень ее в крови был максимальный на 20-й день после начала лактации. Известно, что увеличение мочевины наблюдается при нарушении микрофлоры рубца и общего белкового обмена.

Биохимия крови показала, что за 20–10 дней до отела и через 50 дней после отела, а также при запуске и через 20 дней после отела коров щелочной резерв был ниже, чем у коров в период запуска [84]. Избыток мочевины в крови допустим, если он ограничен. Слишком высокие значения азота мочевины в крови ( $> 17,6$  мг N/дл); имеет негативные последствия для репродуктивного здоровья коровы. К ним относится повышенный риск снижения фертильности в молочном стаде [147, 161]. Таким образом, это снижение фертильности является правилом уменьшения частоты наступления беременности [147], наличия кист яичников [148], задержки плаценты и ранней смертности эмбрионов дойных коров с уреимией [140, 143]. Кроме того, накопление продуктов метаболизма белков (мочевина,  $\text{NH}_4^+$ ) в слизистой оболочке матки оказывает цитотоксическое действие на слизистую оболочку матки, что снижает приживаемость эмбриона и ооцита [117]. Результаты работы авторов показывают, что дойные коровы с более длинными интервалами между запусками и первым искусственным осеменением обычно имеют низкий уровень мочевины в крови ( $< 7$  мгN/дл) [164]. D. Rajala-Schulz и др. сообщили, что у молочных коров с уровнем мочевины в крови ниже 10,0 мгN/дл диагноз беременности был подтвержден больше в 2,4 раза, чем у коров с более высоким уровнем мочевины в крови при 15,4 мгN/дл.

Эти результаты показывают, что повышение концентрации мочевины в



крови отрицательно влияет на показатели, связанные с фертильностью, и увеличивает количество неоплодотворившихся коров после осеменения. Исследования выявили ухудшение репродуктивной функции при повышении уровня мочевины в крови и очень низкий уровень успеха при первом осеменении, когда концентрация мочевины в крови ниже 7 мг/дл [21]. Следовательно, содержание концентрации мочевины в приемлемых пределах может значительно улучшить репродуктивную способность дойных коров. В сыворотке нет существенной разницы в концентрации общего белка между группами. Также О. Щорфи и др. не наблюдали никакой связи между общим белком и количеством переносимых эмбрионов [114].

С явными клиническими признаками и скрытым течением кетоза у коров резко снижается резервная щелочность плазмы крови: концентрация глюкозы, общего белка, Са, Р и каротина, начиная с предродового периода до родов. Эта ситуация происходит при недостаточном поступлении питательных веществ с кормом. Может быть, это связано с плохим аппетитом у коров во время переходного периода, а также при недостаточно активизированным организмом по использованию питательных веществ из запасов собственного тела [132].

Физиологические признаки коров в различные стадии межотельного цикла показали, что в период сухостоя у коров температура тела была в норме (38 °С и 37,9 °С), после отела она снизилась на 0,4 °С, а в период раздоя повысилась на 0,88 °С. Отмечены изменения частоты сердцебиения у сухостойных коров. В середине сухостоя частота уменьшилась на 1,1 удара, а затем постепенно повысилась в 0,9 раз. Зафиксировано незначительное уменьшение частоты дыхания коров с периода сухостоя до раздоя на 2,15 дыханий в минуту, но в лактационный период частота дыханий уменьшилась [126]. У коров от периода сухостоя до раздоя отмечена тенденция снижения рубцовых сокращений. Известно, что современные высокопродуктивные коровы изнежены и требовательны к хорошим условиям. Авторы исследований отмечают, что для профилактики проблем необходимо реагировать на любые замеченные отклонения в технологии.

В современном скотоводстве животные выбывают в раннем возрасте. Чтобы продлить продуктивное долголетие высокопродуктивных коров, важно заранее выявить причины раннего их выбытия. Разработана методика выявления выбытия животных и долголетия по эритроцитарным антигенам – маркерам В-системы группы крови. Определены иммуногенетические маркеры высокой продолжительности жизни в исследуемом стаде аллели  $B1PRA_{10}$ ,  $B_2GL$ ,  $V_2A_2$ . Исследования показали, что чаще встречались в первом кластере и характеризовались максимальными значениями этого показателя, аллели  $B_1X_2E_3GG$ ,  $P_1A_1GG$  распространены в третьем кластере, а продолжительность жизни животных-носителей была наименьшей [175].

Изучена зависимость общего количества бактериальных и соматических клеток от количества и состава надоев молока. На северо-востоке Танзании на небольших фермах определили, что на удои и продолжительность лактации у помесей коров голштинской и местной пород влияют факторы внешней среды и доля кровности голштинской породы. При разведении высокопродуктивных коров в стаде необходимо вести контроль интерьерных показателей, что важно для отбора высокопродуктивных животных. У симментальских коров различных генотипов определена зависимость хозяйственного долголетия и биотехнологического статуса крови. Для дальнейшей селекции определены генетические параметры, биохимический состав молока и крови у коров молочного направления продуктивности. По результатам исследований гематологических показателей крови коров можно оценить используемые рационы с повышенным содержанием минеральных веществ и витаминов [102].

## 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Материал и схема исследований

Материалом для исследования послужили телки и коровы голштинской и айрширской пород на фермах хозяйства «Кубанское агрообъединение – Агрохолдинг «Кубань», Усть-Лабинского района. Общая схема исследований представлена на рисунке 1.

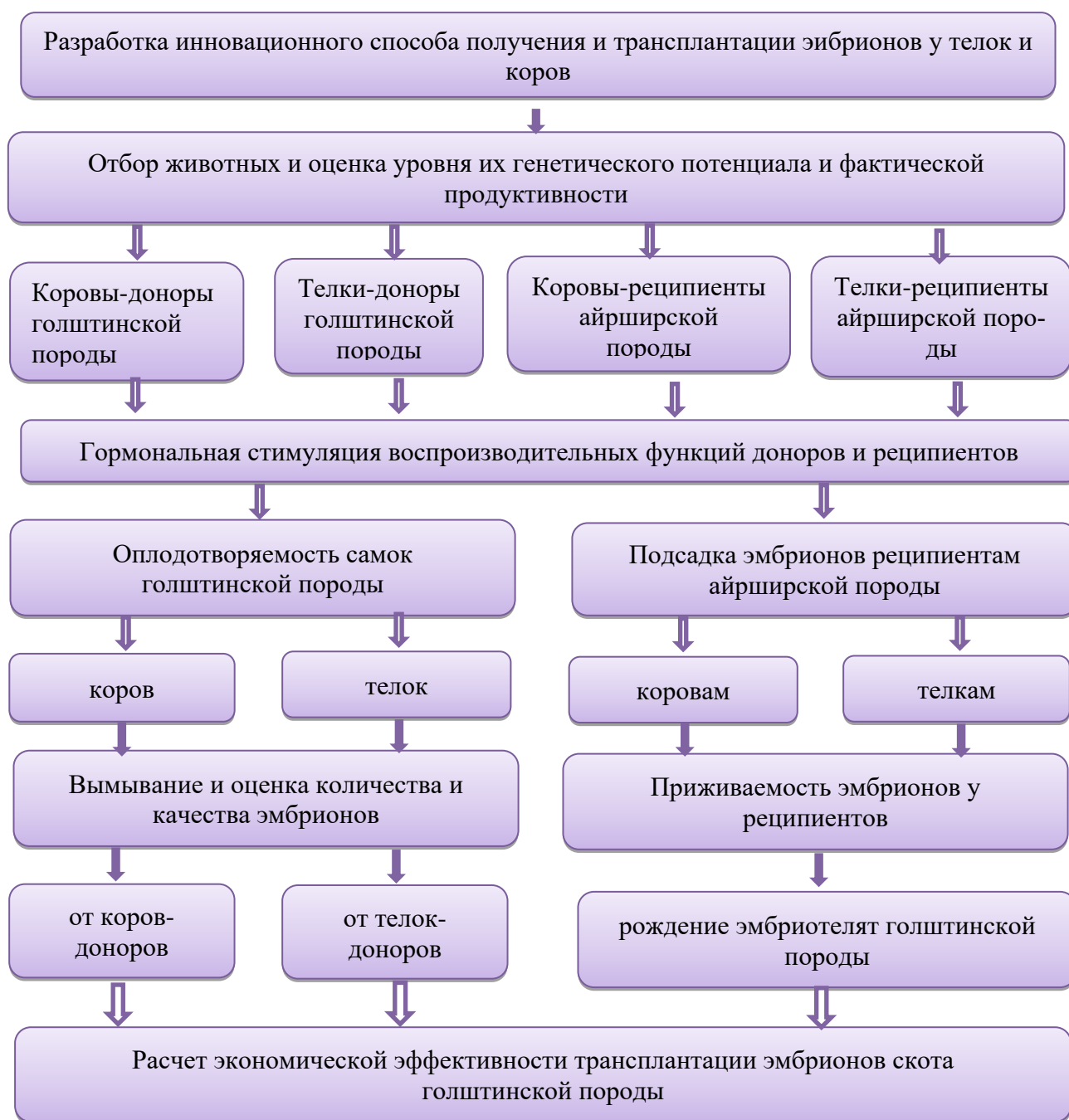


Рисунок 1 – Общая схема исследований

Нами проведены научные исследования по стимуляции половой охоты у коров и телок-доноров голштинской породы, вымыванию эмбрионов и их пересадки коровам и телкам айрширской породы на фермах хозяйства «Кубанское агрообъединение – Агрохолдинг «Кубань», Усть-Лабинского района.

Подопытные животные отбирались на разных фермах хозяйства. Коровы- и телки-доноры голштинской породы были отобраны на фермах № 4 и № 10, а коровы- и телки-реципиенты айрширской породы – на ферме № 3. При отборе животных учитывали породу, племенную категорию, уровень продуктивности коров, здоровье и репродуктивные функции. Общее направление исследований нацелено на изучение и освоение методики отбора, подготовки доноров и получения эмбрионов скота голштинской породы, трансплантацию эмбрионов самкам реципиентам айрширской породы.

## 2.2 Методики исследований

В период научных исследований нами было проведено 4 эксперимента:

- 1) использование телок в возрасте 12–13 месяцев в качестве доноров эмбрионов;
- 2) внедрение нового протокола суперовуляции телок и коров-доноров;
- 3) эффективность использования «сексированной» спермы для получения эмбрионов;
- 4) результаты трансплантации эмбрионов коровам и телкам-реципиентам.

В процессе этих опытов, нами изучены факторы, влияющие на качественные и количественные показатели полученных эмбрионов, кормление подопытных животных, биохимический и гематологический состав крови коров и телок, а также рассчитали экономическую эффективность получения эмбрионов в условиях интенсивной технологии.

Для проведения исследований были отобраны клинически здоровые коровы-доноры и телки-доноры. При отборе животных учитывали следующие показатели: экстерьер и молочный тип, наличие в родословной выдающихся

предков, продуктивность матери за наивысшую лактацию (не менее 9 000 кг), содержание жира в молоке не менее 3,9 % и белка – 3,3 %. У отобранных доноров провели ректальное исследование методом пальпации и ультразвукового сканирования, определили стадию развития фолликулов и возможное присутствие желтого тела или различных кист яичников, а также индукцию суперовуляции путем неоднократного введения гормональных препаратов и осеменение. Отбирали коров-доноров голштинской породы в возрасте от первой до пятой лактации и телок-доноров. Подопытных животных разделили на 4 группы (таблица 1).

Таблица 1 – Схема первого опыта

Группа	Подопытные животные голштинской породы	Количество, гол	Состояние половой охоты	Подготовка к суперовуляции
I контрольная	Коровы-доноры	4	Случайный отбор	Гормональная схема вызова суперовуляции
II контрольная	Телки-доноры	6	Случайный отбор	Гормональная схема вызова суперовуляции
III опытная	Коровы-доноры	10	Отбор после оценки стадии овуляции яичников	Гормональная схема вызова суперовуляции
IV опытная	Телки-доноры	10	Отбор после оценки стадии овуляции яичников	Гормональная схема вызова суперовуляции

В первую и вторую контрольные группы включили телок и коров-доноров, отобранных случайным методом без учета состояния фолликулов. Выбрали животных по показателям молочной продуктивности, возраста телок и даты последнего отела коров. Индукцию суперовуляции подопытным животным проводили в соответствии с протоколом № 1 (таблица 2).

Таблица 2 – Протокол № 1 – Схема вызова суперовуляции у телок-доноров голштинской породы

Дата учета	Время	Название препаратов
-14	Утро	Каролин 20 мл + Седимин 10 мл
-10	Утро	Эстрофантин 3 мл
0	Утро	СИДР введение + Каролин 20 мл + Седимин 10 мл
3	9-00	Фертагил 5 мл
6	9-00	Фоллигон 1 мл
6	17-00	Фоллигон 1 мл
7	9-00	Фоллигон 0,7 мл
7	17-00	Фоллигон 0,7 мл
8	9-00	Фоллигон 0,5 мл
8	17-00	Фоллигон 0,5 мл
9	9-00	Фоллигон 0,4 мл + Динолитик 5 мл + СИДРа
9	17-00	Фоллигон 0,4 мл + Динолитик 5 мл
11	9-00	Фертагил 5 мл
11	9-00	Первое осеменение 2 дозы
11	17-00	Второе осеменение 1 доза
18	10-30	Вымывание эмбрионов, затем введение СИДРа

Во втором опыте нами было сформировано 4 группы подопытных животных голштинской породы, в том числе 15 телок-доноров в 1-ой контрольной группе, подготовленных к суперовуляции с использованием препарата «Плюсет»; 15 телок-доноров во 2-й опытной группе – введение препарата «Фоллигон»; 11 коров-доноров в 3-й контрольной группе с введением препарата «Плюсет» и 24 коровы-донора в 4-й опытной группе с использованием препарата «Фоллигон» (таблица 3).

Таблица 3 – Схема второго опыта

Группа	Подопытные животные голштинской породы	Количество, гол	Подготовка к суперовуляции	Время стимуляции, дней
I контрольная	телки-доноры	15	схема 1 – «Плюсет»	10
II опытная	телки-доноры	15	схема 2 – «Фоллигон»	11
III контрольная	коровы-доноры	11	схема 1 – «Плюсет»	10
IV опытная	коровы-доноры	24	схема 2 – «Фоллигон»	11

Третий эксперимент заключался в изучении эффективности осеменения

доноров обычной спермой (таблица 4). Целью нашего эксперимента было сравнить затраты на осеменение сексированной и обычной спермы, используемой на ферме. Были сформированы две группы: коров-доноров контрольной группы осеменяли сексированным семенем (n=25), а опытной группы – обычным семенем (n=27).

В процессе вызова овуляции у телок и коров использовали препараты, название, состав и функции которых следующие:

1. Каролин – препарат который содержит:  $\beta$ -каротина 2 мг, дисфункции яичников у коров, недостаточной функции желтого тела беременности.

Таблица 4 – Схема опыта при осеменении коров-доноров сексированным и обычным семенем

Группа	n	Подопытные животные	Вид семени
1 группа – контрольная	25	Коровы-доноры	Сексированное
2 группа – опытная	27	Коровы-доноры	Традиционное замороженное

2. СИДР, Прогестерон ингибирует гипоталамо-гипофизарную систему, вследствие этого не происходит выделение гонадотропных гормонов – фолликулостимулирующего и лютеинизирующего, и в результате не происходит созревание фолликулов и их овуляции. После извлечения СИДРа из влагалища, уровень прогестерона в крови снижается в течение 4–6 ч, в результате происходит созревание фолликулов и их овуляция.

3. Эстрофантин. Клопростенол – синтетический простагландин, Он оказывает сильное лютеолитическое действие, вызывает функциональную и морфологическую регрессию желтого тела (лютеолиз), посредством чего снимает тормозящее действие прогестерона на гипоталамо-гипофизарный комплекс, способствуя росту фолликулов в яичниках, увеличению уровня эстрогенов в крови, проявлению половой охоты и последующей овуляции созревших фолликулов. В организме животных клопростенол быстро метаболизируется и выводится с мочой в течение 24 ч.

4. Седимин – железо (в форме комплекса железа (III) с декстраном, йод, селен. Применение седимина маткам способствует повышению их воспроизводительной способности и получению жизнеспособного приплода; нормализует и стимулирует внутриутробное развитие плода; обеспечивает профилактику послеродовой патологии и заболеваний (задержания последов, эндометриты); вызывает повышение общей резистентности организма сельскохозяйственных животных.

5. Фертагил. Прогестерон ингибирует гипоталамо-гипофизарную систему, вследствие этого не происходит выделение гонадотропных гормонов – фолликулостимулирующего и лютеинизирующего в результате не происходит созревание фолликулов и их овуляция. После извлечения СИДР из влагалища, уровень прогестерона в крови снижается в течение 4–6 ч, в результате происходит созревание фолликулов и их овуляция.

6. Фоллигон. Гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) применяют с целью индукции и синхронизации овуляции у циклирующих и нециклирующих коров, телок, стимуляции многоплодия у мелкого рогатого скота, индукции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов.

7. Динолитик простагландин F2a. Динопрост (природный простагландин F2a) обладает лютеолитической активностью, а также стимулирующим влиянием на гладкую мускулатуру, особенно миометрий, мышцы сосудов, бронхов и желудочно-кишечного тракта. После введения динолитика, динопрострометамин быстро разлагается с образованием динопроста (F2a). Это соединение обладает крайне малым периодом полувыведения из крови, который составляет всего несколько минут. Остаточные количества лекарственного средства быстро выводятся из организма и не аккумулируются в тканях животного, за исключением места инъекции, где они сохраняются до 24-48 часов после инъекции.

8. Плюсет – гормональное лекарственное средство для животных, содержащее в одном флаконе 500 МЕ фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) и 500 МЕ лютеинизирующего гормона (ЛГ), получаемых из гипофиза свиней с



растворителем. Плюсет относится к группе гонадотропных гормональных лекарственных средств. Фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий (ЛГ) гормоны, входящие в состав препарата, вырабатываются передней долей гипофиза у млекопитающих и оказывают стимулирующее действие на рост и созревание фолликулов в яичниках у самок, усиливают секрецию эстрогенов, повышают чувствительность органов-мишеней к ЛГ. Обеспечивает ЛГ овуляцию и образование желтого тела, а также выделение стероидных гормонов, как в фолликулах, так и в клетках желтого тела. После введения Плюсета действующие вещества быстро всасываются в кровь, воздействуя на органы-мишени.

Коровам-донорам проводили суперовуляцию с использованием протокола в контрольной группе коров и осеменяли их обычным замороженным семенем (таблица 5). При отборе подопытных животных учитывали специально разработанные требования в хозяйстве к животным донорам и реципиентам. Критерии включения животных для проведения научных опытов были следующие:– контроль и регулирование здоровья у животных – состояние здоровья: к концу подготовки у животного отсутствовали патологии, особенно в половой системе,– генетический потенциал животных был выше среднего показателя по стаду.

Таблица 5 – Схема вызова суперовуляции у самок-доноров крупного рогатого скота

Время введения препарата, час.	Вид препарата, доза
1 день: 16-00	«Эстрогин плюсет» – 2 мл
4 день: 18-00	«Плюсет» – 4мл
5 день: 18-00	«Плюсет»– 3мл
6 день: 18-00	«Плюсет» – 2мл + «Динолитик» –5мл
7 день: 7-00	«Плюсет» – 2мл + «Динолитик» –5мл
7 день: 18-00	«Плюсет»–1 мл
8 день: 7-00	«Плюсет»–1мл, удалить cidr
9 день: 7-00	«Фертагил» –5мл
9 день: 7-00	1 доза семени
9 день: 18-00	1 доза семени
10 день: 7-00	1 доза семени

Приведены критерии отбора коров-доноров. Проведен тщательный визу-

альный осмотр для выявления и лечения стригущего лишая, наружных паразитов, сильной хромоты, мастита, конъюнктивита, слепоты, необходимо тщательное обследование репродуктивных путей для подтверждения показателей: небеременная зрелая матка, отсутствует эндометрит, опухоли и спайки. Проводили оценку методом пальпации стельность у всех самок крупного рогатого скота через тридцать дней после осеменения. Два некистозных яичника нормального размера, каждый из них должен быть без спаек. Молочная продуктивность является основным критерием, учитываемым при отборе коров-доноров. Годовой удой племенных коров – доноров должен быть 9500 кг и более, возраст от 4 до 8 лет, живая масса от 500 до 650 кг, осеменение должно быть через 75–90 дней после отела; продолжительность сервис-периода от 80 до 130 дней. Учитывали у отбираемых коров предшествующую суперовуляцию, если таковая была. Отобранные коровы-доноры не должны использоваться более 5 раз в год в качестве доноров-эмбрионов, а интервал между двумя процедурами суперовуляции должен быть 60 дней или больше. При первом осеменении индекс фертильности должен быть не менее 60 %, индекс осеменения должен быть 1,5, от донора после первой суперовуляции должно быть не менее 5 эмбрионов 1-го класса. У доноров должны пройти не менее 3 раз овуляции до проведения суперовуляции.

