

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«Горский государственный аграрный университет»**

На правах рукописи

ХЕТАГУРОВА БЕЛЛА ТАЙМУРАЗОВНА

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГОРМОНАЛЬНОЙ ИНДУКЦИИ
ПОЛИОВУЛЯЦИИ КОРОВ-ДОНОРОВ РАЗНЫХ ПОРОД**

**06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных
животных**

**Диссертация на соискание учёной степени
кандидата сельскохозяйственных наук**

**Научный руководитель:
Заслуженный деятель науки РСО-Алания,
доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Мамукаев Матвей Николаевич**

Владикавказ, 2014

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	9
1.1. Исторические аспекты становления и развития метода трансплантации эмбрионов	9
1.2. Научно-производственное обоснование трансплантации эмбрионов в скотоводстве	21
1.3. Подбор коров-доноров по морфологическим показателям крови, органов размножения	32
1.4. Экономическая эффективность метода эмбриотрансплантации	39
2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	43
3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	48
3.1. Отбор коров-доноров для суперовуляции	52
3.1.1. Отбор по клиническим признакам	52
3.1.2. Кормление коров-доноров	55
3.1.3. Живая масса и молочная продуктивности	58
3.2. Морфологические и иммунобиологические показатели крови коров-доноров	67
3.2.1. Эритропоэз и тромбопоэз	68
3.2.2. Лейкограмма	71
3.2.3. Биохимические показатели коров-доноров	74
3.3. Методика извлечения и оценка качества эмбрионов	77
3.4. Качественный состав эмбрионов, у коров-доноров в зависимости от технологии искусственного осеменения	82
3.5. Морфологические показатели яичников коров-доноров при обработке гонадотропинами фертагил, хорулон, прогестерон	84
3.5.1. Исследования состояния яичников коров-доноров контрольной группы	86
3.5.2. Фолликулогенез коров-доноров при обработке фертагилом	88

3.5.3. Состояние яичников коров-доноров при обработке гонадотропином хорулон	90
3.5.4. Фолликулогенез коров-доноров при введении масляного раствора прогестерона	92
3.6. Показатели суперовуляции коров-доноров при обработке гормонами	93
3.6.1. Суперовуляция и эмбриопродуктивность коров-доноров контрольной группы	93
3.6.2. Суперовуляция коров-доноров при обработке гонадотропином фертагил	96
3.6.3. Суперовуляция коров-доноров при воздействии лютеинизирующим гормоном хорулон	99
3.6.4. Показатели суперовуляционной реакции коров-доноров при обработке масляным раствором прогестерон	102
3.6.5. Итоговые показатели суперовуляционной реакции коров-доноров при гормоностимуляции	105
3.7. Суперовуляция эмбрионов у коров-доноров гонадотропинами ФСГ-супер и фоллтропином	109
3.8. Жизнеспособность эмбрионов при криоконсервации	116
4. ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ КОРОВ-ДОНОРОВ И СТОИМОСТЬ ЭМБРИОПРОДУКЦИИ	121
4.1. Экономические показатели производства эмбрионов в племхозе «Осетия»	121
4.2. Экономические показатели производства эмбрионов в ООО «Ираф-Агро»	126
5. ВЫВОДЫ	133
6. ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ	137
7. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	138
8. ПРИЛОЖЕНИЯ	163

ВВЕДЕНИЕ

1.1 Актуальность темы. Успешное развитие отечественного животноводства возможно при рациональной организации воспроизводства стада, основанного на применении современных научных достижений в области генетики и биотехнологии. В молочном животноводстве для успешного развития важное значение имеет воспроизводство стада на основе организации селекционно-племенной работы, основанной на использовании современных технологий (Баранов Н.С., 2001; 2002; Гавриченко Н.И., 2000; Жук Н.Ф., 1993; Бащенко Н.С., 1999; Будевич Н.И., 1994; Воробьев Д.Н., 1999; Шевелуха В.С. и др., 2003; Середин В.А., 2004; Мамукаев М.Н. и др., 2013).