Выбранный донор должен быть в хорошем морфологическом состоянии и не иметь патологии физиологического характера: матка предпочтительно должна располагаться в полости малого таза, шейка матки легко пальпируется, рога матки не сращены, их длина от 20 до 35 см, яичники без кисты, овальной формы, плотной консистенции, диаметром от 2 до 3 см у коров и от 1,5 до 2 см у телок. Продолжительность предыдущих половых циклов должна быть нормальной и составлять от 19 до 22 дней, у коров должно быть активное желтое тело. Коровы с желтым телом и доминантным фолликулом не подвергались суперовуляции. Отобранные животные должны быть клинически здоровыми, с упитанностью от 2,75 до 3,50, без заболеваний конечностей, желудочно-кишечного тракта и органов дыхания.

Сперму быков, используемых для осеменения коров-доноров, отбирали с учетом оценки матерей и бабушек быков. Они могут относиться к первой племенной категории, если за лактацию получено больше 14 000 кг молока.

В зависимости от наличия гормонов, используемых для стимуляции суперовуляции, были сформированы однородные группы коров- и телок-доноров. Ежедневно контролировали половую активность у каждого отобранного животного для их осеменения в строго определенное время, чтобы точно провести запланированные производственные процессы.

Искусственное осеменение каждого донора проводили три раза. Первое осеменение осуществляли утром на девятый день от начала гормональной стимуляции, второе осеменение проводили вечером того же дня и третье осеменение проводили утром на 10-й день с начала гормональной стимуляции. Осеменения доноров проводили строго с интервалом в 12 ч. Вымывание и оценку эмбрионов проводили строго в соответствии с планом протоколов, установленных «Ассоциацией трансплантации эмбрионов». Для вымывания эмбрионов было подготовлено специальное рабочее место.

Доноров фиксировали и вводили местную анестезию (2% новокаина, инъекция 7 мл). Используемый для вымывания матки раствор «Еврофлеш» предварительно нагревали до температуры тела (37 °С), вымывание осуществлялось с помощью катетера с тремя каналами: один для прохождения воздуха, второй для прохождения промывного раствора и третий для прохождения моющего средства. Последний (третий) присоединен к фильтру, позволяющему откачивать лишнюю жидкость. Катетер смазан, емкость, прикрепленная к катетеру, надута давлением воздуха, мандрель прикреплен, фильтр имел отверстие над крышкой. Были проверены зажимы, промыт фильтр, который хранили в теплом месте. Пробирки или шприцы для промывания эмбрионов проверяли на всех соединениях, переходниках, трубках.

Проводили оценку наружных половых органов, вводили катетер, затем подводили его к концу рога матки, раздували баллон на изгибе рога 15–20 мл, извлекали стилет, присоединяли шприц с промыванием. Эмбрионы промывали

жидкостью от 150 до 500 мл в рог матки. После промывания относили эту жидкость в лабораторию, сдувая баллон и удаляя катетер. После промывания рогов матки животному вводили простагландин, промывали раствором «Еврофлэш» и оставляли на 30 мин.

Затем приступали к поиску эмбрионов от 3 до 5 животных. Когда эмбрионы находились в поле зрения микроскопа, эмбрион с помощью микропипетки перемещали в отдельную чашку с раствором «Еврофлэш». Затем оценивали жидкость, принимая во внимание, что оболочка должна быть интактной, однородной, с равномерным делением клеток по оценочной таблице. Если эмбрион был качественным, его помещали в «пакет» с последующей его заморозкой или помещали в переносной «чемодан» с внутренней температурой 37 °С, а затем подсаживали эмбрионы животным-реципиентам.

Для научного опыта № 6 были сформированы 4 группы коров и телок айрширской породы. Первые две группы животных были контрольные без гормональной стимуляции (группы 1 и 2), а последние две группы (3 и 4) получали гормональную стимуляцию по схеме, представленной в таблице 6.

Таблица 6 – Схема опыта на коровах и телках-реципиентах айрширской породы

Группа	Подопытные животные айрширской породы	Количество животных, гол	Гормональная стимуляция
I контрольная	Коровы	17	без стимуляции
II контрольная	Телки	17	без стимуляции
III опытная	Коровы	20	гормональная стимуляция
IV опытная	Телки	18	гормональная стимуляция

Животные-реципиенты айрширской породы были отобраны и разделены на 2 разные группы: в первую группу включили коров с разным периодом лактации и более 70 дней после отела, а во вторую – телки в возрасте от 14 до 16 месяцев. Отбор реципиентов проводили по внешним признакам, состоянию здоровья и физиологическим процессам животного.

Возраст и размер животных являются важными факторами, особенно когда телки используются в качестве реципиентов. Общеизвестно, что матери

оказывают значительное влияние на генетический потенциал потомства, количество эмбрионов, живую массу и размер теленка при рождении. Для трансплантации лучше использовать крупных маток и производителей. Важно, чтобы реципиенты были также достаточно крупными, чтобы у них легко рождались крупные телята. Телки-реципиенты должны быть не моложе 14 месяцев и весить 340 кг и более. Коровы-реципиенты должны быть моложе 8 лет и иметь послеродовой период не менее 50 дней. При выборе коров-реципиентов для опыта учитывали: удой коров (не менее 6 000 кг за 305 дней лактации), крепкое телосложение, молочный тип, возраст от 4 до 8 лет, живую массу 500–650 кг, 75–90 дней после отела, период поддержания более 70 дней, метаболическая активность потенциальных реципиентов. У коров-реципиентов должна быть положительная реакция на гормональный режим, оплодотворяемость от первого осеменения (не менее 60 %), отсутствие аборт и мертворожденных телят, индекс осеменения – 1,5. Продолжительность предыдущего полового цикла у коровы должна быть 19–22 дня, активное желтое тело яичника диаметром 1–1,5 см. Коров не используют при наличии желтого тела и фолликула одновременно. Животные должны быть клинически здоровы, их упитанность 2,75–3,50 балла, без заболеваний конечностей, желудочно-кишечного тракта, органов дыхания и пищеварения. Коров и телок айрширской породы контрольных групп не стимулировали, а опытным коровам и телкам перед подсадкой эмбрионов вводили по 1 мл «Фертагила» (таблица 7).

Таблица 7 – Схема стимуляции реципиентов для подсадки эмбрионов

Время введения препарата, час	1 контрольная группа-коровы	2 контрольная группа-телки	3 опытная группа-коровы	4 опытная группа-телки
1 день: 7-00 час	не стимулировали	не стимулировали	«Фертагил» + сидр	«Фертагил» + сидр
7 день: 7-00 час	не стимулировали	не стимулировали	Удалить сидр + диналитик 5 мл	Удалить сидр + диналитик 5 мл
9 день: 7-00 час.	не стимулировали	не стимулировали	«Фертагил» – 1мл	«Фертагил» – 1мл
16 день 7-00 час	«Фертагил» 1 мл + подсадка эмбрионов	«Фертагил» 1 мл + подсадка эмбрионов	«Фертагил» 1мл + подсадка эмбрионов	«Фертагил» – 1мл+ подсадка эмбрионов

Время введения во все дни стимулирования половой охоты приходилось на 7-00 часов. Коров первой контрольной и телок второй контрольной групп стимулировали лишь на 16-й день препаратом «Фертагил» в дозе 1 мл с подсадкой эмбрионов. Коров и телок третьей и четвертой опытных групп в первый день стимулировали препаратом «Фертагил» с добавлением «Сидра». В 7-ой день стимуляции исключили сидр и ввели диналитик в количестве 5 мл. На 9-ый день вводили только «Фертагил» по 1 мл на одно животное. И в 16-й день также стимулировали «Фертагилом» в дозировке 1 мл с подсадкой эмбрионов.

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Продуктивные качества коров-доноров и телок-доноров голштинской породы

Генетический потенциал и будущая продуктивность эмбрионов зависят от наследственности родителей. Нами проанализированы показатели продуктивности предков самок в трех поколениях производителей, использованных для получения эмбрионов. Телки- и коровы-доноры для получения эмбрионов были оплодотворены семенем быков с высоким уровнем генетического потенциала и молочной продуктивности их предков (таблица 8).

Таблица 8 – Характеристика женских предков быков-производителей голштинской породы, используемых для получения эмбрионов от коров и телок

Клички быков-производителей	Продуктивность матерей			Продуктивность матерей матерей (бабушек по матерям)			Продуктивность матерей отцов (бабушек по отцам)			Средняя продуктивность женских предков быков		
	удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %	
		жира	белка		жира	белка		жира	белка		жира	белка
Эфифи	10424	4,10	3,10	12664	4,10	3,10	16610	3,90	3,10	12899	3,80	3,02
Идальго	11798	3,70	3,20	-	-	-	13298	4,10	3,01	12548	3,70	3,10
Хосмер	13298	3,80	3,20	12923	4,20	3,10	18180	3,50	3,10	13298	3,80	3,20
Ундадо	8985	4,40	3,20	15785	4,70	3,50	12297	4,90	3,40	13139	3,70	3,10
Индженус	14592	3,40	3,20	17287	4,90	3,00	12897	3,90	3,10	14925	4,06	3,1
Лункрест Миллард	14579	4,70	3,30	12805	4,40	3,30	-	-	-	13692	4,55	3,10
Блекоут	16815	4,40	3,30	13372	3,10	2,90	11285	3,70	3,50	13824	3,73	3,23
Средний показатель	12927	4,07	3,21	14139	4,23	3,15	14095	4,00	3,22	13475	3,91	3,14

У матерей семи быков, а также у их бабушек по материнской и отцовской линий, в среднем были высокие показатели молочной продуктивности – от 12927 кг до 14139 кг за лактацию, содержание жира в молоке – 4,00–4,23 %, белка – от 3,15 до 3,22 %.

У матерей быков показатели удоев за 305 дней лактации были ниже в среднем на 1212 кг (9,4 %), чем у бабушек по матери, и на 1168 кг (9,0 %) по сравнению с бабушками по отцу. Содержание жира в молоке максимальное было у бабушек по матери (разница + 0,16 % и + 0,07 %) по сравнению с матерями и бабушками отцов. Среди матерей быков самый высокий надой молока за 305 дней лактации был у матери сына Блекоут 16815 кг, содержание жира в молоке – у матери быка Лункрест Миллард – 4,7% и белка у матерей быков Лункрест Миллард и Блекоут соответственно – 3,3%.

Среди бабушек по матери наивысший удой был у бабушки быка Индженус – 17287 кг, жирность молока – 4,9%, содержание белка у матери быка Ундадо – 3,50%. У бабушки по отцу быка Хосмер удой – 18180 кг, жирность молока у бабушки быка Ундадо – 4,9 %, по белку у бабушки быка Блекоут – 3,50 %,

Нами были использованы 12 телок-доноров в возрасте от 11,9 до 15 месяцев и 70 коров-в возрасте от 24,3 до 98,9 месяцев, из них 16 голов – по 1-й лактации, 9 голов – по 2-й лактации, 27 голов – по 3-й лактации, 10 голов – по 4-й лактации, 3 головы – по 5-й лактации и 5 голов – по 6-й лактации (рисунок 2).

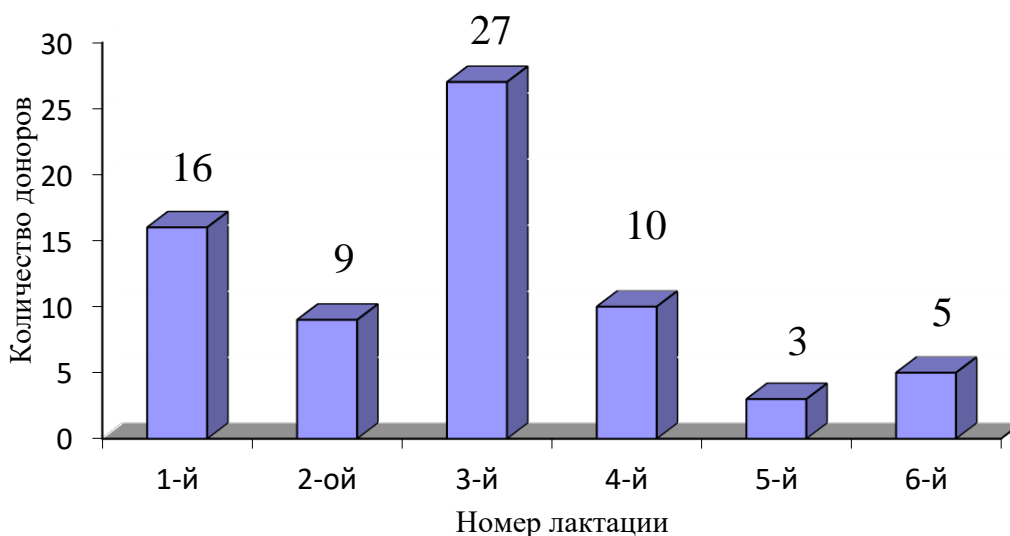


Рисунок 2 – Распределение коров-доноров по лактациям



Всего использовали 82 донора для получения эмбрионов в течение всего опыта. Были использованы доноры в возрасте от 11,9 до 98,9 месяцев, в среднем – 47,32 месяцев (таблица 9). Сервис-период у коров продолжался от 60 до 390 дней, в среднем – 127,33 дней, удой за лактацию у коров-доноров и матерей-телок был от 9 500 кг до 18 000 кг молока, в среднем – 11 580,49 кг; содержание жира в молоке – от 3,02 % до 4,27 %, в среднем – 3,69 % и белка – от 2,82 % до 3,68 %, в среднем – 3,27 %.

Таблица 9 – Продуктивные характеристики животных-доноров (телок и коров)

Показатель	Lim	M±m	σ	Cv
Возраст доноров, мес	11,9–98,9	47,32±2,6	23,59	49,85
Продолжительность сервис-периода, дней	60–390	127,33±9,83	89,07	69,95
Удой за 305 дней лактации, кг	9500–18000	11580,49±171,43	1552,41	13,40
Средняя жирность молока, %	3,02–4,27	3,69±0,04	0,33	8,94
Среднее содержание белка в молоке, %	2,82–3,68	3,27±0,02	0,20	6,12
Возраст коров в лактациях	0–6	2,06±0,2	1,70	82,52

Нами проведена оценка продуктивности всех женских предков используемых быков-производителей для получения от них эмбрионов (таблица 10). Для исследований использовали коров в возрасте до 6-й лактации (в среднем 2,06 лактаций), согласно заранее установленным критериям отбора. Характеристика женских предков быков-производителей свидетельствует, что в среднем удой матерей быков – 15329 кг, процент жира и белка в молоке – 4,17 % и 3,27% соответственно. Показатели продуктивности у бабушек по матерям быков были следующие: в среднем удой 14488 кг, 4,13 % жира и 3,04 % белка. У бабушек по отцам были самые низкие средние показатели: удой – 12091 кг молока, жирность и белковость молока соответственно 3,81 и 3,29 %.

Из женских предков быков-производителей максимальный показатель по удою – у бабушки по матери Д. Бомайл – 17 287 кг, содержание жира в молоке – 4,9 %, содержание белка в молоке – у бабушки по отцу Энд Роад Мафил Биг Банг – 3,5 %. Средняя продуктивность у женских предков быков по удою была 14141 кг, содержание жира и белка в молоке – соответственно 4,11 и 3,21%.

Таблица 10 – Характеристика женских предков быков-производителей голштинской породы, используемых для получения эмбрионов от коров и телок

Кличка, инв. № быка-производителя	Дата и место рождения быка	Показатели продуктивности женских предков быков-производителей											Средняя продуктивность женских предков быков			
		Матери				Матери матери				Матери отца						
		кличка инв. №, дата рождения	удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		кличка инв. №, дата рождения	удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		кличка инв. №, дата рождения	удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней, кг	содержание в молоке, %	
				жира	белка			жира	белка			жира	белка		жира	белка
Индженус 84401212	10.01.2007 США	В. Гартер 61065394 21.02.2005	14592	3,4	3,2	Д.Бомайл 123654814, 09.09.1998	17287	4,9	3,0	Хелдин 47 2.11.1992	12897	3,9	3,1	14925	4,06	3,1
Лункрест Миллард 137633111	15.06.2006 США	Аутумн ридж Дурхам Милли №134322461 13.02.2003	14579	4,7	3,3	Дугурум Рудже сторм №12201302 3 02.04.1998	12805	4,4	3,3	Кондн Азро Шарон, №5373153 20.01.1991	-	-	-	13692	4,55	3,3
А.Л.Х. Блекоут 61898213	03.02.2005 США	Санди-валлей Дарон Близз, №129776956 23.05.2003	16815	4,4	3,3	Санд-Валлей Ду Близзард №17246304 16.01.1997	13372	3,1	2,9	Энд-Роад Мафил Биг Банг, 15458228 30.06.1994	11285	3,7	3,5	13824	3,73	3,23
В среднем показатели продуктивности женских предков быков			15329	4,17	3,27		14488	4,13	3,04		12091	3,81	3,29	14141	4,11	3,21

Анализ показателей продуктивности коров- и телок-доноров подопытных групп показал, что отобранные животные незначительно отличались между собой по удою (таблица 11).

Таблица 11 – Показатели молочной продуктивности животных подопытных групп

Группа	Животные голштинской породы	Количество животных, гол	Показатели	Показатели удоев за 305 дней лактации, кг	Содержание в молоке, %	
					жира	белка
I контрольная	коровы	4	Lim	9348–12519	3,68–4,09	3,21–3,57
			M±m	10344±933	3,76 ±0,15	3,31±0,11
			σ	1865	0,3	0,21
			Cv	18,0	8,0	6,3
II контрольная	телки	6	Lim	9368–12432	3,71–4,11	3,23–3,56
			M±m	10433±491	3,79±0,06	3,39±0,05
			σ	1202	0,16	0,13
			Cv	11,5	4,2	3,8
III опытная	коровы	10	Lim	9529–13065	3,72–4,09	3,24–3,48
			M±m	10835±360,5	3,75±0,06	3,29±0,02
			σ	1141	0,12	0,08
			Cv	10,5	3,2	2,4
IV опытная	телки	10	Lim	9425–11971	3,70–4,02	3,30–3,48
			M±m	10502±259	3,72±0,03	3,36±0,02
			σ	821	0,10	0,06
			Cv	7,8	2,7	1,8

Разница между коровами-донорами 1-й и 3-й групп по удою составила 491 кг (4,7 %), по содержанию жира и белка в молоке соответственно 0,01 % и 0,02% в абсолютной величине. Разница по молочной продуктивности матерей телок 2-й и 4-й групп была незначительной: по удою 69 кг (0,7 %), содержанию жира и белка в молоке – соответственно 0,07 % и 0,03 % (в абсолютном значении). Из результатов анализа можно сделать вывод: общий уровень показателей молочной продуктивности коров-доноров соответствует предъявляемым к ним требованиям. Можно предположить будущую продуктивность эмбрионов, полученных от отобранных коров, телок и быков-производителей, спермой которых были осеменены доноры (таблица 12).

Таблица 12 – Уровень генетического потенциала молочной продуктивности полученных эмбрионов

Группа	Показатели продуктивности родителей эмбрионов						Уровень генетического потенциала эмбрионов, полученных от разных матерей и отцов		
	матерей			отцов					
	удой за 305 дней лактации, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней лактации, кг	содержание в молоке, %		удой за 305 дней лактации, кг	содержание в молоке, %	
жира		белка	жира		белка	жира		белка	
I контрольная, коровы-доноры	10344	3,76	3,31	14033	4,21	3,25	12189	3,95	3,27
II контрольная, телки-доноры	10433	3,79	3,39	13897	4,47	3,27	12165	4,13	3,33
III опытная, коровы-доноры	10835	3,75	3,29	14115	4,08	3,19	12475	3,92	3,24
IV опытная, телки-доноры	10502	3,72	3,36	13692	4,35	3,30	12097	4,14	3,33

Из данных таблицы 12 следует, что уровень генетического потенциала эмбрионов, полученных от коров-доноров и телок-доноров по удою от 12097 кг до 12475 кг молока, содержанию жира от 3,92 % до 4,14 %, белка – от 3,24 % до 3,33 %.

Максимальный удой ожидается от эмбрионов коров-доноров 3 опытной группы, разница по сравнению с группами 1, 2 и 4 составила соответственно 286 кг, 310 кг и 378 кг. По содержанию жира и белка в молоке наивысшие показатели в наследственности оказались у телок-доноров 2 и 4 групп – 4,13–4,14 % жира, белка – по 3,33 %, соответственно, в абсолютной величине.

Для подтверждения правильного выбора наших животных была проведена тщательная ректальная пальпация с проведением ультразвукового исследования. На рисунках 3 и 4 показаны результаты, полученные при отборе телок-доноров и коров-доноров.

Проанализировали желтые тела коров- и телок-доноров, чтобы опреде-

лить, находятся ли коровы-доноры и телки-доноры в цикле половой охоты. На рисунках 3 и 4 представлены снимки наличия желтого тела граафовых пузырьков и фолликулов на 16–18-й день цикла.

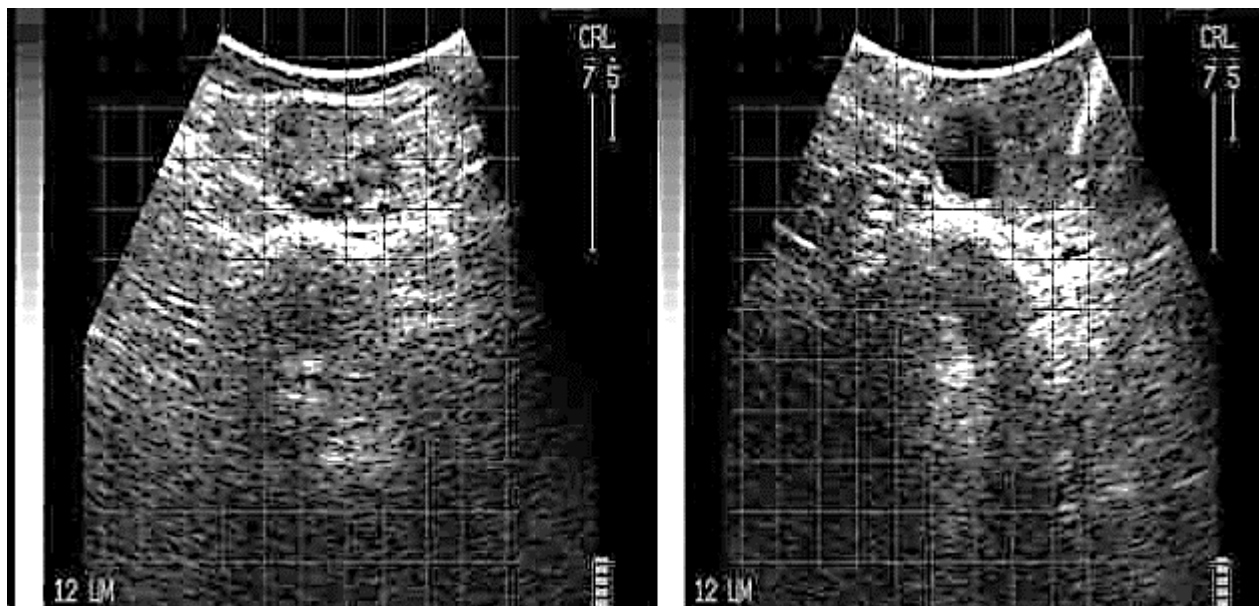


Рисунок 3 – Желтое тело, граафовы пузырьки

Рисунок 4 – Фолликул (примерно 16–18-й день цикла)

### 3.2 Характеристика коров- и телок-реципиентов айрширской породы

Для трансплантации эмбрионов использовали коров и телок айрширской породы в качестве опытных и контрольных групп (таблица 13).

Таблица 13 – Характеристика коров- и телок-реципиентов айрширской породы

Группа	Животные	Количество реципиентов, голов	Возраст используемых животных
I контрольная	Коровы	20	от 90 до 155 дней лактации
II контрольная	Телки	17	от 12,9 до 15,6 месяцев
III опытная	Коровы	17	от 60 до 223 дней лактации
IV опытная	Телки	18	от 12,9 до 15,6 месяцев

Всего было отобрано 72 головы, из них 37 коров и 35 телок. В первую контрольную группу включили коров айрширской породы различного возраста: 7 коров были в возрасте 2-х лет; 5 коров 3-х летнего возраста; 7 коров – четырех лет и 1 корова – шести лет. Все коровы-реципиенты, использованные в этом

эксперименте, находились в периоде лактации от 90 до 155 дней после отела. Во 2-ю контрольную и 4-ю опытную группы включили телок-реципиентов в возрасте от 12,9 до 15,6 месяцев. В третью опытную группу вошли 17 коров-реципиентов в период лактации (с 1 по 4 лактации) от 69 до 223 дней после отела. У телок 2-й и 4-й опытных групп были хорошо выражены стати, характерные для молочных животных: голова легкая, рога сухие, шея средней длины, слегка переходящая в плечи, глубокая, но умеренно широкая грудь, спина прямая, мускулатура тела развита удовлетворительно, прямые конечности, вымя крупное и технологичное.

Коровы 1-й и 3-й групп характеризовались как типичные молочные животные, красно-пестрой масти с высокотехнологичным выменем, хорошей адаптацией к промышленной технологии, крепким и прочным костяком и копытным рогом. Молочная продуктивность коров 1-й и 3-й групп составила от 5700 кг до 7100 кг, с содержанием жира в молоке от 4,3 % до 5,4 %, белка – от 3,6 % до 4,2 % (рисунок 5).



Рисунок 5 – Телки-реципиенты айрширской породы

## 3.3 Влияние быков-производителей на количество и качество эмбрионов

Для осеменения доноров использовали шесть разных быков-производителей (таблица 14).

Таблица 14 – Количество эмбрионов, полученных от доноров при использовании разных быков-производителей

Группа	Кличка быка-производителя	Количество доноров, гол.	Показатели биометрии	Количество полученных эмбрионов различных классов, шт.				
				1-го класса	2-го класса	3-го класса	4-го класса	Итого
Замороженное обычное семя								
I	Хосмер	23	Lim	1-33	0-2	0-2	0-3	0-33
			M±m	9,04±1,32	0,26±0,83	0,13±0,83	3,48±1,06	12,91±1,37
			σ	7,62	1,18	1,18	3,82	7,86
			Cv, %	84,2	453,8	900,7	109,8	60,99
II	Хи-дальго	23	Lim	0-35	0-2	0-2	0-28	0-35
			M±m	8,89±1,41	0,79±2,73	0,17±0,83	2,34±1,32	12,19±1,41
			σ	8,33	3,86	1,17	7,00	8,33
			Cv, %	93,7	488,6	688	299	68,3
III	Эдифи	7	Lim	0-17	0-0	0-0	1-25	0-25
			M±m	7,29±1,21	–	–	8,85±1,25	16,14±1,30
			σ	5,00			6,23	6,49
			Cv, %	68,58			71,07	39,6
IV	В среднем	53	Lim	0-35	0-12	0-2	0-28	0-35
			M±m	8,40±1,41	0,35±0,83	0,10±0,27	4,90±1,32	13,74±1,42
			σ	8,38	1,18	1,18	7,00	8,38
			Cv, %	99,16	337	1180	142,85	60,9
Свежее сексированное семя								
1	Течно	3	Lim	3-14	1-4	0-0	0-6	0-14
			M±m	7,67±1,03	3,33±1,0	0	2,67±0,9	12,67±1,10
			σ	3,40	21,76		62,35	4,12
			Cv, %	44,3	52,9		88,0	32,5
2	Скаттг	5	Lim	0-14	0-2	0-2	1-8	0-14
			M±m	4,8±1,10	0,6±0,83	0,4±0,83	3±1,04	8,8±1,10
			σ	4,12	1,18	1,18	2,75	4,12
			Cv, %	85,8	196,7	295	91,7	46,8
3	Ундадо	8	Lim	0-5	0-3	0-1	0-4	0-5
			M±m	2,33±0,87	1±0,49	0,44±0,58	1,78±1,18	5,55±0,87
			σ	1,96	1,76	0,58	2,35	1,96
			Cv, %	84,1	176	132,8	132	35,8,
4	В среднем	16	Lim	0-14	0-4	0-2	0-8	0-14
			M±m	4,92±1,10	1,31±1,1	0,28±1,06	2,48±1,1	9,01±1,13
			σ	4,12	2,35	3,54	3,14	4,12
			Cv, %	83,7	179,3	126,4	126,6	45,7

От троих быков-производителей: Хосмер, Хидальго и Эдифи получали обычную сперму, которой осеменили 53 коров-доноров. От быков Течно, Скатт и Ундадо получали сексированную сперму, которой осеменили 16 коров-доноров.

После вымывания эмбрионов считали количество и оценивали их качество. Оценка показала, что всего получили от традиционного семени быков в среднем 13,74 эмбрионов от каждого донора, 12,19 эмбрионов – от быка Хидальго до 16,14 эмбрионов – от быка Эдифи .

При использовании замороженного семени от быка Хосмер получено от 1 до 33 эмбрионов различного качества, в среднем эмбрионов – 12,19 штук.

Оценка качества эмбрионов от замороженного семени показала, что вымыли в среднем 9,04 эмбрионов 1-го класса от каждого донора и быка. От семени быка Хидальго было всего получено от 0 до 35 эмбрионов, в среднем – 12,19 эмбрионов. От быка Эдифи получено от 0 до 25 эмбрионов, в среднем – 16,14 эмбрионов на одного донора.

В среднем от трех быков и от 53 коров-доноров при использовании традиционного семени получено эмбрионов: первого класса от 0 до 35 в среднем – 8,40 эмбрионов; 2-го класса – от 0 до 12 штук (в среднем – 0,35 штук) и от 0 до 2 штук 3-го класса (в среднем 0,1 штук), а также от 0 до 28, в среднем 4,9 эмбрионов 4-го класса.

В среднем от каждой коровы-донора, осемененной традиционным семенем, получено по 13,74 эмбрионов, из них 8,40 штук 1-го класса, 0,35 – 2-го класса, 0,10 – 3-го класса и 4,9 штук – 4-го класса (таблица 14).

Всего от быков Течно, Скатт, Ундадо и 16 коров-доноров в среднем получено: 4,92 эмбрионов 1-го класса; 1,31 – 2-го класса; 0,28 – 3-го класса; 2,48 – 4-го класса. Итого от трех быков и 16 коров-доноров получили в среднем 9,01 эмбрионов. Полученные результаты показывают разницу в количестве эмбрионов, однако данные различия не являются достоверными.

От каждой коровы-донора, осемененной сексированным семенем, получено от 0 до 14 эмбрионов, в среднем 12,67 от быка Течно; от 0 до 14 эмбрионов



в среднем 8,8 штук от быка Скаттг; от быка Ундадо получено – 0–5 эмбрионов 5,56 в среднем. Результаты показывают, что в среднем наибольшее количество полученных эмбрионов принадлежат к 1-му классу от 2,33 до 7,67 эмбрионов (4,92 в среднем), ко 2-му классу от 0 до 4 (1,31 в среднем), к 3-му классу от 0 до 2, (в среднем 0,28 эмбрионов). Второй и третий классы эмбрионов ниже по качеству при использовании обычной спермы для осеменения доноров (таблица 14).

Получено эмбрионов 1-го класса от сексированного семени быка Течно и 3 коров от 3 до 14 (в среднем 7,67 шт.). Осеменили сексированным семенем быка Скатт 5 коров-доноров и получили от 0 до 14 эмбрионов 1 класса (в среднем 4,8 эмбрионов от каждой коровы). Восемь коров-доноров осеменили сексированным семенем быка Ундадо и получили от 0 до 5 эмбрионов первого класса, в среднем на корову 2,33 эмбриона.

Количество эмбрионов, полученных при использовании сексированной спермы, варьирует от 0 до 14 эмбрионов с интервалом от 2,33 до 7,67 эмбрионов первого класса и от 1,78 до 3,00 (2,48 в среднем) эмбрионов 4-го класса. Анализ данных, полученных в нашем исследовании, свидетельствует, что количество эмбрионов, полученных от доноров, осемененных обычной спермой больше, независимо от качества используемых быков.

При осеменении доноров сексированной спермой получено 10 эмбрионов 2-го класса от быка Течно (3,33 в среднем), от быка Скаттг – 3 эмбриона (0,6 эмбрионов в среднем) и 3 эмбриона (1 эмбрион в среднем) от быка Ундадо. Получены эмбрионы 3-го класса при осеменении доноров традиционным семенем от быка Носмера – 2 штуки (0,13 в среднем), от быка Нидальго – 2 эмбриона (0,17 в среднем) и не было эмбрионов 3-го класса от быка Эдиффи. При осеменении доноров сексированным семенем не было эмбрионов 3-го класса от быка Течно, 2 эмбриона (0,4 в среднем) от быка Скаттг и 6 эмбрионов (в среднем – 0,44) от быка Ундадо.

Определено общее количество эмбрионов, полученных от обычного семени трех быков: Хосмер, Хидальго и Эдифи, сколько заморожено и подсажено

коровам-реципиентам представлено в таблице 15.

Таблица 15 – Количество и качество эмбрионов, полученных от обычной спермы различных быков

Эмбрионы	Обычная сперма от быков			Р		
	Хосмер	Хидальго	Эдифи,	Хосмер и Хи- дальго	Хосм ер и Эди- фи	Хи- дальго и Эдифи
	23 коровы	23 коровы	7 коров			
Всего эмбрионов	297 (12,91±3,43)	281 (12±3,95)	113 (16,14±7,4)	0,43	0,34	0,30
Замораживаемые	214 (9,30±1,83)	223 (9,70±1,62)	51 (7,29±2,41)	0,43	0,21	0,20
Пересаживаемые	217 (9,43±1,84)	227(9,87±1,65)	51 (7,29±2,41)	0,42	0,24	0,18
Мелкие	80 (3,48±0,83)	54 (2,35±1,24)	62 (8,86±3,93)	0,22	0,09	0,06

Всего от 23 коров-доноров, оплодотворенных семенем быка Хосмер, получено 297 эмбрионов, из них 217 подсадили донорам. От быка Хидальго и 23 коров было получено всего 281 эмбрионов, из них 227 подсадили коровам-донорам. Наименьшее количество эмбрионов, по сравнению с другими быками, было получено от быка Эдифи и семи коров – 113 штук, из них подсажено 51 эмбрион.

Из общего количества эмбрионов были получены мелкие: 80 штук (26,9 %) от быка Хосмер; 54 штук (19,6 %) от быка Хидальго и 62 штуки (54,9 %) от быка Эдифи. Мелкие эмбрионы не подсаживали реципиентам, их замораживали и хранили в «спермобанке».

Результаты наших следующих исследований свидетельствуют, что для получения большого количества и лучшего качества эмбрионов целесообразно осеменять доноров обычным замороженным семенем. Осеменили 23 донора спермой быка Хосмер, 23 донора спермой быка Хидальго и 7 доноров спермой быка Эдифи.

Нами проведена оценка полученных эмбрионов от доноров, осемененных спермой быков Носмера, Идальго и Эдиффи. Всего вымыли эмбрионов первого класса 208 (9,04 в среднем на голову), 205 эмбрионов (8,89 в среднем на голову)

и 51 эмбрион (7,29 в среднем на голову). Всего вымывали у 53 доноров и получили 463,4 эмбрионов первого класса в среднем от 1 головы 8,13 штук.

При осеменении доноров сексированным семенем (программа стимуляции доноров одинакова) получены эмбрионы первого класса от быка Течно – 23 эмбриона (7,67 в среднем), от быка Скаттг – 24 эмбриона (4,8 в среднем) и от быка Ундадо – 19 эмбрионов (2,33 в среднем). Всего вымывали эмбрионов у 16 голов доноров и получили всего в среднем 65,7 эмбрионов, в среднем от одной головы – 4,11 штук. Эмбрионы второго класса, полученные путем осеменения коров-доноров обычной спермой, от быка Носмера 6 эмбрионов (0,26 в среднем), от быка Идальго – 18 эмбрионов (0,79 в среднем) и не было эмбрионов второго класса от быка Эдиффи, Итого от 53 голов доноров получено 24 эмбриона в среднем 0,456 штук на 1 голову. От сексированной спермы быков Течно, Скаттг и Ундадо и 17 коров получили всего 126 эмбрионов (таблица 16).

Таблица 16 – Количество и качество эмбрионов, полученных от использования сексированного семени

Показатель	Сексированная сперма быков			Р		
	Течно 3 донора	Скаттг 5 доноров	Ундадо 9 доноров	Течно и Скаттг	Течно и Ундадо	Скаттг и Ундадо
Всего	38 (12,67±6,23)	44 (8,8±7,05)	44 (4,89±1,48)	0,34	0,11	0,29
Замораживаемые	33 (11±7,0)	27 (5,4±2,8)	27 (3,33±0,26)	0,23	0,13	0,23
Пересаживаемые	33 (11±7,0)	29 (5,8±2,82)	30 (3,78±0,65)	0,23	0,22	0,22
Мелкие	5 (2,67±2,12)	15 (3±1,30)	14 (1,78±0,52)	0,45	0,31	0,19

От троих доноров, осемененных сексированным семенем быка Течно, получили всего 38 эмбрионов, а пересадили реципиентам 33 эмбриона, 5 оказались мелкими. От 5-ти доноров, осемененных сексированным семенем быка Скаттг, всего получили 44 эмбриона, из них было подсажено донорам 29 эмбрионов, а 15 были мелкими. От 9-ти доноров, осемененных сексированным семенем быка Ундадо, подсажено 30 эмбрионов и 14 было мелких. Мелкие эмбрионы от всех быков были заморожены.

Данные исследований позволяют заключить, что от разных быков-производителей получают разное количество и качество эмбрионов при использовании традиционного и сексированного семени.

### 3.4 Результаты получения эмбрионов от коров-доноров и телок-доноров

Вымывание эмбрионов проводили на 7-й день после осеменения у коров-доноров и телок-доноров. Наши исследования показали, что для эффективного процесса получения эмбрионов важное значение имеет характеристика яичников коров-доноров перед вымыванием эмбрионов. Для определения реакции фолликулов на протоколы суперовуляции в результате введения гонадотропина, ФСГ и ЛГ коровам-донорам и телкам-донорам, необходимо определить морфометрические параметры яичников и желтого тела путем пальпации и с помощью ультразвукового исследования репродуктивных органов коровы на десятый день полового цикла (рисунки 6, 7).

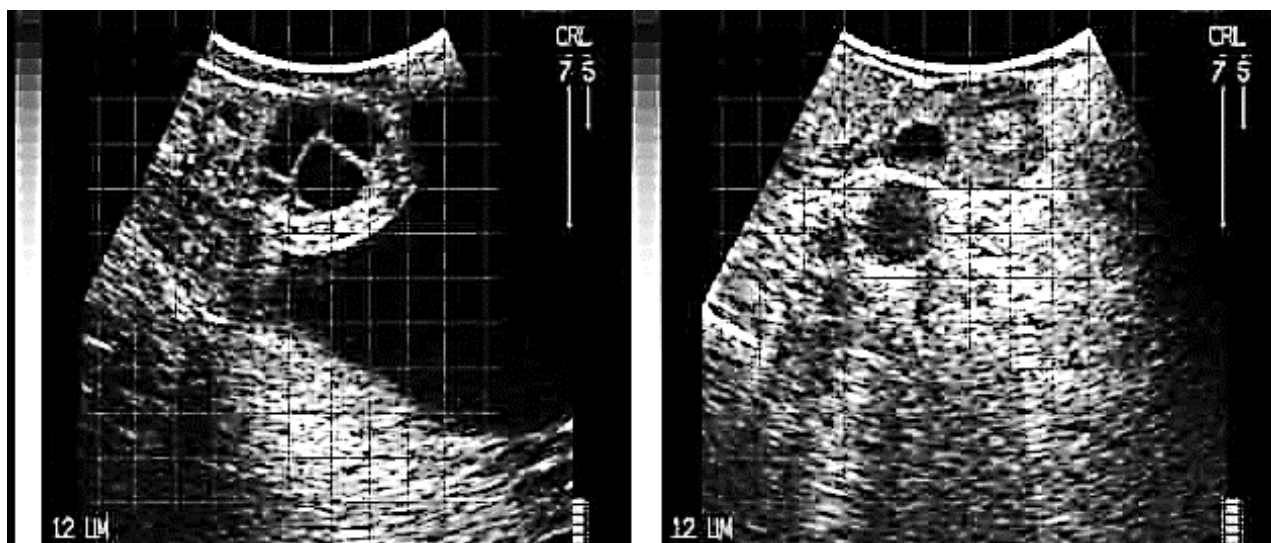


Рисунок 6 – Вероятно суперовуляция

Рисунок 7 – Гемаррагическое тело

Оценка количества желтых тел позволила определить ожидаемое количество эмбрионов, которое можно получить от каждой коровы или телки-донора. Для вымывания и оценки эмбрионов оператор вводил балонный катетер в матку, при строгом соблюдении стерильности (использовал длинные стерильные перчатки) и держал зонд на ладони в течение всего процесса вымывания

эмбрионов из половых органов при поддержании постоянной температуры 25 °С, которая необходима для дальнейшей обработки полученного биоматериала во время вымывания эмбрионов. Собранный материал, предварительно нагретый до 37 °С, вводили зондом и оставляли на месте в течение 3 минут перед сифонированием (рисунок 8).