Развитие молочного скотоводства, зависит от обеспечения максимальной молочной продуктивности поголовья коров, в котором важное значение имеет организация воспроизводства стада на высоком технологическом уровне, своевременное плодотворное осеменение (Середин В.А., 2004; Будевич И.И. и др., 1994; Леткевич Л.Л., 1993), основанное на современных технологиях с использованием спермы быков высокого качества, являющееся важнейшим приемом в плане использования генетического потенциала высокопродуктивных популяций крупного рогатого скота (HallapI. et.al., 2004; Devkota V. E. et.al., 2008; Me. ParlandS. E. et.al., 2010; Баранова Н.С., 2001; Бащенко Н.С., 1999; Завертяев Б.П., 1989; Квасницкий А.В., 1988; Шевелуха В.С. и др., 2009).

В селекции крупного рогатого скота особое значение имеет биотехнология воспроизводства. В яйчниках коров содержится большое количество половых клеток - генетических резервов, что позволяет ускорить воспроизводство крупного рогатого скота на основе использования метода биотехнологии-трансплантации эмбрионов и производства телят-

трансплантантов, обладающих высокоценными племенными и продуктивными качествами.

В связи с вышеизложенным, производство жизнеспособных эмбрионов и внедрение метода трансплантации имеет важное значение для развития скотоводства, не только в экономическом плане, но и в биологическом – для повышения генетического потенциала отечественного молочного скотоводства, что определяет актуальность настоящего исследования. Учитывая вышеизложенное, нами проведены исследования, которые являются разделом научных исследований НИИ аграрной экологии Горского ГАУ «Создание высокопродуктивных стад сельскохозяйственных животных на основе селекции, полноценного кормления и нетрадиционных технологий» (Госрегистрация №01870088906).

1.2. Цель и задачи исследований. Целью исследований явилась разработка мероприятий по производству высококачественных эмбрионов для трансплантации в молочном скотоводстве.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- разработать систему мероприятий по отбору коров-доноров для производства высококачественных эмбрионов по морфологическим показателям крови, физиологическому и клиническому состоянию;
- обосновать систему ультразвуковой диагностики морфологии яичников;
- изучить влияние технологии искусственного осеменения коров-доноров на показатели суперовуляции и качество эмбрионов;
- установить эффективность применения разных гормональных препаратов на эмбриопродуктивность коров-доноров и качество эмбрионов от первотелок и половозрелых коров айрширской и черно-пестрой пород;
- определить влияние криоконсервации на показатели качества эмбрионов;

- обосновать экономическую целесообразность технологии производства эмбрионов для трансплантации от разных пород.

1.3. Научная новизна исследований состоит в том, что впервые проведен мониторинг выбора коров-доноров разных пород с учетом морфологических показателей крови, физиологического и клинического статуса организма. Разработан способ ультразвуковой диагностики и повышения суперовуляционной реакции путем подбора гонадотропинов для коров-доноров разных пород. Определены показатели суперовуляции и качества эмбрионов при применении разных гормональных препаратов, разработана оптимальная биотехнология искусственного осеменения, изучено влияние криоконсервации на качество эмбрионов от первотелок и полновозрастных коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород и дана экономическая оценка производства эмбрионов для трансплантации.

1.4 Практическая значимость работы определена факторами, лежащими в основе эффективности применения гипофизарных гонадотропных препаратов с целью интенсификации показателей суперовуляции, производства эмбрионов для трансплантации. Обоснована необходимость ультразвуковой диагностики состояния яичников коров-доноров, как элемента биотехнологии воспроизводства эмбрионов, определены клинические, морфологические и физиологические показатели доноров - первотелок и полновозрастных коров айрширской и черно-пестрой породы, дана оценка качества эмбрионов при разных способах искусственного осеменения и их жизнеспособности до и после криоконсервации.

Внедрение в производство результатов исследований позволит повысить эмбриопродуктивность коров-доноров и качество эмбрионов, которые являются важными факторами интенсификации репродуктивной активности высокого селекционно-генетического потенциала коров молочных пород.

Материалы диссертационной работы используются при чтении лекций и проведении лабораторно-практических занятий по специальностям бакалавриата 111100 «Зоотехния», 111802.65 «Ветеринария», 110900.62 «Ветеринарно-санитарная экспертиза», по направлению магистратуры 110900.68 «Ветеринарно-санитарная экспертиза».

1.5 Апробация результатов исследований. Результаты исследований доложены и одобрены на студенческих конференциях ФГБОУ ВПО «Горский государственный аграрный университет» (г. Владикавказ, 2009-2014гг); II этапе конкурса научных работ молодых ученых, аспирантов и студентов Министерства сельского хозяйства РФ (г. Махачкала, 2013г.); заключительном III этапе научных работ молодых ученых, аспирантов и студентов Министерства сельского хозяйства РФ (г. Москва, 2013), на международных научно-практических конференциях (г. Владикавказ 2010-2014), на международной научно-практической конференции молодых ученых в решении актуальных проблем науки (г. Владикавказ, 2014г.), заседаниях кафедры инфекционных и инвазионных болезней животных ФГБОУ ВПО «Горский государственный аграрный университет» (2010-2014); межкафедральном заседании факультетов ветеринарной медицины и ветсанэкспертизы, и технологического менеджмента (г. Владикавказ, 2014г.).

1.6 Основные положения работы, выносимые на защиту:

- отбор коров-доноров из первотелок и полновозрастных коров айрширской и черно-пестрой пород по состоянию половых органов, клиническому статусу, физиологическому состоянию и морфологическим показателям крови;
- ультразвуковое сканирование морфологического состояния яичников при применении разных лютеинизирующих гонадальных препаратов;
- эффективность способов производства эмбрионов для трансплантации по показателям качества;
- суперовуляционная реакция коров-доноров при искусственном осеменении разными способами;

- влияние криоконсервирования эмбрионов, полученных от коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород на их жизнеспособность и качество;
- экономическое обоснование производства эмбрионов от коров-доноров разных возрастных групп и пород.

1.7 Личный вклад соискателя заключается в подготовке этапов производства эмбрионов у коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород, участии в организации и проведении исследований клинического состояния подопытных доноров, морфологических данных крови, обработке коров-доноров гонадотропными препаратами, в исследованиях состояния яичников методом ультразвукового сканирования, организации искусственного осеменения коров-доноров, проведении исследований по определению жизнеспособности эмбрионов до и после криоконсервации и работа по статобработке и оформлению диссертационной работы.

1.8 Публикации. По теме диссертации опубликовано 10 работ, из которых 5 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в которых отражены основные научные положения. Общий объем публикаций 1,5 п.л., из которых 0,8 п.л. принадлежат лично автору.

1.9 Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, материалов и методик исследований, результатов исследований, выводов, предложений производству и приложений. Список использованной литературы содержит 221 источник, из которых 40 иностранных авторов. Диссертация изложена на 174 страницах компьютерного текста, содержит 41 таблицу, 2 приложения.

1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Исторические аспекты становления и развития метода трансплантации эмбрионов

Научно-технический прогресс существенно влияет на характер и направление развития агропромышленного комплекса, где непрерывно возрастает роль и значение внедрения научных достижений при разработке и реализации различных технологий и отдельных элементов производства сельскохозяйственной продукции.