Рисунок 8 – Вымывание эмбрионов с использованием устройства для нехирургического метода

В процессе вымывания эмбрионов проводили трансректальный массаж матки, что позволило жидкости хорошо диффундировать в 2 рога матки. Для сбора эмбрионов использовали жидкость PBS, обогащенную 2 %-ой фетальной телячьей сывороткой. Количество жидкости, используемой при каждом вымывании составляло 0,5 л, а операцию повторяли 3 раза. Каждую колбу, содержащую вымытую среду, декантировали в течение 10–15 мин.

Колбы с материалом, собранным от каждой коровы-донора, переносили в лабораторию, размещенную на ферме, для обработки. В лаборатории поддерживается постоянная температура 25 °С необходимая для дальнейшей обработки полученного биоматериала во время вымывания эмбрионов.

После вымывания, эмбрионы оценивали под микроскопом и сразу передавали для трансплантации реципиентам или для замораживания. При оценке эмбрионов учитывали его стадию развития и качество, расположение и внешний вид клеток, морфологические критерии, включающие следующие этапы эмбрионального развития: диаметр между 150 и 190 мкм, зону пеллюцида от 12 до 15 мкм. При этом учитывали, что диаметр остается постоянным от стадии зиготы до полной стадии бластоцисты. Возраст эмбрионов оценивали в соответствии с количеством клеток, до стадии 16 клеток, от эструса, считающегося нулевым днем.

Во время проведения морфологической оценки особое внимание уделяли внешней форме зиготы, состоянию зоны ее пеллюцида, числу бластомеров, равномерности дробления, выраженности эмбриобласта и трофобласта, четкости в очертании клеток, вакуализации цитоплазмы – просветлению ее периферии, а также целостности клеточной мембраны и выходу цитоплазм наружу. Оценка эмбрионов проводилась под микроскопом при 100–160-кратном увеличении извлечения эмбрионов животных способом замкнутого цикла.

Во время оценки вымытых эмбрионов учитывали следующие стадии развития бластоцитов:

- морула (код стадии 3): Масса не менее 16 клеток. Отдельные бластомеры трудно отличить друг от друга. Клеточная масса зародыша занимает большую часть перивителлинового пространства;
- компактная морула (код стадии 4): отдельные бластомеры срослись, образуя компактную массу. Эмбриональная масса занимает от 60 до 70 % перивителли – нового пространства;
- ранняя бластоциста (код стадии 5): эмбрион, у которого образовалась

полость, заполненная жидкостью, или бластоцеле, и в целом он выглядит как «перчатка с перстнем». Эмбрион занимает от 70 до 80 % перивителлинового пространства. На ранней стадии эмбрион может иметь сомнительное качество, потому что в это время трудно отличить внутреннюю клеточную массу от клеток трофобласта;

– бластоциста (код стадии 6): определяется выраженная дифференциация внешнего слоя трофобласта и более темной, а также более компактной внутренней клеточной массы. Бластоцеле сильно выражено, эмбрион определяется на большей части перивителлинового пространства. На этой стадии развития возможна визуальная дифференциация между трофобластом и внутренней клеточной массой;

– расширенная бластоциста (код стадии 7): общий диаметр эмбриона резко увеличивается с одновременным истончением блестящей оболочки примерно до одной трети ее первоначальной толщины;

– вылупившаяся бластоциста (код стадии 8): эмбрионы, извлеченные на этой стадии развития, могут находиться в процессе вылупления или могут полностью потерять блестящую оболочку. Вылупившиеся бластоцисты могут быть сферическими, с хорошо выраженным бластоцеле или могут быть «спавшимися». Идентификация вылупившихся бластоцист может быть затруднена, если они не расширяются, а внешний вид «перстня с печаткой» становится очевидным.

Наблюдения показали, что полученный материал в определенный один день не обязательно всегда имеет эмбрионы одинаковой стадии развития, а также наблюдаются некоторые изменения. Например, через 6 дней после жарких климатических условий количество зародышей или бластоцитов уменьшается. При оценке качества эмбрионов учитывали следующие показатели: размер, цвет, количество и компактность клеток, размер трансплантатного пространства, количество дегенеративных клеток.

Эмбрионы оценивались нами под микроскопом при увеличении в 40 раз. Такие показатели, как состояние и жизнеспособность эмбрионов, оцениваемые на 7–8 сутки их развития на стадии бластоцита, представлены на рисунке 9.

Нами была проведена оценка качества эмбрионов, которых получили от коров и телок.



Рисунок 9 – Внешний вид вымытых эмбрионов

По результатам проведенных исследований было выделено 4 класса качества оценки эмбрионов. Коды качества эмбрионов также являются числовыми и основаны на морфологической целостности эмбрионов. Коды качества эмбрионов варьируются от «1» до «4» следующим образом:

– код 1: отлично или хорошо. Эмбрионы имеют симметричную и сферическую массу с отдельными бластомерами, однородными по размеру, цвету и плотности. Зона пеллюцида должна быть гладкой, а также не иметь вогнутых или плоских поверхностей, которые могли бы стать причиной прилипания эмбриона к чашке Петри или соломинке. Эмбрионы с кодом 1 хорошо переносят процедуру замораживания / оттаивания, и некоторые практикующие врачи называют их «замораживаемыми эмбрионами». Эмбрионы класса 1 также рекомендуются для международной торговли;

– код 2: удовлетворительно. Эти эмбрионы обладают умеренными нарушениями общей формы эмбриональной массы или размера, цвета и плотности отдельных клеток. Эмбриональной массы 50 % и более должно быть интактным. Выживаемость этих эмбрионов после процедуры замораживания / оттаивания ниже, чем у эмбрионов 1-й степени, но частота наступления беременности является адекватной, если эмбрионы переносятся в свежем виде в подходящих реципиентах. Поэтому эти эмбрионы часто называют «переносимыми», а



не «замораживаемыми»;

– код 3: плохо. Эти эмбрионы имеют серьезные отклонения в форме эмбриональной массы или в размере, цвете и плотности отдельных клеток. Не менее 25 % массы эмбриона должно быть интактным. Эти эмбрионы не выживают после процедуры замораживания / оттаивания, и частота наступления беременности ниже, чем у эмбрионов удовлетворительного качества, если их перенести свежими в подходящих реципиентов;

– код 4: мертвый или вырождающийся. Это могут быть эмбрионы, ооциты или одноклеточные эмбрионы. Они нежизнеспособны и должны быть удалены.

Нами проведены исследования по результатам оценки эмбрионов от телок доноров в возрасте 12–13 месяцев и от коров-доноров различного возраста при использовании обычного и сексированного семени. После промывания полученные эмбрионы разделены по классам (1-й, 2-й, 3-й классы и мелкие). Эмбрионы, принадлежащие к группам 1 и 2, классифицируются как пересаживаемые эмбрионы. Принято пересаживать эмбрионы реципиентам с 1-го до 3-го оценочных классов. В среднем на 1 голову было получено от 2,5 до 8,4 эмбрионов от каждой коровы и 24 из них (27,66 %) первого класса.

Однако животные, которые не получали гормональную стимуляцию (контрольные группы), имели наименьшее количество эмбрионов в среднем – 2,5 и 5,17 эмбрионов на одного донора. Все 10 телок опытной группы при гормональной стимуляции дали в общем 84 эмбриона, что означает в среднем 8,4 эмбриона на каждое животное. От 10 коров-доноров, подвергавшихся стимуляции, было получено 60 эмбрионов, в среднем по 6 эмбрионов на 1 голову.

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что гормональная стимуляция телок и коров по завершении половой охоты способствует образованию одновременно большого количества яйцеклеток, а также высокого уровня их оплодотворяемости. На рисунке 10 нами было представлено среднее количество полученных эмбрионов согласно проведенным исследованиям.

Каждая корова-донор, не подвергавшаяся гормональной стимуляции, дала

менее 5 эмбрионов, из которых: от животного № 1 не было получено ни одного эмбриона, от животных под № 2 и №3 было получено по 3 эмбриона, соответственно, и от животного под № 4 получено 4 эмбриона.

От коров опытных групп, прошедших гормональную стимуляцию, получили от: 2 коров – по 3 эмбриона; 1 коровы – 5; 1 коровы – 7; 1 коровы – 8; 1 коровы – 11; от 1 коровы – 12; 1 коровы – 16; 1 коровы – 19 эмбрионов.

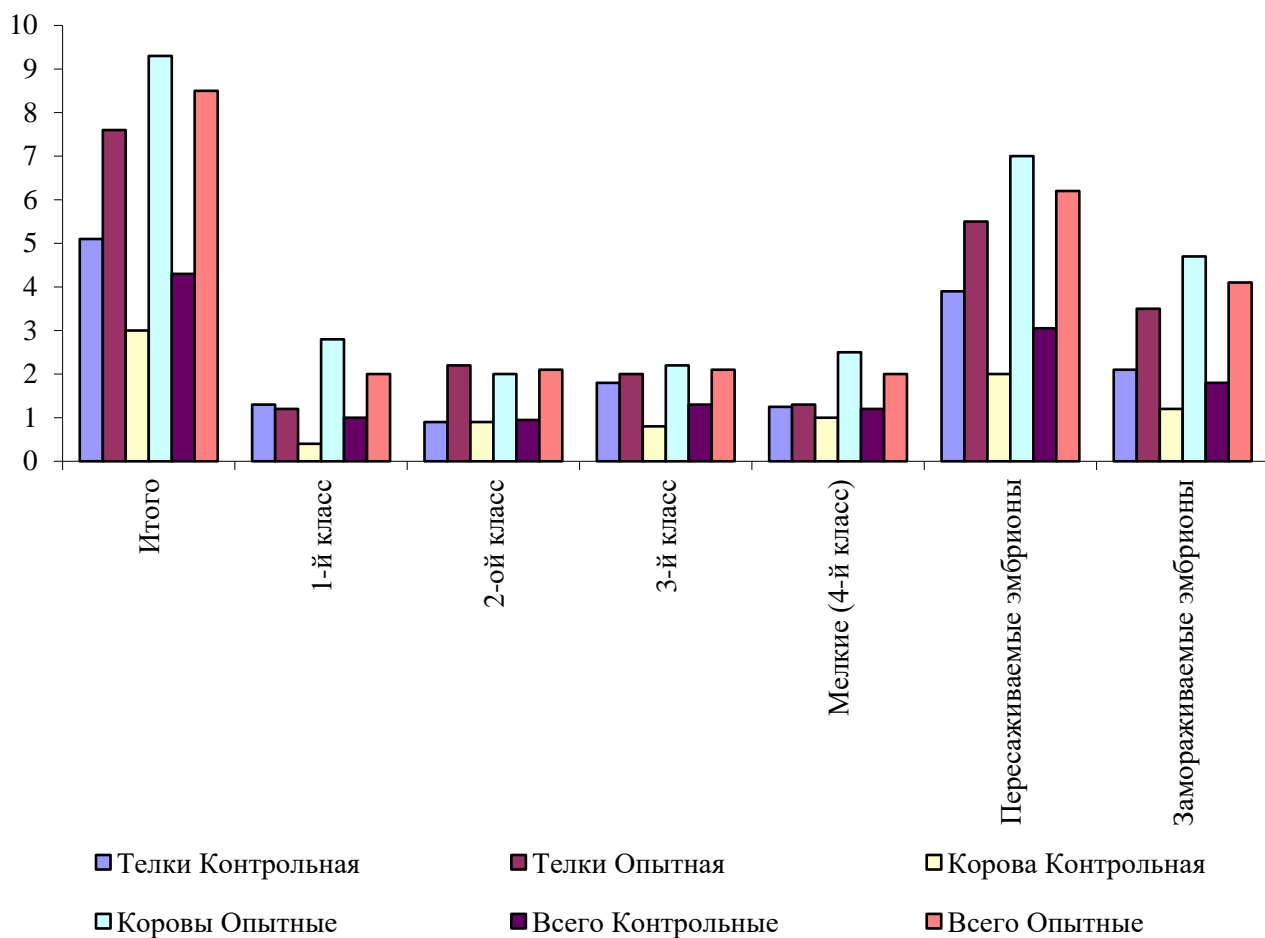


Рисунок 10 – Среднее количество полученных эмбрионов от телок- и коров-доноров контрольных и опытных групп

В таблице 17 представлены показатели полученных эмбрионов от телок - и коров-доноров, прошедших и не прошедших стимуляцию.

Из 6-ти телок-доноров контрольной группы, две не пришли в половую охоту. От общего числа телок-доноров – 16 голов – получено всего 115 эмбрионов, из них 31 – от 6-ти телок, которые не подвергались стимуляции, а от те-

лок-доноров опытной группы – 84 эмбриона. После вымывания эмбрионов от каждого из 6-ти доноров-телок контрольной и 10-ти голов опытной групп было получено в среднем от 2,5 до 6 эмбрионов. Анализируя данные, оказалось, что от 14 коров-доноров получено всего 70 эмбрионов, в том числе 17 штук (24,3 %) высшего класса качества.

От 4-х коров-доноров, не прошедших стимуляцию вызова суперовуляции, получено в среднем по 2,5 эмбриона на 1 голову, что является наименьшим количеством. От коров-доноров, которые прошли стимуляцию по окончании половой охоты получено всего 60 эмбрионов, что означает в среднем 6 эмбрионов на каждую из коров-доноров.

Таблица 17 – Количество полученных эмбрионов от телок- и коров-доноров, прошедших и не прошедших стимуляцию

Получено, пересажено и заморожено эмбрионов	Телки-доноры		Коровы-доноры		Всего доноров	
	контрольная группа, n=6	опытная группа, n=10	контрольная группа, n=4	опытная группа, n=10	контрольная группа, n=10	опытная группа, n=20
Всего эмбрионов:	31	84	10	60	41	144
В том числе:						
1-й класс	8	24	2	15	10	39
2-й класс	5	18	3	18	8	36
3-й класс	10	20	1	16	11	36
Мелкие (4-й класс)	8	22	4	11	12	33
В среднем эмбрионов на 1 донора, шт.	5,17	8,4	2,5	6,0	4,1	7,2
Пересаживаемые эмбрионы (1–3 классы), шт.	23	62	6	49	29	111
Пересаживаемые эмбрионы, %	74,2	73,8	60,0	81,7	70,73	77,08
Замораживаемые эмбрионы (1-го и 2-го классов), шт.	13	42	5	33	18	75

Полученные результаты позволяют сделать вывод, что гормональная сти-

муляция телок по завершении половой охоты способствует образованию одновременно большого количества и высокого качества эмбрионов, а также их плодотворного осеменения. Больше получено эмбрионов в среднем на 1 голову от телок-доноров, прошедших стимуляцию, в сравнении с непрошедшими стимуляцию особями на 3,23 эмбриона на каждое животное, соответственно.

По поводу качества полученных эмбрионов были выявлены некоторые интересные особенности. Из общего количества 15-ти эмбрионов (21,4 %), полученных от стимулируемых коров-доноров, являлись эмбрионами 1-го класса. У телок 2-й опытной группы, которые подвергались гормональной стимуляции, от 50 % голов получили от 0 до 4 эмбрионов, от 20 % – от 5 до 9 эмбрионов и от 30 % – 10 и более эмбрионов от каждой телки. От двух телок опытной группы не получили эмбрионов; от двух получили по 3 эмбриона; от одной – 4; от двух – по 7; от одной – 10; от одной – 12 и от одной – 14 эмбрионов. Всего от телок и коров опытных групп количество эмбрионов было 144 шт. в опытных и 41 эмбрион от животных контрольных групп. Анализ качества эмбрионов показал, что доля замораживаемых эмбрионов была больше в опытной группе телок-доноров и коров-доноров (52 %) по сравнению с животными контрольных групп (43,9 %).

Аналогичные показатели были у животных 2-го класса, 3-го класса и мелких эмбрионов; опытных – 2,12, контрольных – 0,80; 2-го класса опытных – 2,12, контрольных – 1,30, соответственно, мелких – 1,94 и 1,20 – опытной и контрольной групп. Кроме того, количество замораживаемых эмбрионов было больше по сравнению с контрольными коровами – 4,12 и 1,80, соответственно (разница – 2,32 шт.). Количество пересаживаемых эмбрионов также в опытной группе – 6,24, что на 3,14 шт. больше, чем в контрольной группе (3,10 шт.). Однако процент пересаживаемых эмбрионов был выше в контрольной группе – 75,00 %, в опытной группе – 74,56 %, разница составила 0,56 %.

Были рассчитаны биометрические показатели по количеству и качеству полученных эмбрионов (таблица 18). Больше количество эмбрионов было получено от опытных коров по сравнению с контрольными. Среднее количество общих эмбрионов у коров было значительно выше в опытной группе по сравнению с контрольной группой – 9,33 и 3,00, разница составила, соответственно,

6,33 эмбрионов.

Аналогично пересаживаемых эмбрионов было значительно больше в опытной группе – 6,89 штук в сравнении с контрольной группой – 2,00 эмбриона, разница – 4,89 штук. Это характерно для замораживаемых эмбрионов, которых было значительно больше у опытных коров – 4,67, а в контрольной группе – 1,25, разница на 3,42 эмбрионов. Качество эмбрионов также значительно различалось между группами.

Таблица 18 – Биометрические показатели количества и качества эмбрионов,  $M \pm m$

Показатель	Телки		Коровы		Всего	
	контрольная, $n=6$	опытная, $n=8$	контрольная, $n=4$	опытная, $n=9$	контрольная, $n=10$	опытная, $n=17$
Всего Эмбрионов	5,17±2,40	7,5±1,58	3,00±2,36	9,33±1,99	4,30±1,67	8,47±1,23
1-й класс	1,33±0,46	1,25±0,52	0,50±0,33	2,67±0,84	1,00±0,31	2,00±0,50
2-й класс	0,83±0,34	2,25±0,69	0,75±0,55	2,00±0,53	0,80±0,26	2,12±0,40
3-й класс	1,67±0,61	2,00,0±0,35	0,75±0,55	2,22±0,57	1,30±0,42	2,12±0,33
Мелкие (4-й класс), шт.	1,33±0,73	1,38±0,45	1,00±0,67	2,44±0,66	1,20±0,43	1,94±0,41
Пересаживаемые эмбрионы (1–3классы), шт.	3,83±1,04	5,5±1,21	2,00±0,47	6,89±1,47	3,10±0,67	6,24±0,92
Пересаживаемые эмбрионы, %	74,19±8,8	76,86±8,18	66,67±20,03	72,52±7,07	75,00±8,28	74,56±5,06
Замораживаемые эмбрионы, (1–2 классы), шт.	2,17±0,66	3,5±1,09	1,25±0,73	4,67±1,07	1,80±0,46	4,12±0,73

Количество вымытых эмбрионов 1 класса было больше у коров опытной, чем в контрольной группе, 2,67 и 0,50 соответственно. Наряду с этим эмбрионов второго класса было больше на 1,25 штук, в опытной группе – 2,00 эмбриона, а в контрольной – 0,75 эмбриона. Эмбрионов 3-го класса 0,75 штук в контрольной группе, 2,22– в опытной, разница – 1,47 штук в пользу опытной группы.

Кроме того, мелких эмбрионов было больше также в опытной группе коров –2,44, по сравнению с контрольной –1,00, разница составила 1,44 штук в пользу коров опытной группы. Полученные данные свидетельствуют, что при использовании схемы № 1 получают лучшие эмбрионы от доноров, осемененных замороженным обычным семенем – 1-го класса получено эмбрионов от 7,5 до 9,33 шт.

При использовании сексированного семени получено эмбрионов меньше. Проведены исследования по эффективности использования двух методов суперовуляции – использование «Плюсет» и «Фоллигон» для телок- и коров-доноров. Результаты вымывания эмбрионов после суперовуляции при использовании гормональных препаратов «Фоллигон» или «Плюсет» проанализированы у всех доноров, а также отдельно у коров и телок. Результаты полученных эмбрионов при использовании препаратов «Фоллигон» и «Плюсет» представлены на рисунке 11.

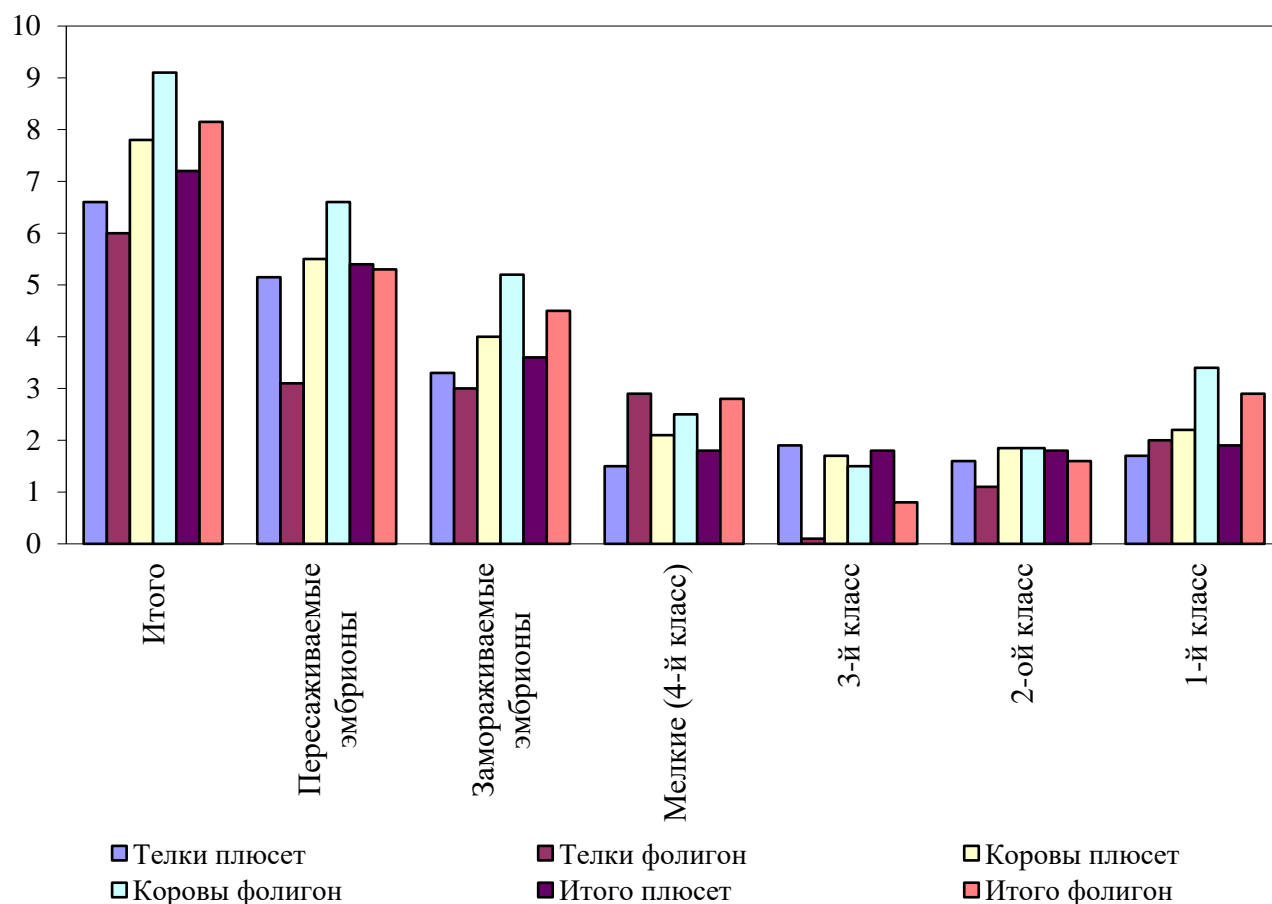


Рисунок 11 – Средние показатели полученных эмбрионов при использовании гормональных препаратов «Фоллигон» и «Плюсет»

Не было разницы у полученных эмбрионов от телок и коров, как представлено в таблице 19. При использовании «Фоллигона» получено на 0,96 эмбрионов больше, чем при «Плюсет» (8,11 против 7,15 эмбрионов), но разница 0,96 эмбрионов не имеет существенного значения.

Среднее количество пересаживаемых эмбрионов не значительно различалось между группами – 5,34 % и 5,42 % при использовании препаратов «Фоллигон» и «Плюсет», соответственно. Аналогично, как и число замораживаемых эмбрионов, 4,47 и 3,62 штук при использовании препаратов «Фоллигон» и «Плюсет», соответственно. Разница составила 0,85 эмбрионов. Получено количество мелких эмбрионов – 2,76 и 1,73, что больше на 1,03 эмбриона при использовании препаратов «Фоллигон» и «Плюсет».

Таблица 19 – Результаты вымывания эмбрионов после суперовуляций с помощью препаратов «Фоллигон» и «Плюсет»

Показатель	Телки		Коровы		Итого	
	Схема 1 «Плюсет», n–15	Схема 2 «Фоллигон», n–15	Схема 1 «Плюсет», n–11	Схема 2 «Фоллигон», n–24	Схема 1 «Плюсет», n–26	Схема 2 «Фоллигон», n–39
Всего эмбрионов, шт.	6,60±1,02 P=0,28	6,00±0,90 P=0,33	7,82±1,83 P=0,27	9,08±0,98 P=0,28	7,15±0,93 P=0,31	8,11±0,7 P=0,20
Пересаживаемые эмбрионы, шт. %	5,13±0,79 77,72	3,07±0,75 51,17	5,53±1,39 70,72	6,53±0,89 71,92	5,42±0,70 75,80	5,34±0,87 65,84
Замораживаемые эмбрионы, шт.	3,27±0,67	3,00±0,76	4,00±0,98	5,21±0,81	3,62±0,54	4,47±0,59
Мелкие эмбрионы, шт. %	1,47±0,35 22,27	2,93±0,97 48,83	2,09±0,57 26,72	2,54±0,48 27,97	1,73±0,31 24,20	2,76±0,46 34,03
3-й класс	1,87±0,28	0,07±0,07	1,73±0,55	1,33±0,31	1,81±0,27	0,87±0,21
2-й класс	1,60±0,41	1,07±0,41	1,82±0,46	1,83±0,32	1,73±0,30	1,58±0,25
1-й класс	1,67±0,39	1,93±0,72	2,18±0,64	3,38±0,65	1,88±0,34	2,89±0,51

Качество эмбрионов незначительно различалось между группами. Распределение эмбрионов по качеству 1-го, 2-го и 3-го классов были не все одинаковыми при использовании препаратов «Фоллигон» и «Плюсет». Средние показатели качества эмбрионов 1-го класса составили 1,88 эмбрионов, полученных

при использовании «Плюсет», 2,89 эмбрионов 1-го класса, при использовании «Фоллигона» разница составила 1,01 эмбрионов (34,9 %).

Для эмбрионов второго класса средние значения составляли 1,73 и 1,58 эмбрионов при использовании препаратов «Плюсет» и «Фоллигон», разница – 8,7 %. Эмбрионов, относящихся к 3-му классу, было 1,81, полученных при использовании «Плюсета», 0,87 эмбрионов – при использовании «Фоллигона», разница составила 0,94 эмбрионов (46,5 %). Успех суперовуляции оценивали путем определения качества полученных эмбрионов. Это было оценено по соотношению пересаживаемых эмбрионов. У телок с использованием «Плюсета» получено 77,72 % пересаживаемых эмбрионов, а при использовании «Фоллигона» – 51,17 %. Разница составила 26,35 % в пользу использования «Плюсета». Отмечены высокие показатели приживаемости при пересаживании эмбрионов у коров, стимулируемых «Плюсетом» – 70,72 % и «Фоллигоном» – 71,92 %. Были исследованы доноры, которые не реагировали на суперовуляцию и у которых не было эмбрионов (таблица 20).

Таблица 20 – Количество и качество эмбрионов, полученных от сексированного и обычного семени

Показатель		Эмбрионы от сексированного семени, <i>n</i> =25	Эмбрионы от обычного семени, <i>n</i> =27
Всего эмбрионов:	шт. %	8,84±0,95 100	13,70±2,13 100
Пересаживаемые мбрионы :	шт. %	6,40±0,86 72,39±9,73	10,67±1,79 77,88±13,06
Замораживаемые мбрионы:	шт. %	5,12±0,78 57,91±8,82	10,48±1,79 76,49±13,06
В т.ч. эмбрионы мелкие:	:шт. %	2,44±0,46 27,60±5,20	3,04±1,21 22,19±8,83
1-й класс:	шт. %	3,28±0,63 37,10±7,13	9,56±1,77 69,78±12,92
2-й класс:	шт. %	1,84±0,30 20,81±3,39	0,93±0,48 6,79±3,50
3-й класс:	шт. %	1,28±0,30 14,47±3,39	0,19±0,09 1,38±0,65

Доля телок без результата суперовуляции составила 4,4 % при использо-



вании «Фоллигона» и 5,3 % при использовании «Плюсета», статистически незначимая разница ( $P=0,3$ ). Незначительная была разница ( $P=0,2$ ) между коровами при использовании «Фоллигона» (3,84 %) и при использовании «Плюсета» (0,83–4,67 %). Проведены исследования по оценке эффективности использования сексированной и обычной спермы для получения эмбрионов. Инновации в биотехнологии получения эмбрионов могут увеличить производство молока на фермах, но это не было доказано в хозяйствах. Необходимо определить влияние использования сексированной спермы на повышение экономической эффективности биотехнологии воспроизводства. Нами проведено сравнение эффективности производства эмбрионов после суперовуляции с последующим искусственным оплодотворением сексированной и естественной спермой. А также были изучены результаты получения эмбрионов после осеменения доноров сексированной и обычной спермой. При использовании сексированной спермы уменьшилось количество полученных эмбрионов на 4,27 штук. Среднее количество пересаживаемых эмбрионов составило 6,40 штук от доноров, осемененных сексированной спермой и 10,67 штук от доноров, осемененных обычной спермой. Отмечено, что количество вымытых эмбрионов зависит от используемой спермы (рисунок 12).

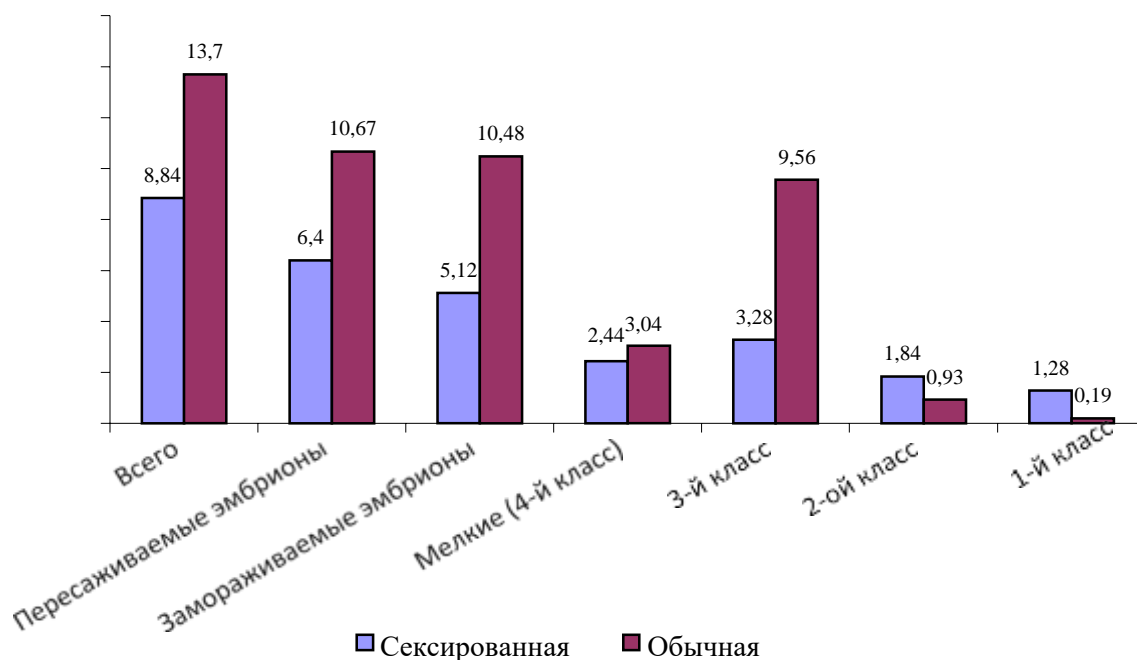


Рисунок 12 – Количество полученных эмбрионов при использовании сексированной и обычной спермы

В среднем количество эмбрионов 1-го класса было 9,56 при использовании обычной спермы, а количество полученных эмбрионов от сексированного семени – 3,28 эмбрионов. Разница показателей между использованием обычной и сексированной спермы составила 6,28 эмбрионов в пользу натурального семени. Кроме того, эмбрионов 2-го класса от сексированного семени на 0,91 штуку было больше. Стоит отметить, что количество эмбрионов третьего класса также повысилось при использовании сексированной спермы на 1,09 эмбрионов в среднем.

Результаты показывают, что использование сексированной спермы уменьшает количество эмбрионов высокого качества. Доля пересаживаемых эмбрионов, полученных от сексированного семени, уменьшилась по сравнению с обычной спермой на 5,49 %. Аналогичная ситуация наблюдалась при использовании замороженных эмбрионов: 76,49 % получены при использовании обычной спермы и 57,91 % эмбрионов, полученных при использовании сексированной спермы, разница составила 18,58 % в пользу традиционного семени. Использование обычной спермы позволило получить большее количество эмбрионов 1-го класса – 69,78 %, а при использовании сексированной спермы – 37,10 % эмбрионов. Однако уменьшился процент эмбрионов 2-го класса – 6,79 % и 20,81 % при использовании обычной и сексированной спермы соответственно.

### 3.5 Приживаемость эмбрионов у коров-реципиентов и телок-реципиентов

Для переноса эмбрионов коровам- и телкам-реципиентам следует определить их физиологическое состояние здоровья и учитывать критерии в программе переноса эмбрионов. С целью определения оптимизации методики трансплантации проводили перенос эмбрионов коровам и телкам без гормональной стимуляции (контрольные группы 1 и 2), а также методом, характеризующимся применением гормонального воздействия на животных с целью подготовки их для переноса эмбрионов (в 3-й и 4-й опытных группах).

Затем за проведением подсадки эмбрионов за реципиентами различных групп круглосуточно наблюдали на приживаемость и развитие эмбрионов.

Через 31 день после трансплантации эмбрионов первый раз определяли беременность с помощью ультразвука, а затем методом трансректального исследования при использовании метода пальпации через 60 дней после трансплантации эмбрионов.

Трансректальное исследование матки при диагностике позволило определить следующие показатели: наличие или отсутствие беременности и ее стадию, жизнеспособность плода, нормальную топографию матки, для диагностирования различных патологий беременности. Исследования основывались на оценке одного или нескольких характерных признаков матки: флуктуации беременности, а также пальпации эмбриональных мембран, эмбриона и плода, семядоли и маточной артерии.

Диагностирование беременности при помощи ультразвука дало возможность нам визуализировать переднюю и заднюю части эмбриона на 31-й день процесса плодношения. Во время второго исследования (на 60-й день беременности) наблюдали за развитием позвоночника орбитальной полости плода, формированием костей черепа. Согласно статистике, у 46,1 % коров и телок-реципиентов оценивали раннее определение беременности. По данным проведенных исследований определили показатели приживаемости эмбрионов у реципиентов, а также дали оценку их у 46,1 % животных, что приведено в таблице 21.

Согласно приведенным в таблице данным, стоит отметить, что всего за период опыта реципиентам было подсажено 72 эмбриона: 37 – коровам-реципиентам и 35 телкам-реципиентам айрширской породы. Приживаемость эмбрионов у самок, которые не прошли суперовуляцию (1-й и 2-й группы) – 20,0–22,2 %.

У коров и телок (3-й и 4-й групп), которые были подвергнуты гормональной стимуляции перед подсадкой эмбрионов, приживаемость последних была выше на 15,3 % и 30,7 %, соответственно.

Таблица 21 – Результаты приживаемости эмбрионов у коров- и телок-реципиентов айрширской породы

Группа	Последовательность оценки приживаемости эмбрионов		
	подсажено эмбрионов коровам и телкам, шт.	количество стельных коров и телок, гол	приживаемость эмбрионов, %
1 контрольная, коровы-реципиенты	20	4	20,0
2 контрольная, телки-реципиенты	18	4	22,2
3 опытная, коровы-реципиенты	17	6	35,3
4 опытная, телки-реципиенты	17	9	52,9
Итого по всем группам животных	72	23	31,9

Полученные результаты позволяют утверждать следующее:

– у коров-реципиентов приживаемость эмбрионов ниже, чем у телок-реципиентов на 2,2% (1-я и 2-я группы) и 17,6% (3-я и 4-я группы), соответственно. Данные исследований позволяют заключить, что трансплантирование эмбрионов телкам-реципиентам с предварительным проведением у них гормональной стимуляции является наиболее целесообразным решением;

– более высокая приживаемость эмбрионов определяется у телок контрольной группы в возрасте от 14 до 15,8 месяцев (в среднем – 14,95 мес), а также у телок опытной группы – в возрасте 13,3–16,5 месяцев (в среднем – 15,53 мес);

– проведение подсадки эмбрионов следует осуществлять только физически развитым телкам. Результаты анализа показали, что стельность при подсадке эмбрионов наступила у телок-реципиентов в контрольной группе с живой массой от 416 до 469 кг (в среднем – 448,5 кг); у телок-реципиентов опытной группы – от 437 до 470 кг (в среднем – 452,3 кг).

### 3.6 Кормление коров- и телок-доноров и реципиентов

Общеизвестно, что на жизнедеятельность животных в различном возрасте и стадиях физиологического развития требуют кормление в соответствии с их потребностями. В хозяйстве, где проведены исследования, используют рационы, обеспечивающие потребность коров в разные стадии межотельного периода. Питательность кормосмесей, используемых для коров в сухостойный период и в первую фазу лактации приведена в таблице 22.

Таблица 22 – Примерный рацион для коров в первую фазу сухостоя

Вид корма	Масса, кг	НВ, %	СВ, кг	СВ, %
Солома пшеничная	1,0	3,92	0,9	8,14
Комбикорм ТИ-18	1,0	3,92	0,89	8,05
Сенаж люцерновый	14,8	58,04	6,66	60,21
Силос кукурузный	8,7	34,12	2,61	23,60
Итого	25,5	100	11,06	100
Содержится в рационе	На 1 гол / сутки	Норма	Разница, ± факт к норме	
СВ, кг	11,06	11,3	-0,24	
ОЭ, МДж	103,38	101,7	+1,68	
СБ, г	1497,15	913,5	+583,65	
НРБ, г	398,34	390,0	+8,34	
НДК, г	5301,5	3300,0	+2001,5	
КДК, г	3222,3	2100,0	+1122,3	
Са, г	124,38	200,0	-75,62	
Р, г	25,17	150,0	-124,83	
Na, г	5,05	8,0	-2,95	
Cl, г	52,8	100,0	-47,2	
Mg, г	25,24	10,0	+15,24	

За 10–20 дней до отела и 7–20 дней после отела в рацион коров добавляли 1 кг плющеного зерна, заменяя им 1 кг комбикорма КК-60-3. Чтобы обеспечить обменной энергией высокопродуктивных особей крупного рогатого скота, проведение заготовки кормовых культур на зиму производят в ранние фазы вегетации.

Стоит отметить, что контроль обмена веществ в организме особей пого-

ловья проводится при помощи экспертизы по биохимическим показателям крови. При совершенствовании структуры годовых рационов крупного рогатого скота предусмотрено увеличение доли качественного сенажа, высокобелковых концентрированных кормов, зеленых кормов.

Примерные рационы для осуществления кормления коров в различные физиологические стадии приведены в таблицах 23, 24 и 25.

Балансирование рациона для кормления новотельных коров было произведено путем включения в кормосмесь дополнительных минеральных подкормок и специального премикса (таблица 23).