Это в полной мере относится и к скотоводству – ведущей отрасли животноводства. Характерным для его развития является то, что темпы увеличения производства молока и мяса значительно опережают рост численности скота. Современное скотоводство в ведущих странах Европы, США и Канады характеризуется динамичными структурными изменениями в численности поголовья. В России с 1991 года наметилось устойчивое сокращение общего поголовья и доли молочных коров, но одновременно при этом возросла продуктивность, и общее производство продукции осталось практически стабильным (Лебедев В.И. и др., 2005; Баева З.Т. и др., 2011; Бородин Э. и др., 2000; Газетдинов М., 2002).

По существу, скотоводство стало приобретать экстенсивные формы ведения (Левантин Д.Н., 1995; Гуляева Т. и др., 2002; Тезиев Т.К. и др., 2008; Козырев С.Г. и др., 2011), однако сложившаяся, на протяжении 20 лет, обстановка в скотоводстве, вызывает большую тревогу и озабоченность, требует серьёзного анализа и принятия целого комплекса организационных, экономических, технологических и морально-психологических мер (Середин В.А.. 2004; Солдатов А.П. и др., 1990; Стрекозов Н.И., 2002; Тедтова В.В., 2009; Темираев Р.Б. и др., 2005; Эрнст Л.К., 2001).

Во многом ситуация обусловлена неудовлетворительным состоянием воспроизводства крупного рогатого скота. Согласно статистическим данным за последние годы в животноводческих хозяйствах Российской Федерации, выход телят на 100 коров снизился с 83-85 до 69-70 гол, более того, в отдельных хозяйствах не превышает 60%, а в одной четвертой части хозяйств – даже 50% (Шубин А.А. и др., 1993; Мысик А.Т., 2003; Бабенков В.Ю., 2004; Будевич А.И. и др., 2010; Гавриченко Н.И., 2000; Грига Э.Н., 2000), что препятствует расширенному воспроизводству маточного поголовья, а следовательно наращиванию генетического потенциала и молочной продуктивности (Мысик А.Т., 2003; Стрекозов Н.И., 2002; Стрекозов Н.И. и др., 2002; Гуляева Т. и др., 2002; Газетдинов М., 2002; Баймишева Т., 2002; Медведев С.М. и др., 2001; Попов Н.А. и др., 2005; Катков Л.А. и др., 2001).

Данное положение является следствием разрыва между современным состоянием науки и профессиональным уровнем специалистов сельхозпредприятий и районного звена, задача которых должна заключаться, в своевременном выявлении у животных болезней органов размножения лечения с использованием современных методов и схем, научно-обоснованном применении биотехнических средств коррекции половой функции (Жук Н.Ф. и др., 2002; Решетникова Н.М. и др., 2004; Кыса И.С., 2000; Будевич А.И. и др., 2010; 2005; Грига Э.Н., 2000; Полянцев Н.И., 1997; Полянцев Н.И. и др., 2004). Однако есть и не до конца выясненные объективные причины чисто биологического характера. Это подтверждает то, что в странах с высокоразвитой технологической культурой молочного скотоводства, низкая плодовитость-главная проблема (Drost M. et.al., 1999; Cartmill J. et.al., 2001; Pancarci S. et.al., 2002).

При анализе причин неудовлетворительного состояния воспроизводства крупного рогатого скота в нашей стране у 37-66% бесплодных коров диагностировала ту или иную патологию органов размножения (Полянцев Н.И. и др., 2004; Байтлесов Б.У. и др., 2007; Будевич А.И. и др., 2005; Грушевский И.Ю. и др., 2011; 2013; Жаров А.В. и др., 1995;

Ибрагимова Ш.А. и др., 2009; Муравина Е.С., 2012; 2013; Полянцев Н.И. и др., 2000; Конопельцев И.Г. и др., 2013; Bonett V. et.al., 1993). Данная закономерность свойственна всем современным технологиям содержания и эксплуатации животных (Landsverk K. et.al., 1988).