Таблица 23 – Рацион коров для первой фазы лактации (30 кг молока в сутки)

Вид корма	Масса, кг	НВ, %	СВ, кг	СВ, %
Солома ячменная	0,6	1,63	0,5	90
Сенаж люцерновый	6,7	18,3	3,01	45
Сено люцерновое	0,6	1,63	0,51	85
Силос кукурузный	17,4	47,4	5,22	30
Комбикорм	10,95	29,82	9,63	88
Поваренная соль	0,09	0,24	0,04	45
Мел	0,18	0,49	0,08	45
Премикс для дойных коров	0,18	0,49	0,08	90
Итого	36,70	100	19,07	100
<b>Содержится в рационе</b>				
	На 1 гол/сутки	Норма	Разница, ± факт к норме	
СВ, кг	19,07	19,0	+0,07	
ОЭ, МДж	197,12	200,0	-2,88	
СБ, г	2366	2846	-480	
НРБ, г	1030	1009	+21	
НДК, г	2610	2414	+196	
КДК, г	4238	4699	-461	
Са, г	86,91	84,0	+2,91	
Р, г	50,38	59,7	-9,32	
Na, г	30,88	37,44	-6,56	
Cl, г	38,98	44,5	-5,52	
Mg, г	40,66	38,6	+2,06	

Следует отметить, что во вторую фазу лактации коровам в рационе повышают количество сенажа, люцернового сена, отрубей, кукурузной дерти, жома, патоки, включали соевый и подсолнечниковый жмых, защищенный жир,

минеральные корма – соль, мел, пищевую соду (таблица 24).

Таблица 24 – Суточный рацион для коров во вторую фазу лактации (31–100 дней)

Вид корма	НВ, кг	НВ, %	СВ, кг	СВ, %
Силос кукурузный	14,00	45,5	4,90	29,3
Сенаж люцерновый	6,00	19,5	2,39	14,3
Сено люцерновое	1,36	4,4	1,13	6,8
Отруби пшеничные	0,90	3,0	0,79	4,6
Кукуруза сухая (дёрть)	3,53	11,5	3,11	18,6
Жом сухой	1,00	3,2	0,86	5,5
Патока	2,41	7,8	2,17	13,0
Соевый жмых	0,50	1,6	0,44	2,6
Жмых подсолнечный	0,52	1,7	0,47	2,8
Жир защищенный	0,18	0,6	0,16	1,0
Соль	0,09	0,3	0,08	0,45
Мел	0,18	0,6	0,16	1,0
Сода	0,09	0,3	0,08	0,45
Итого	30,8	100	16,7	100
Содержится в рационе:	На гол/сут	Норма	в 1 кг СВ	Норма
СВ, кг	16,7	16,7	–	–
ОЭ, МДж	177	177	10,6	10,6
СБ, г	2338	2422	140	145
НРБ, г	718	835	43	50
НДК, г	5311	5344	318	320
КДК, г	3223	3474	193	208
НКУ, г	6981	6847	418	410
Са, г	145	104	8,7	6,2
Р, г	54,3	53,4	3,25	3,2
NaCl, г	83,5	83,5	5	5
Mg, г	35,1	23,4	2,1	1,4

В третью фазу лактации (101–300 дней) для оплодотворившихся коров, увеличивали питательную ценность рациона для поддержания молочной продуктивности, а также для формирования и развития эмбрионов у стельных животных (таблица 25).

Анализ используемых рационов показывает, что по некоторым питательным веществам он не в полной мере соответствует современным нормативным данным.

Таблица 25 – Суточный рацион для коров в третью фазу лактации  
(101–300 дней)

Корм	НВ, кг	НВ, %	СВ, кг	СВ, %
Силос кукурузный	14,40	48,0	4,7	30,0
Сенаж люцерновый,	5,90	19,7	2,4	15,4
Сено люцерновое	1,95	6,5	1,6	10,3
Отруби пшеничные	1,00	3,3	0,88	5,6
Кукуруза сухая (дёрть)	1,42	4,6	1,28	8,2
Жом сухой	0,53	1,8	0,48	3,1
Патока	1,00	3,3	0,90	5,8
Соевый жмых	0,40	1,3	0,32	2,1
Жмых подсолнечный	3,10	10,3	2,70	17,3
Жир защищенный	0,17	0,6	0,16	1,0
Соль	0,07	0,2	0,064	0,4
Мел	0,12	0,4	0,12	0,8
Итого	30,0	100	15,6	100
Содержится в рационе:	на гол/сут	Норма	в 1 кг СВ	Норма
СВ, кг	15,6	15,6	–	–
ОЭ, МДж	156	156	10,0	10,0
СБ, г	2153	2106	138	135
НРБ, г	593	655	38	42
РРБ, г	1560	1451	103	93
НДК, г	5226	5148	335	330
КДК, г	3058	3276	196	210
СК, г	2964	–	190	–
НКУ, г	6318	5928	405	380
Са (общ.), г	149,8	96,7	9,6	6,2
Р (общ.), г	60,8	56,2	3,9	3,6
Mg, г	32,8	23,4	2,1	1,5
NaCl, г	62,4	62,4	4,0	4,0

Балансировали рационы путем добавления или уменьшения минеральных, биологически активных или других добавок с помощью компьютерной программы.



### 3.7 Биохимические показатели крови коров-доноров и реципиентов

Концентрация биохимических показателей сыворотки крови коров-доноров опытной и контрольной групп на 0 (начало проведения исследований) и 16-й день (вымывание эмбрионов) представлены в таблицах 25 и 26, соответственно. Значительное изменение биохимических параметров наблюдалось между днем 0 и днем вымывания эмбрионов (день 16-й) в обеих группах (таблица 26).

В контрольной группе концентрация мочевины в сыворотке была значительно выше в день 0, чем в день 16-й, разница составила 1,8 ммоль/л.

Таблица 26 – Сравнение концентрации биохимических параметров в сыворотке крови коров в день 0 и день 16-й (вымывание эмбрионов), контрольная группа

Показатель	Единица измерения	День 0	День 16-й	P
Глюкоза	ммоль/л	3,67±0,29	3,97±0,33	0,49
Мочевина	ммоль/л	5,21±0,31	3,41±0,36	<0,01
Креатининкиназа	МЕ/л	101±49,30	231,17±57,49	0,08
Лактатдегидрогеназа	МЕ/л	788±88,74	721,19±88,17	0,47
Общий белок	г/л	67,58±2,38	67,9±2,42	0,82
Натрий	ммоль/л	136,03±2,52	139,14±2,49	0,86
Калий	ммоль/л	4,91±0,14	4,37±0,17	0,04
Хлорид	ммоль/л	97,4±1,53	98,89±1,61	0,53

Незначительно различалась концентрация глюкозы (+0,30 ммоль/л), общего белка (+0,32 ммоль/л), натрия (+3,11 ммоль/л) и хлорида (1,4 ммоль/л) на 16-й день. Между днем 0 и днем вымывания эмбриона повысилась у коров концентрация в крови креатининкиназы на 130,17 МЕ/л, но уменьшилась лактатдегидрогеназа на 67 МЕ/л.

В опытной группе аналогичная корреляция была обнаружена в день 0 и в день вымывания эмбрионов. Концентрация мочевины в сыворотке крови была значительно ниже (-0,23 ммоль/л) в день вымывания эмбрионов, чем в день 0 (таблица 27).

Таблица 27 – Сравнение концентрации биохимических параметров, измеренных в сыворотке крови коров на 0 и 16-й день (вымывание эмбрионов), опытная группа

Показатель	Единица измерения	День 0	День 16-й	P
Глюкоза	ммоль/л	4,07±0,18	3,81±0,16	0,11
Мочевина	ммоль/л	5,34±0,15	5,11±0,18	0,34
Креатининкиназа	М.Ж.Ед/л	156,50±27,89	163,82±28,24	0,85
Лактатдегидрогеназа	М.Ж Ед/л	999,93±44,50	994,14±43,87	0,91
Общий белок	г/л	69,42±1,19	69,42±1,21	1,00
Натрий	ммоль/л	139,93±1,27	141,37±1,30	0,43
Калий	ммоль/л	4,35±0,08	4,52±0,08	0,12
Хлорид	ммоль/л	99,65±0,86	101,88±0,81	0,06

На 16-й день биохимические параметры сыворотки крови увеличились, у животных обеих групп все показатели были аналогичными, за исключением концентрации калия, натрия и креатининкиназы. В опытной группе сывороточные концентрации мочевины и лактатдегидрогеназы были выше, чем в контрольной группе.

В таблице 28 отмечены биохимические показатели крови животных контрольных и опытных групп в период оплодотворения и вымывания эмбрионов на 16-й день после осеменения.

В период осеменения и вымывания эмбрионов контрольных и опытных групп доноров в крови содержалось больше калия у контрольных животных, остальные составляющие элементов крови в опытных группах доноров были выше в сравнении с контрольной.

В период осеменения и вымывания эмбрионов контрольных и опытных групп доноров в крови содержалось больше калия у контрольных животных, остальные составляющие элементов крови в опытных группах доноров были выше в сравнении с контрольной. Мочевина является одной из фракций остаточного азота крови, которая составляет около 50 % всего его количества. Это индикатор использования в биологической ценности переваренного белка. Показатели содержания мочевины в сыворотке крови коров в контрольной и опытной группах находились в пределах физиологической нормы.

Таблица 28 –Биохимические показатели крови животных контрольных и опытных групп при осеменении в начале опыта и при вымывании эмбрионов

Показатель	День 0 (начало опыта) контрольных групп	День 16-й экспериментальных групп
Глюкоза, ммоль/л	3,67±0,29 / 4,07±0,18 +0,4	3,97±0,33 / 3,81±0,16 -0,16
Мочевина, ммоль/л	5,21±0,31 / 5,34±0,15 +0,13	3,41±0,36 / 5,11±0,18 +1,70
Креатининкиназа, МЕ/л	101±55,30 / 156,50±27,89 +55,5	231,17±56,49/ 163,82±28,24 -67,35
Лактатдегидрогеназа, МЕ/л	788±88,74 / 999,93±44,50 +211,93	721,19±89,17 / 994,14±43,87 +272,95
Общий белок, г/л	67,58±2,38 / 69,42±1,19 +1,84	67,90±2,32 / 69,42±1,21 +1,52
Натрий, ммоль/л	136,03±2,52 / 139,93±1,27 +3,90	139,14±2,49 / 141,37±1,30 +2,23
Калий, ммоль/л	4,91±0,14 / 4,35±0,08 -0,56	4,37±0,17 / 4,52±0,08 +4,52
Хлорид, ммоль/л	97,4±1,63 / 99,65±0,86 +2,25	98,89±1,61 / 101,88±0,81 +2,99

Концентрация мочевины в сыворотке крови влияет на суперовуляцию. Средняя концентрация мочевины была значительно выше в день вымывания эмбрионов, чем в день 0 и в день вымывания эмбрионов контрольной группы.

Повышенное содержание мочевины в сыворотке крови снижает фертильность, рост и выживаемость эмбрионов у молочного скота, поскольку это связано с низким рН матки и неоптимальной средой для роста и развития эмбрионов.

Однако уровень мочевины в настоящем исследовании все еще находился в пределах нормы и не был связан с количеством переносимых эмбрионов. Кроме того, мочевина в матке будет способствовать развитию и сохранению абортивных агентов, таких как *Arcanobacterium pyogenes*, ответственных за эмбриональные аборт и различные формы метрита.

В сыворотке крови не выявлено изменений концентрации глюкозы и не было обнаружено корреляции между концентрацией глюкозы в опытной группе. Концентрация глюкозы была немного ниже в оба периода отбора проб в сравнении с контрольной группой.

В день вымывания эмбрионов – это может отражать более важное превращение глюкозы в пируват и лактат большим количеством эмбрионов, присутствующих в матке животных опытной группы. Несмотря на то, что существуют противоречивые сообщения о влиянии глюкозы на качество эмбриона, повышение уровня глюкозы было связано с увеличением скорости расщепления до стадии бластоцисты и участвовало в раннем энергетическом метаболизме эмбриона.

Фермент лактатдегидрогеназа играет роль в метаболизме глюкозы, катализируя анаэробное превращение пирувата в лактат. В настоящем исследовании концентрация лактатдегидрогеназы была выше в опытной группе в день вымывания эмбриона, чем в контрольной группе.

Предполагается, что лактатдегидрогеназа является индикатором более здорового эмбриона. Электролиты в матке регулируют активность ферментов, а также поддерживают нормальный pH и развитие эмбриона.

У трех электролитов: Na, Cl и K не было изменений в концентрации сыворотки после суперовуляции. Концентрация Cl и K была выше у животных опытной группы, чем в контрольной.

Увеличение этих двух электролитов может способствовать образованию бластоцелей эмбриона и установлению плотных контактов во время расширения бластоцисты. Однако нет корреляции между изменениями электролитов с количеством пересаживаемых эмбрионов.

На основании полученных результатов анализа крови следует отметить, что биохимические параметры сыворотки крови животных соответствуют справочным значениям, однако отмечено, что изменения биохимических параметров в сыворотке крови могут повлиять на количество и качество пересаживаемых эмбрионов у коров-доноров голштинской породы.

#### 4 ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА

В соответствии с результатами исследований нами проведена оценка экономической эффективности получения и трансплантации эмбрионов от коров и телок в Агрообъединении «Кубань». Полученные в ходе проведения исследований экономические показатели представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Экономическая эффективность получения эмбрионов от скота голштинской породы

Показатель	Группы			
	контрольные		опытные	
	коровы	телки	коровы	телки
Стоимость гормональной стимуляции донора, руб / гол.	–	–	3600,0	3600,0
Осеменение донора, руб./ гол.	1000,0	1000,0	1000,0	1000,0
Затраты на вымывание эмбрионов на корову, руб./ гол.	3500,0	3500,0	3500,0	3500,0
Затраты на подсадку эмбриона на 1 реципиента, руб./ гол.	3500,0	3500,0	3500,0	3500,0
Общие затраты на доноров и реципиентов, руб./ гол.	8000,0	8000,0	11600,0	11600,0
Получено эмбрионов от каждого донора, шт.	2,5	5,2	6,0	8,4
Затраты на получение эмбрио-теленка, руб./ гол.	3200,0	1538,0	1933,0	1381,0

Затраты на процесс трансплантации эмбрионов складываются из затрат на гормональную схему – стимуляцию овуляции у доноров, семя быков и осеменение доноров; вымывание эмбрионов у доноров и подсадку эмбрионов реципиентам; подготовку реципиентов к трансплантации эмбрионов. Себестоимость эмбриона и эмбрио-теленка зависит от воспроизводительных функций доноров и реципиентов, их подготовки, и профессионализма технологов по трансплантации эмбрионов.

По данным таблицы 29 видно, что экономическая целесообразность полу-

чения эмбрио-телят состоит из количества и качества эмбрионов, полученных от каждого донора и реципиента.

Общие затраты на получение эмбрионов более высокие в опытных группах, что связано с их высокой стоимостью (3600,0 руб./гол) гормональной стимуляции, а также на процессы вымывания и подсадки эмбрионов.

Рассматривая результаты проведенных наших исследований можно заключить следующее: более выгодно с экономической точки зрения получать эмбрионы и подсаживать их телкам в возрасте от 13 до 16 месяцев, поскольку от них было получено более высокое количество эмбрионов (на 2,7 штук), в сравнении с коровами без стимуляции суперовуляции; телки-доноры и реципиенты произвели большее количество эмбрионов (+2,4), чем опытные коровы, а себестоимость каждого эмбриона, полученного от них, исчисляется на 552,0 руб. меньше; стоимость каждого эмбриона у коровы-донора, которая не подвергалась гормональной стимуляции, является более высокой в сравнении со стоимостью эмбриона, полученного от коровы, прошедшей стимуляцию на 1267,0 руб.

По данным экономических расчетов было установлено, что для увеличения количества эмбрионов и получения от них высокопродуктивных животных целесообразно использовать современные методики, к которым также относится и гормональная стимуляция.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Для получения эмбрионов от коров и телок голштинской породы с хорошей наследственностью и быков с высоким уровнем генетического потенциала молочной продуктивности, необходимо отбирать предков по материнской линии с удоем от 13692 кг до 14925 кг в год, содержанием жира от 3,73 % до 4,55% и белка от 3,10% до 3,23% в молоке. В качестве доноров для получения эмбрионов необходимо отбирать коров голштинской породы с удоями более 10000 кг молока, 3,79% жира и 3,37% белка; телок-доноров отбирать при условии высоких показателей молочной продуктивности их матерей и женских предков.

2. В числе коров и телок голштинской породы были животные от родителей с высоким генетическим потенциалом продуктивности, крепким здоровьем, воспроизводительными способностями коров-доноров. Коровы-доноры контрольной группы характеризовались удоем за 305 дней лактации – 10 344 кг молока с содержанием жира и белка 3,76 % и 3,31 % соответственно. Коровы-доноры 3 опытной группы имели в среднем удои 10 835 кг, содержание в молоке жира 3,75 % и белка 3,29 %. У матерей телок-доноров молочная продуктивность составила во 2 группе – 10 433 кг, содержание жира и белка в молоке – 3,79 % и 3,39 %; в 4 группе соответственно 10 502 кг молока, 3,72 % и 3,36 % – жира и белка в молоке.

3. Установлено, что от выбранных контрольных коров-доноров и телок-доноров получено в среднем от 2,5 до 5,2 эмбрионов, а от опытных, после проведения гормональной стимуляции для суперовуляции, от 6,0 до 8,4 эмбрионов. От телок-доноров без стимуляции и со стимуляцией получено больше эмбрионов на 2,7 штук и 2,4 штук, чем от коров-доноров, соответственно. От телок-доноров 2-й контрольной и 4-й опытной групп получено на 6 и 9 эмбрионов высшего 1-го оценочного класса больше, соответственно, чем в 1-й контрольной и 3-й опытной группах.



4. Оценка степени приживаемости эмбрионов у реципиентов показала, что в контрольных группах (без гормональной стимуляции) 20% и 22,2% реципиентов были стельными, а в опытных группах (после проведения гормональной стимуляции) – 35,3 % и 52,9 % – соответственно. У телок-реципиентов приживаемость эмбрионов оказалась выше на 2,2%, чем у нестимулируемых и на 17,6 % больше, чем у стимулируемых гормонами, в сравнении с коровами-реципиентами.

5. Установлено изменение концентрации биохимических показателей крови коров от осеменения до вымывания эмбрионов контрольной группы. Зафиксировано увеличение глюкозы на 0,3 ммоль/л; креатининкиназы – 130,17 МЕ/л; натрия на 3,11 ммоль/л, хлорида на 1,49 ммоль/л и общего белка на 0,32 г/л. Уменьшилась концентрация мочевины на 1,8 ммоль/л; лактатдегидрогеназы на 66,81 МЕ/л и калия на 0,54 ммоль/л. Отличались биохимические показатели в сыворотке крови опытной группы. В период вымывания эмбрионов в крови опытных животных уменьшилось содержание глюкозы, мочевины и лактатдегидрогеназы, но не изменилось содержание общего белка в крови и увеличились показатели креатининкиназы, натрия, калия и хлорида.

6. При расчете экономических показателей было выявлено следующее: на гормональную стимуляцию каждого донора затрачено 3600,0 руб, на осеменение – 1000,0 руб, на вымывание эмбрионов – 3500,0 руб, на подсадку эмбрионов реципиентам–3500,0 руб. В общей сумме, на получение одного эмбриотеленка было затрачено в 1-й группе 3200,0 руб, во 2-й группе – 1538,0 руб, в 3-й группе – 1933,0 руб и в 4-й группе– 1381,0 руб. Эмбрио-телята от коров без стимуляции и со стимуляцией оказались дороже по сравнению с телками 2-й контрольной и 4-й опытной групп в связи с получением большего количества телят.

## ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ

С целью увеличения численности высокопродуктивных животных крупного рогатого скота и повышения молочной продуктивности рекомендуем использовать разработанные методики получения и трансплантации эмбрионов от высокопродуктивных коров и телок голштинской породы с высоким уровнем генетического потенциала продуктивности, с применением гормональной стимуляции при использовании в качестве реципиентов коров и телок айрширской породы.

## ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ

Дальнейшие исследования будут направлены на совершенствование гормональной стимуляции для суперовуляции телок- и коров-доноров и стимуляции приживаемости эмбрионов. Улучшения отбора коров, телок и быков с высоким уровнем генетического потенциала продуктивности для получения эмбрионов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аbugалиев, С. К. Научно-методические основы создания высокопродуктивных молочных стад / С. К. Аbugалиев. – М. : РГАУ-МСХА, 2017. – 115 с.

2. Агалакова, Т. В. Физиологическая оценка трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в хозяйствах Волго-Вятского региона : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Агалакова Татьяна Владимировна ; Научно-исследовательский институт сельского хозяйства Северо-Востока Россельхозакадемии. – Нижний Новгород, 1998. – 25 с. – Место защиты: Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия.

3. Алмарданов, А. Эффективность трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в условиях Узбекистана : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Алмарданов Абдухалик ; Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства. – Дубровицы, 1990. – 25 с. – Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства.

4. Анзоров В. А. Сравнительная характеристика и оценка жизнеспособности эмбрионов, полученных от здоровых и племенных коров-доноров с разным уровнем молочной продуктивности / В. А. Анзоров, В. А. Титова, С. Н. Хилькевич [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2005. – Т. 40. – № 6. – С. 63–68.

5. Антипова, Л. В. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных : учебник и практикум / Л. В. Антипова, С. М. Сулейманов, В. С. Слободяник. – М. : Юрайт, 2019. – 388 с.

6. Ахмедов, Н. М. К изучению уровня полиовуляции и качества эмбрионов при применении ФСГ и фоллигона / Н. М. Ахмедов, И. З. Эюбов, Т. А. Керимов // Известия Академия Наук АзССР. Серия : Биологические науки. – 1986. – № 6. – С. 42–46.

7. Бабенков, В. Ю. Использование трансплантации эмбрионов в воспроизводстве крупного рогатого скота Брестской области / В. Ю. Бабенко // Зоотех-

ническая наука Беларуси. – Минск, – 2000. – Т. 34. – С. 62-67.

8. Бабенков, В. Ю. Пролонгирование действия ФСГ поливиниловым спиртом / В. Ю. Бабенков, В. П. Токолов, С. И. Моисеенко // Аскания-Нова. – 1997. – С. 8–9.

9. Бабенков, В. Ю. Стимуляция суперовуляции у коров-доноров пролонгированной формой ФСГ / В. Ю. Бабенков // Аграрное обозрение. – 2010. – № 3. – С. 27–34.

10. Бабенков, В. Ю. Эффективность использования усовершенствованной технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 06.02,01 «Разведение, селекция и воспроизводство сельскохозяйственных животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Бабенков Владимир Юрьевич ; Белорусский научно-исследовательский институт животноводства. – Жодино, 1993. – 28 с. – Место защиты: Белорусский научно-исследовательский институт животноводства.

11. Бабенков, В. Ю. Производство и трансплантация эмбрионов в ООО «Бетагран Липецк» / В. Ю. Бабенков, Н. И. Хромов, В. В. Хромова // Племенное дело. – 2016. – № 7. – С. 56–62.

12. Бабенков, В. Ю. Практика получения и пересадки эмбрионов *in vivo* в ООО «БЕТАГРАН ЛИПЕЦК» / В. Ю. Бабенков, А. В. Дуванов, Н. И. Хромов // Племенное дело. – 2018. – № 5. – С. 148–161.

13. Багманов, М. А. Практикум по акушерству и гинекологии / М. А. Багманов, Н. Ю. Терентьева, С. Р. Юсупов. – Санкт-Петербург, 2017. – 308 с.

14. Байтлесов, Е. У. Аспекты эмбриональной смерти в скотоводстве / Е. У. Байтлесов, В. А. Титова // Ветеринарная патология. – 2007. – № 2. – С. 128–131.

15. Байтлесов, Е. У. Биотехника интенсификации репродуктивной активности молочных коров : учеб. пособие / Е. У. Байтлесов, В. А. Титов, С. Н. Хилькевич. – Вологда, 2008. – 451 с.

16. Жизнеспособность эмбрионов в зависимости от физиологического

статуса коров-доноров / Ф. Н. Насибов, Е. У. Байтлесов, В. А. Титова [и др.] // Вестник ветеринарии. – 2007. – № 42 / 3. – С. 36–45.

17. Бейкер, Р. Л. Будущее влияние новых возможностей репродуктивной физиологии и молекулярной биологии на программы генетического улучшения / Р. Л. Бейкер, Д. Дж. Шеннон // Труды Новозеландского общества животноводства. – 1990. – С. 197–210.

18. Борисов, А. А. Актуальные тенденции в молочном животноводстве / А. А. Борисов // Эффективное животноводство. – 2010. – № 8. – С. 46–47.

19. Бугров, А. Д. Методы санации при трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / А. Д. Бугров, Г. С. Тихона // Зоотехническая наука Беларуси. – 2004. – Т. 39. – С. 12–15.

20. Бурсаков С.А. Плазмидные векторы для гетерологической экспрессии фолликуло-стимулирующего гормона в *E. coli* / С. А. Бурсаков, С. Н. Ковальчук, Д. В. Попов, Г. Ю. Косовский // Перспективы и актуальные проблемы развития высокопродуктивного молочного и мясного скотоводства : материалы Международной научно-практической конференции, Витебск, 25-27 мая 2017 года / Витебская государственная академия ветеринарной медицины, Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт патологии, фармакологии и терапии, Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства. – Витебск : ВГАВМ, 2017. – С. 27–28.

21. Вайгель, К. Изучение роли спермы с разбивкой по полу в системах молочного производства / К. Вайгель // Журнал молочной науки. – 2004. – 87 с.

22. Венцова, И. Ю. Пути повышения продуктивности крупного рогатого скота с использованием методик трансплантации эмбрионов в хозяйствах Белгородской области / И. Ю. Венцова, Ю. А. Корнева // – 2019. – С. 126–129.

23. Воробьева, В. В. Улучшение мясной продуктивности крупного рогатого скота калмыцкой породы с использованием метода трансплантации эмбрионов / В. В. Воробьева, И. Х. Хисметов // Материалы Прикаспийского международного молодёжного научного форума агропромтехнологий и продовольственной безопасности 2018, состоявшегося 19-20 апреля 2018 года на факуль-

тете агробизнеса, технологий и ветеринарной медицины Астраханского государственного университета. – Астрахань, 2018. – С. 83–84.

24. Ворошина, Т. Л. Применение иммуногенетических показателей при трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 06.00.23 «Генетика» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Ворошина Татьяна Леонидовна. – Харьков, 1995. – 23 с. – Место защиты: Украинская академия аграрных наук.

25. Вракин, В. Ф. Морфология сельскохозяйственных животных (анатомия с основами цитологии, эмбриологии и гистологии) : учебник для вузов / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова. – Санкт-Петербург : Квадро, 2021. – 544 с.

26. Вракин, В. Ф. Морфология сельскохозяйственных животных. Анатомия с основами цитологии, эмбриологии и гистологии / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова. – Санкт-Петербург : Квадро, 2015. – 528 с.

27. Вракин, В. Ф. Практикум по анатомии с основами гистологии и эмбриологии сельскохозяйственных животных / В. Ф. Вракин, М. В. Сидорова. – Москва : Колос, 2001. – 272 с.

28. Гарнер, Д. Л. Прошлые, настоящие и будущие перспективы определения пола сперматозоидов / Д. Л. Гарнери, Г. Э. Зайдель // Канадский журнал зоотехники. – 2003. – № 83. – С. 375–384.

29. Гарнер, Д. Л. История коммерциализации спермы для крупного рогатого скота / Д. Л. Гарнер, Г. Э. Зайдель // Териогенология. – 2008. – № 69. – С. 886–895.

30. Глаголев, П. А. Анатомия сельскохозяйственных животных с основами гистологии и эмбриологии / П. А. Глаголев. – М. : Колос, 1977. – 480 с.

31. Голубец, Л. В. Биологические, продуктивные и воспроизводительные качества доноров и реципиентов при трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота : специальность 06.02,01 «Разведение, селекция и воспроизводство сельскохозяйственных животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Голубец Леонид Викторович ; Белорусский научно-исследовательский институт животноводства. –

Жодино, 1991. – 25 с. – Место защиты: Белорусский научно-исследовательский институт животноводства.

32. Голубец Л. В. Сравнительная эффективность трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота зарубежной селекции / Л. В. Голубец, А. С. Дешко, И. С. Кысса [и др.] // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Гродненский государственный аграрный университет. – Гродно : ГГАУ, 2019. – Т. 44 : Зоотехния. – С. 20–27.

33. Голубец, Л. В. Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота – союз науки и производства / Л. В. Голубец, В. Ю. Бабенков, А. С. Дешко // АРК News. – 2017. – № 1. – С. 74–75.

34. Гончаров, В. П. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных : учебник / В. П. Гончаров, Д. А. Черепяхин. – Санкт-Петербург : Квадро, 2017. – 328 с.

35. Горлов П.Ф. Экономические перспективы использования биотехнологий в животноводстве / И. Ф. Горлов, А. А. Мосолов, М. А. Нестеренко, К. Нимбона // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2019. – № 5. – С. 57–60.

36. Гугушвили, Н. Н. Иммунобиологическая реактивность коров и методы ее коррекции / Н. Н. Гугушвили // Ветеринария. – 2003. – № 12. – С. 28–30.

37. Дуванов, А. В. Опыт трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в условиях животноводческих ферм лесостепи Украины. / А. В. Дуванов, В. Ф. Довгопол, А. Д. Бугров // Научно-технический бюллетень Института животноводства Национальной академии аграрных наук Украины. – 2013. – № 109-1. – С. 102–107.

38. Дудин, И. Основные характеристики молочного скотоводства Российской Федерации / И. Дудин, А. Кочетков // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. – № 7. – С. 2.

39. Еременко, О. Н. Экстерьерные и продуктивные показатели коров айрширской и голштинской пород в условиях интенсивной технологии / О.Н. Еременко, Н. И. Куликова, А. О. Малахова // Ветеринария, зоотехния и биотех-



нология. – 2017. – № 1. – С. 79–85.

40. Замошина Т. А. Динамика работоспособности и уровень лактата в сыворотке крови лабораторных крыс в зависимости от сезона года / Т. А. Замошина, А. А. Гостюхина, К. В. Зайцев [и др.] // Экология человека. – 2020. – № 10. – С. 17–22.

41. Зеленецкий, Н. В. Анатомия и физиология животных : учебник / Н. В. Зеленецкий, М. В. Щипакин, К. Н. Зеленецкий. – Санкт-Петербург : Лань, 2018. – 368 с.

42. Зеленецкий, Н. В. Анатомия и физиология животных : учебник / Н. В. Зеленецкий, А. П. Васильев, Л. К. Логинова. – Москва : Академия, 2009. – 234 с.

43. Иванов В. А. Возрастная анатомия и физиология : учебно-методическое пособие / В. А. Иванов, С. В. Извекова ; Курский государственный университет. – Курск : КГУ, 2011. – 238 с.

44. Калашников А. П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных : справочное пособие / А. П. Калашников, В. И. Фисинин, В. В. Щеглов [и др.]. – Москва : Агропромиздат, 2003. – 436 с.

45. Клейменов Н.В. Основы эмбриологии животных и птиц : учебно-методич. пособие / Н. В. Клейменов, Т. В. Смагина, О. Г. Пискунова, И. С. Клейменов. – Орел : ОрелГАУ, 2015. – 136 с.

46. Клименко А. И. Разработка модели информационно-консультационной службы в племенном животноводстве / А. И. Клименко, О. Л. Третьякова, Ю. А. Колосов [и др.] // Использование и эффективность современных селекционно-генетических методов в животноводстве : материалы международной научно-практической конференции. – п. Персиановский, 2015. – С. 12–19.

47. Авторское свидетельство 1009366 Российская Федерация, МПК А 01К 67/02, А 61 D 7/00. Способ получения эмбрионов у крупного рогатого скота для трансплантации : № 2974936 : заявл. 15.08.1980 : опубл. 07.04.1983 / Сергеев Н. И., Клинский Ю. Д., Иванов Г. И., Овчинников А. В. ; Всесоюзный науч-

но-исследовательский институт животноводства. – 3 с.

48. Колесникова, А. В. Степень использования генетического потенциала голштинских быков-производителей различной селекции / А. В. Колесникова, О. А. Басонов // Зоотехния. – 2017.– № 1.– С. 10–12.

49. Константинова, И. С. Основы цитологии, общей гистологии и эмбриологии животных : учеб. пособие / И. С. Константинова, Э. Н. Булатова, В. И. Усенко. – Санкт-Петербург : Лань, 2015. – 234 с.

50. Косилов, В. И. Формирование репродуктивной функции телок чернопестрой породы и ее помесей на Южном Урале / В. И. Косилов, Д. А. Андриенко, А. Г. Джалов // Вестник Санкт-Петербургского аграрного университета. – 2016. – № 45.– С. 129–133.

51. Крайтон, Э. С. Искусственное осеменение лактирующих коров голштинской породы спермой, разделенной по полу / Э. С. Крайтон [и др.]. – 2006. – 18 (2). – С. 281–282.

52. Кузнецов, В. М. Молочная продуктивность и экстерьерные особенности голштино-фризского скота Сахалина / В. М. Кузнецов // Молочное и мясное скотоводство крайнего Севера. – Ленинград, 1986. – С. 124–133.

53. Лендманн, Д. К. Подтверждение предотвращения вертикальной передачи neospora caninum у крупного рогатого скота посредством трансплантации эмбрионов / Д. К. Лендманн // Российский ветеринарный журнал сельскохозяйственных животных. – 2006. – № 2. – С. 20–21.

54. Лешко, А. А. Сравнительная эмбриология животных / А. А. Лешко, С. П. Коханская, Г. А. Лешко ; Витебский государственный университет имени П. М. Машерова. – Витебск : ВГУ, 2011. – 50 с.

55. Лищук, А. П. Актуальные вопросы биотехники воспроизводства сельскохозяйственных животных : учебно-методическое пособие / А. П. Лищук, О. Г. Пискунова ; Орловский государственный аграрный университет. – Орел : ОрелГАУ, 2017. – 60 с.

56. Лищук, А. П. Основы биотехники воспроизводства сельскохозяйственных животных : учебно-методическое пособие / А. П. Лищук, О. Г. Пис-

кунова. – Орел : ОрелГАУ, 2017. – 527 с.

57. Логинов, Ж. Г. Голштинский скот и методы его совершенствования / Ж. Г. Логинов // Зоотехния. – 1996. – № 8. – С. 6–10.

58. Мадисон, В. Эмбриология ельскохозяйственных животных / В. Мадисон // Эффективное животноводство. – 2016. – № 2 (123). – С. 63–65.

59. Мартынова, Е. Н. Физиологическое состояние коров в зависимости от микроклимата помещений / Е. Н. Мартынова, Е. А. Ястребова // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 8. – С. 53–56.

60. Махоткин, А. Г. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных и трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота : методические указания / А. Г. Махоткин; Марийский государственный университет. – Йошкар-Ола : Марийский ГУ, 2007. – 51 с.

61. Мельникова, Е. Е. Построение селекционного индекса племенной ценности коров по признакам молочной продуктивности / Е. Е. Мельникова // Молочное и мясное скотоводство. – 2016. – № 8. – С. 6–9.

62. Миронова, М. Ю. Использование современных методов воспроизводства в условиях Удмуртской Республики / М. Ю. Миронова // Научные труды студентов Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – Ижевск, 2017. – С. 110–113.

63. Михайлюк, П. М. Разведение сельскохозяйственных животных с основами частной зоотехнии : курс лекций / П. М. Михайлюк ; Кубанский государственный аграрный университет. – Краснодар : КубГАУ, 2006. – 445 с.

64. Мишхожев, А. Главные качества и особенности голштинской породы скота / А. Мишхожев, Т. Т. Асланбиевич // NovaInfo.Ru. – 2016. – № 43. – 156 с.

65. Мишхожев, А. Основные характеристики и описания некоторых пород крупного рогатого скота / А. Мишхожев, Т. Т. Асланбиевич // NovaInfo.Ru. – 2016. – № 43. – С. 85–87.

66. Мишхожев, А. А. Техника разведения крупного рогатого скота / А. А. Мишхожев, Т. Т. Асланбиевич // NovaInfo.Ru. – 2016. – № 44. – С. 42–45.

67. Мишхожев, А. А. Главные качества и особенности голштинской по-

роды скота / А. А. Мишхожев, Т.Т.Тарчоков // NovaInfo.Ru. – 2016. – № 43.–С. 78–79.

68. Момот, Ю. А. К особенностям эмбриогенеза всеядных животных при изучении курса эмбриологии / Ю. А. Момот // Инновационные образовательные технологии в системе высшего профессионального образования: принципы и механизмы организации в условиях глобализации : материалы XXVIII международной научно-методической конференции Приморской государственной сельскохозяйственной академии 16-21 марта 2011 года . – Владивосток, 2011. – С. 23–24.

69. Мороз, Н. И. Молочная продуктивность и качество молока голштинских коров при круглогодичном стойловом содержании / Н. И. Мороз, П. А. Костычева // Зоотехния. – 2012. – № 2. – С. 18.

70. Морозова, Н. И. Инновационные приемы в селекционно-племенной работе с голштинским скотом в племенном заводе «Авангард» / Н. И. Морозова, Ф. А. Мусаев, О. А. Морозова // Вестник Мичуринского ГАУ. – 2016. – С. 53–58.

71. Морозова Н. И. Молочная продуктивность голштинских коров при круглогодичном стойловом содержании : монография / Н.И. Морозова, Ф. А. Мусаев, Н. Г. Бышова [и др.]. – Рязань : Рязанский государственный агротехнологический университет, 2013. – 169 с.

72. Нардид, А. В. Методика определения экономического эффекта от использования селекционных достижений в животноводстве / А. Нардид, Н. И. Иванова, В. Н. Кутровский // Доклады ВАСХНИЛ. – 2011. – № 5. – С. 18–21.

73. Никитин В. Я. Анатомия и физиология репродуктивных органов животных / В. Я. Никитин, В. С. Скрипкин, Н. А. Писаренко [и др.]. – Ставрополь : АГРУС, 2015. – 97 с.

74. Студенцов А. П. Акушерство, гинекология и биотехника репродукции животных : учебник / А. П. Студенцов, В. С. Шипилов, В. Я. Никитин [и др.]. – Санкт-Петербург : Лань, 2020. – 548 с.

75. Никоян, П. Е. Совершенствование методов суперовуляции и нехи-

рургического вымывания эмбрионов у крупного рогатого скота для целей трансплантации : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Никоян Петрос Еремович ; Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства. – Дубровицы, 1983. – 22 с. – Место защиты: Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства.

76. Богданлаич Д. М. Эффективность применения раствора дексовета в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Д. М. Богданович, С. Н. Пайтеров, И. К. Кирикович [и др.] // Зоотехническая наука Беларуси. – 2019. – Т. 54 – № 1. – С. 19–26.

77. Пайтеров, С.Н. Эффективность применения раствора мелоксикама в воспроизводстве и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / С. Н. Пайтеров, Ю. К. Кирикович // Зоотехническая наука Беларуси. – 2018. – Т. 53. – № 1. – С. 29–38.

78. Передера, К. Б. Совершенствование методов и техники трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Передера Константин Борисович ; Научно-исследовательский институт лесостепи и полесья УССР. – Харьков, 1985. – 26 с. – Научно-исследовательский институт лесостепи и полесья УССР.

79. Пигарева, Г. П. Применение различных методов трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в условиях «Щелково агрохим» ООО «Бетагран Липецк» Добринского района Липецкой области / Г. П. Пигарева, К. В. Дробышева // Труды Воронежского государственного аграрного университета имени Императора Петра I. – 2019. – С. 362–366.

80. Пигарева, Г. П. Сравнительная характеристика методов трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в условиях «Щелково агрохим» ООО «Бетагран Липецк» Добринского района Липецкой области / Г. П. П. Пигарева, К. В. Дробышева // Труды Воронежского государственного аграрного университета имени Императора Петра I. – 2019. – С. 369–372.

81. Писменская, В. Н. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных : учебник / В. Н. Писменская, Е. М. Ленченко, Л. А. Голицына. – М. : Колос, 2016. – 281 с.

82. Писменская, В. Н. Анатомия и физиология сельскохозяйственных животных : учебник и практикум / В. Н. Писменская, Е. М. Ленченко, Л. А. Голицына. – М. : Юрайт, 2019. – 292 с.

83. Постраш, И. Ю. Динамика содержания некоторых антиоксидантов у коров в разные периоды стельности / И. Ю. Постраш, Ю. Г. Соболева // Опыт, проблемы и пути их решения. – 2012. – С. 200–203.

84. Рябых, В. П. Адаптация технологии трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота к условиям современных хозяйств Калужской области / В. П. Рябых // Труды региональной научно-практической конференции. – Калуга, 2012. – С. 120–126.

85. Рядчиков, В. Г. Основы питания и кормления сельскохозяйственных животных : учеб. пособие / В. Г. Рядчиков; Кубанский государственный аграрный университет. – Краснодар : КубГАУ. 2013. – 616 с.

86. Рядчиков, В. Г. Питание высокопродуктивных коров / В. Г. Рядчиков, Н. И. Подворок, С. А. Потехин ; Кубанский государственный аграрный университет. – Краснодар : КубГАУ. 2002. – 70 с.

87. Сацук, В. К. Современное развитие молочного скотоводства в Российской Федерации / В. К. Сацук, И. Янчуков // Молочное и мясное скотоводство. – 2012. – № 1. – С. 9–12.

88. Седунова, Т. В. Показатели выращивания телок черно-пестрой породы при селекции по индексу пищевой активности / Т. В. Седунова, А. Г. Кудрин / Инновационные технологии в сельскохозяйственном производстве и образовании : материалы Международной научно-практической конференции. – Троицк, 2016. – С. 263–267.

89. Сивкин, Н. В. К вопросу о возрасте и живой массе при первом осеменении телок молочных пород / Н. В. Сивкин, Н. И. Стрекозов // Молочное и мясное скотоводство. – 2017. – № 2. – С. 3–6.

90. Скопичев, В. Г. Морфология и физиология сельскохозяйственных животных / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. – Санкт-Петербург : Квадро. 2016. – 412 с.
91. Скопичев, В. Г. Морфология и физиология сельскохозяйственных животных / В. Г. Скопичев, Н. Н. Максимюк. – Санкт-Петербург : Квадро, 2016. – 412 с.
92. Скрипицын, Ю. А. Технология трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в Ордена Ленина госплемзаводе «Масловский» Новоусманского района / Ю. А. Скрипицын. – Воронеж, 1989. – 112 с.
93. Скрипниченко, Г. Г. Использование генетико-статистических методов и энтропийного анализа при индивидуальной и групповой оценке пород крупного рогатого скота с разным уровнем продуктивности, репродуктивной функцией и конституциональной резистентностью / Г. Г. Скрипниченко, Ю. Н. Добровольский, И. В. Абрамова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2016. – № 11. – С. 69–77.
94. Смыслова, Н. И. Эффективность применения СЖК и ФСГ-П при трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Смыслова Нина Игнатьевна ; Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства . – Дубровицы, 1990. – 28 с. – Место защиты: Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства.
95. Советкин, С. В. Препараты и методы, обеспечивающие эффективную трансплантацию эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 03.00.13 «Физиология человека и животных» : диссертация на соискание ученой степени доктора биологических наук в форме научного доклада / Советкин С. В.; Всероссийский государственный научно-исследовательский институт контроля, стандартизации и сертификации ветеринарных препаратов. – Дубровицы, 1994. – 54 с.
96. Сошников Н. М. Трансплантация эмбрионов крупного рогатого

скота / Н. М. Сошников, Р. К. Арстангалиева, А. М. Саркимова, Д. С. Салимова // Прикаспийский международный молодежный научный форум агропромтехнологий и продовольственной безопасности 2017 : сборник научных статей. – Астрахань, 2017. – С. 51–52.

97. Стрекозов Н.И. Продуктивное долголетие крупного рогатого скота молочных пород : аналитический обзор / Н. И. Стрекозов, Н.В. Сивкин, В.И. Сельцов [и др.]. – Дубровицы : ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии, 2012. – 72 с.

98. Суллер, И. Л. Селекция крупного рогатого скота молочных пород : учебное пособие / И. Л. Суллер. – Санкт–Петербург, 2018. – 218 с.

99. Сушко, А. Б. Технологические приемы повышения эффективности получения и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота : специальность 06.00.23 «Биотехнология» : автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Сушко Алексей Борисович ; Институт животноводства УААН. – Харьков, 1996. – 26 с. – Место защиты: Институт животноводства УААН.

100. Тарчоков, Т. Т. Продуктивность голштинизированных коров в Кабардино-Балкарии / Т. Т. Тарчоков // Зоотехния. – 2002. – № 1. – С. 6–7.

101. Таскаев, И. И. Современные технологии образовательного процесса при изучении цитологии, гистологии и эмбриологии животных и человека / И. И. Таскаев, В. В. Семченко // Вестник Омского государственного аграрного университета. – 2012. – № 1(5). – С. 52–57.

102. Терехова, С. В. Анализ биохимических показателей крови голштинского скота в период акклиматизации в ООО «Раковское» Приморского края / С. В. Терехова // Естественные и технические науки. – 2018. – № 2(116). – С. 73–78.

103. Турлюн, В. И. Продуктивные и биологические особенности айрширского скота в Краснодарском крае : специальность 06.02.10 «Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства : автореферат на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук / Турлюн Виктор Иванович ; Кубанский государственный аграрный университет. – Краснодар,



2010. – 28 с. – Место защиты: Кубанский государственный аграрный университет.

104. Тяпугин, Е. А. Селекция крупного рогатого скота на современных комплексах с инновационными технологиями доения / Е. А. Тяпугин, С. Е. Тяпугин, О. Н. Бургомистрова // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2014. – № 6. – С. 16–20.

105. Филиппов, Д. И. Оплодотворяющая способность семени импортного и отечественного производства, полученного от быков-производителей голштинской породы / Д. И. Филиппов, В. Г. Труфанов // Молочное и мясное скотоводство. – 2015. – № 8. – С. 6–9.

106. Фисинин, В. Интенсивное скотоводство в России: все зависит от нас / В. Фисинин // Животноводство России. – 2006. – № 8. – С. 2–4.

107. Харитонов, Е. Л. Организация научно-обоснованного кормления высокопродуктивного молочного скота : практические рекомендации / Е. Л. Харитонов, В. И. Агафонов, Л. В. Харитонов. – Боровск : [б.и.], 2008. – 106 с.

108. Харитонов, Е. Л. Физиология и биохимия питания молочного скота / Е. Л. Харитонов. – Боровск : Оптима Пресс, 2011. – 372 с.

109. Хон Ф. Синхронизация охоты у телок при переходе от естественной случки к искусственному осеменению / Ф. Хон, Т. Лещук, А. Шалимов [и др.] // Главный зоотехник. – 2016. – № 12. – С. 3–7.

110. Хохлов, Р. Ю. Морфология животных. Эмбриология : учебное пособие / Р. Ю. Хохлов. – Пенза : Пензенская ГСХА, 2014. – 120 с.

111. Чебел, Р. Ф. Факторы, влияющие на репродуктивную способность телок голштинской породы / Р. Чебел, Ф. Брага, Ж. Дальтон // Наука о репродукции животных. – 2006. – № 3-4. – С. 208–224.

112. Чекменева, Н. Сходства и различия новых типов айрширского скота / Н. Чекменева, В. Тюриков // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. – № 7. – С. 17–18.

113. Чекушкин, В. Молочная продуктивность коров различных родственных групп / В. Чекушкин // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. – № 2. –

С. 8–10.

114. Шенк, Дж. Л. Осеменение коров голштинской породы спермой, разделенной по полу / Дж. Л. Шенк, Р. В. Эверетт // *Journal of Dairy Science*. – 2007. – Vol. 90. – С. 18.

115. Щербак, О. В. Криоконсервация эмбрионов как метод сохранения генофонда белоголовой украинской породы крупного рогатого скота / О. В. Щербак, А. Б. Зюзюнь, С. И. Ковтун // *Молочное и мясное скотоводство*. – 2017. – № 2. – С. 21–23.

116. Abdelli A. Elevated non-esterified fatty acid and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cows and their association with reproductive performance and disorders: A meta-analysis / A. Abdelli, D. Raboisson, R. Kaidi [et al.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 93. – P. 99–104.

117. **Local changes** in blood flow within the preovulatory follicle wall and early corpus luteum in cows / T. J. Acosta, K. G. Hayashi, M. Ohtani, A. Miyamoto // *Reproduction*. – 2003. – Vol. 125, № 5. – P. 759–767.

118. Selection of a dominant follicle and suppression of follicular growth in heifers / G. P. Adams, K. Kot, C. A. Smith, O. J. Ginther // *Anim Reprod Sci*. – 1993. – Vol. 30. – P. 259–271.

119. Effects of FSH and LH on ovarian and follicular blood flow, follicular growth and oocyte developmental competence in young and old mares / J. L. Altermatt, A. J. Marolf, R. H. Wrigley, E. M. Carnevale // *Anim. Reprod. Sci*. – 2012. – Vol. 133, № 3-4. – P. 191–197.

120. Andrabi, S. M. H. A review on reproductive biotechnologies for conservation of endangered mammalian species / S. M. H. Andrabi, W. M. C. Maxwell // *Animal Reproduction Science*. – 2007. – Vol. 99, № (3-4). – P. 223–243.

121. Arega, H. Review on Growth and Development of Multiple Ovulation and Embryo Transfer Technology in Cattle / H. Arega // *World Sci. news*. – 2019. – Vol. 127, № 3. – P. 191–211.

122. B. da Silva, J. C. Use of FSH in two different regimens for ovarian superstimulation prior to ovum pick up and in vitro embryo production in Holstein cows /

J. C. B. da Silva // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 90. – P. 65–73.

123. Effect of uterine size on fertility of lactating dairy cows / G. M. Baez, R. V. Barletta, J.N. Guenther [et al.] // *Theriogenology*. – 2016. – Vol. 85, № 8. – P. 1357–1366.

124. Barros, C. M. Superovulation in zebu cattle / C. M. Barros, M. F. Nogueira // *IETS Embryo Transfer News* 1. – 2005. – Vol. 23. – P. 5–9.

125. Baruselli, P. S. Factors that interfere with oocyte quality for in vitro production of cattle embryos: Effects of different developmental & reproductive stages / P. S. Baruselli // *Anim. Reprod.* – 2016. – Vol. 13, № 3. – P. 264–272.

126. Baruselli, P. S. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle / P. S. Baruselli // *Theriogenology*. – 2011. – Vol. 76, № 9. – P. 1583–1593.

127. Begum, M. Factors affecting the milk production of dairy cattle in northern rural areas of Bangladesh / M. Begum, M. Anaruzzaman, M. Khan // *Int. J. Agric. Res. Innov. Technol.* – 2015. – Vol. 4, № 2. – P. 41–45.

128. Bó, G. A. Pursuit of a method for single administration of pFSH for superstimulation in cattle: What we have learned / G. A. Bó, D. R. Rogan, R. J. Mapletoft // *Theriogenology*. – 2018. – Vol. 112. – P. 26–33.

129. The control of follicular wave development for self-appointed embryo transfer programs in cattle / G. A. Bó, P. S. Baruselli, D. Moreno [et al.] // *Theriogenology*. – 2002. – Vol. 57. – P. 53–72.

130. Bó, G. Evaluation and classification of bovine embryos / G. Bó, R. Mapletoft // *Anim. Reprod.* – 2013. – Vol. 10, № 3. – P. 344–348.

131. Cavalieri, F. L. B Improvement of bovine in vitro embryo production by ovarian follicular wave synchronization prior to ovum pick-up / F. L. B. Cavalieri // *Theriogenology*. – 2018. – Vol. 117. – P. 57–60

132. Serum biochemical parameters and embryo production during superovulatory treatment in dairy cattle / Y. Chorfi, A. Lanevschi, R. Dupras [et al.] // *Res. Vet. Sci.* – 2007. – Vol. 83, № 3. – P. 318–321.

133. Colazo, M. G. A review of current timed-AI (TAI) programs for beef and

dairy cattle / M. G. Colazo, R. J. Mapletoft // *The Canadian Veterinary Journal*. – 2014. – Vol. 55 (8). – P. 772–780.

134. Colazo M. G. Pregnancy rates to timed artificial insemination in dairy cows treated with gonadotropin-releasing hormone or porcine luteinizing hormone / M. G. Colazo, M. B. Gordon, R. Rajamahendran // *Theriogenology*. – 2009. – Vol. 72. – P. 262–270.

135. Coombes, D. M. Bovine embryo transfer / D. M. Coombes // *The Veterinary record*. – 1996. – Vol. 138, № 8. – P. 192.

136. Causes of declining fertility in dairy cows during the warm season / F. De Rensis, F. Lopez-Gatius, I. García-Ispierto [et al.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 91. – P. 145–153.

137. Pregnancy losses in cattle: potential for improvement / M. Diskin, S. Waters, M. Parr, D. Kenny // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2016. – Vol. 28, № 1-2. – P. 83–93.

138. Drillich, M. Pathogenesis of uterine diseases in dairy cattle and implications for fertility / M. Drillich, K. Wagener // *Anim. Reprod.* – 2018. – Vol. 15. – P. 879–885.

139. Oocyte ultrastructure in bovine primordial to early tertiary follicles / T. Fair, S. C. Hulshof, P. Hyttel [et al.] // *Anatomy and Embryology*. – 1997. – № 195. – P. 227–336.

140. Fair, T. Follicular oocyte growth and acquisition of developmental competence / T. Fair // *Animal Reproduction Science*. – 2003. – Vol. 78. – P. 203–216.

141. Hamilton, W. J. Development of the egg of the cow up to the stage of blastocyst formation / W. J. Hamilton, J. A. Laing // *Journal of Anatomy*. – 1946. – № 80. – P. 194–204.

142. Hanzen, P. C. La production d'embryons in vitro dans l'espèce bovine / P. C. Hanzen. – Anne, 2009. – 76 p.

143. Hartmen, C. G. First findings of tubal ova in the cow, together with notes on oestrus / C. G. Hartmen, W. H. Lewis // *The Anatomical Record*. – 1931. – № 48. – P. 267–275.

144. Hasler, J. F. Bovine Embryo Transfer: Are Efficiencies Improving? / J. F.

Hasler // *Appl. Reprod. Strateg. Beef Cattle.* – 2012. – № 5-6. – P. 363–376.

145. 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.

146. Hasler J. F. Factors influencing the success of embryo transfer in cattle / J. F. Hasler. – Canada, 2015. – 6 p.

147. Holt, W. V. Basic aspects of frozen storage of semen / W. V. Holt // *Anim. Reprod. Sci.* – 2000. – Vol. 62. – P. 3–22.

148. Kasimanickam, R. A Comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows / R. Kasimanickam // *Can. Vet. J.* – 2005. – Vol. 46, № 3. – P. 255–259.

149. Lamb, G. C. Donor and recipient factors affecting an embryo transfer program / G. C. Lamb // *Proceedings, Appl. Reprod. Strateg. Beef Cattle.* – 2005. – № 2. – P. 223–232.

150. Lamb, G. C. Donor and recipient management to optimize embryo technology success / G. C. Lamb, V. R. G. Mercadante, P. L. P. Fontes // *Appl. Reprod. Strateg. Beef Cattle.* – 2016. – № 7-8. – P. 197–209.

151. Facteurs de variation de la production d'embryons chez des vaches charolaises superovulées en région Bourgogne / P. Launere, J. Manière, S. Chastant, B. Gnmard // *Renc. Rech. Ruminants.* – 2001. – № 1. – P. 361–364.

152. Leibo, S. P. Cryopreservation of mammalian embryos: Derivation of a method / S. P. Leibo, J. M. Sztejn // *Cryobiology.* – 2019. – Vol. 4. – P. 86.

153. Likhoman; A. V. The results of implementation of cattle embryos transplantation / A. V. Likhoman, V. V. Usenko, A. O. Pustovaya // *Scientific journal of KubSau.* – 2016. – № 121(07). – P. 35.

154. Lim, H. J. Investigation of relation between the Ovulation Confirmation and Conception Rate in Dairy Cattle / H. J. Lim, H. B. Yoon // *J. Embryo Transf.* – 2018. – Vol. 33, № 2. – P. 55–59.

155. Embryo development in dairy cattle / P. Lonergan, T. Faira, N. Fordeb, D. Rizos // *Theriogenology.* – 2016. – Vol. 86. № 1. – P. 270–277.

156. Macmillan, K. L. Effect of anagonist of gonadotropin-releasing hormone on ovarian follicles in cattle / K. L. Macmillan, W. W. Thatcher // *Biol Reprod.* – 2015. – Vol. 45. – P. 883–889.

157. Mandawala, A. A. Cryopreservation of animal oocytes and embryos: Current progress and future prospects / A. A. Mandawala, S. C. Harvey, T. K. Roy // *Theriogenology.* – 2016. – Vol. 86, № 7. – P. 1637–1644

158. Mapletoft, R. History and Perspectives on Bovine Embryo Transfer / R. Mapletoft // *Animal Reproduction.* – 2013. – Vol. 10, № (3). – P. 168–173.

159. Mapletoft, R. J. Innovative strategies for superovulation in cattle / R. J. Mapletoft, G. A. Bó // *Anim. Reprod.* – 2013. – Vol. 10. – P. 174–179.

160. Melcher, Y. Degree of variation and reproducibility of different methods for the diagnosis of subclinical endometritis / Y. Melcher, I. Prunner, M. Drillich // *Theriogenology.* – 2014. – Vol. 82, № 1. – P. 57–63.

161. Metelo, R. Determination of pregnancy-associated glycoprotein (bPAG) in cow's milk / R. Metelo, F. Moreira da Silva, J. F. Beckers // 23 rd World Buities Congress. – 2004. – P. 75.

162. Mikkola, M. Embryo yield in dairy cattle after superovulation with Folltropin or Pluset / M. Mikkola, J. Taponen // *Theriogenology.* – 2017. – Vol. 88. – P. 84–88.

163. Mikkola, M. Factors affecting embryo production in superovulated *Bos taurus* cattle / M. Mikkola, J. F. Hasler, J. Taponen // *Reprod. Fertil. Dev.* – 2019. – Vol. 32, № 2. – P. 104–124.

164. Moore, S. G. A 100-Year Review: Reproductive technologies in dairy science/ S. G. Moore, J. F. Hasler // *Dairy Sci.* – 2017. – Vol. 100, №12. – P. 10314 – 10331.

165. Morotti, F. Ultrasonography in breeding of cattle and horses / F. Morotti, R. G. Gomes // *Biotechnology of Animal Reproduction.* – 2016. – № 1. – P. 79–103.

166. Morrell, J. M. Artificial Insemination: Current and Future Trends / J. M. Morrell // *Artificial Insemination in Farm Animals.* – 2012. – Chapter 1. – P. 1–14.

167. Morrow, C. J. Artificial insemination in deer and nondomestic bovids / C.

J. Morrow, L. M. Penfold, B. A. Wolfe // *Theriogenology*. – 2009. – Vol. 71. – P. 149–165.

168. Nabenishi, H. Conception rate of Holstein and Japanese Black cattle following embryo transfer in southwestern Japan / H. Nabenishi, F. Sugino // *Anim. Sci. J.* – 2018. – Vol. 89, № 8. – P. 1073–1078.

169. Ombelet, W. Artificial insemination history: hurdles and milestones / W. Omblet, J. Van Robays // *Facts, Views & Vision in ObGyn*. – 2015. – Vol. 7(2). – P. 137–143.

170. Pascottini, O. B. Holding immature bovine oocytes in a commercial embryo holding medium: High developmental competence for up to 10 h at room temperature / O. B. Pascottini, M. Catteeuw, A. Van Soom // *Theriogenology*. – 2018. – Vol. 107. – P. 63–69.

171. Pellegrino, C. A. G. Use of sexed sorted semen for fixed-time artificial insemination or fixed-time embryo transfer of in vitro–produced embryos in cattle / C. A. G. Pellegrino // *Theriogenology*. – 2016. – Vol. 86, № 3. – P. 888–893.

172. Perry G. A., Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers / G. A. Perry, M. F. Smith, A. J. Roberts, [et al.] // *J. Anim. Sci.* – 2007. – Vol. 85, №3. – P. 684–689.

173. Sakatani, M. Effects of heat stress on bovine preimplantation embryos produced in vitro / M. Sakatani // *J. Reprod. Dev.* – 2017. – Vol. 3. – № 4. – P. 63.

174. Wattiaux, M. A. *Reproduction and Nutrition* / M. A. Wattiaux; The Babcock Institute. – Madison, USA, 2007. – 121 p.

175. . Zhou Z. Circulating amino acids in blood plasma during the peripartal period in dairy cows with different liver functionality index / Z. Zhou, J. J. Loor, F. Piccioli-Cappelli [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2016. – Vol. 99. – № 3. – P. 2257–2267.