Современные технологии, применяемые в животноводстве, связаны с рядом воздействующих на животных стресс-факторов, отличающихся по характеру, мощности и продолжительности (Газетдинов М., 2002; Грушевский И.Ю., 2013; Смирнова Б.А. и др., 2013; Темираев Р.Б., 2009). Высокий уровень экстремальных воздействий на животных приводит к функциональным нарушениям, в том числе и нарушениям репродуктивной функции более чем у 30% коров после отела, регистрируют задержание последа и другие патологии органов размножения (Конопельцев И.Г. и др., 2013; Смирнова Е.В., 2013; Полянцев Н.И., 1997; 2004; Насибов Ф.Н., 2008; Esslemont D. et.al., 2002; Sheldon J. et.al., 2004; Bonnett V. et.al., 1993).

Для животноводческой отрасли являются актуальными исследования, которые направлены, одновременно, как на совершенствование норм кормления, содержания и эксплуатации коров, так и на совершенствование воздействий биологически активными веществами и гормональными регуляторами с целью профилактики и нормализации нарушений обменных процессов и репродуктивной функции. Причем, особую актуальность приобретают вопросы разработки и производства новых комплексных препаратов и методик их применения в послеродовой период при параллельном проведении изучения патологии воспроизводительного статуса, влияния факторов внешней среды (с учетом зональных особенностей) на получаемые в ходе исследований показатели (Баева З.Т., 2011; Мовсаров Х.Д., 2006; 2007; 2008; Насибов Ф.Н. и др., 2008; Темираев Р.Б. и др., 2009; Цалиев Б.З., 1999; Эфендиев Б.Ш., 2009; 2011; 2012).

При биотехнологическом контроле воспроизводительной активности выделяют три физиологических периода: раздоя и осеменения, дородовой и постродовой.

В дородовой период биотехнический контроль направлен на нормализацию иммунного статуса и метаболического профиля; в послеродовой период-на ускорение подготовки органов репродуктивной системы к очередному циклу воспроизведения активации функции яичников. В период раздоя и осеменения биотехнический контроль играет роль устранителя дисфункции яичников, коррекции сроков осеменения, повышения оплодотворяемости. Трансплантация эмбрионов используется для интенсивного получения потомства от ценных в генетическом отношении самок.

Эмбрионы можно хранить при определенных условиях *in vitro* от 4-48 часов. Разработанный метод криоконсервации эмбрионов дает возможность продлить «хранение генов» практически неограниченно, что обеспечивает реализацию долгосрочных генетических программ благодаря воспроизводству нужного генофонда в любое время (Катков Л.А. и др., 2001; Попов Н.А. и др., 2000; 2005; Завертяев Б.П. и др., 2000; Букаров Н.Г., 2001).

В современных условиях наибольший процент занимают эндометриты и функциональные нарушения яичников, определяющие широкое распространение симптоматического бесплодия. Здесь на первый план может выступать гиподисфункция яичников (22%), на второй-персистентность желтых тел (16,1%); меньший процент приходится на кисты яичников, еще меньше - оофориты, сальпингиты и др. (Жаров А.В. и др., 1995; Шириев В.М. и др., 1996; Фенченко Н.Г. и др., 1997; Грига Э.Н., 2000). Таким образом, перечисленные и другие нерешенные проблемы воспроизводства наносят скотоводству огромный экономический ущерб.

Явление нежелательных рецессивных генов при трансплантации становится более доступным, и не будет требовать большого времени, что приведет к элиминации нежелательных генов из популяции сельскохозяйственных животных. На стадии внедрения в практику такие важные приемы, как определение пола эмбрионов до их трансплантации, разрабатываются методы культивирования ооцитов вне организма и их

последующего оплодотворения *in vitro* в яйцеводе других самок того же или другого вида. Особые возможности открываются для получения клонов животных методами генной инженерии и Т-ядер. Эти и другие известные достижения в области трансплантации эмбрионов уже сейчас превзошли ожидаемые эффекты, как в теоретическом, так и в практическом плане.

Регуляция генеративной функции яичников, в т.ч. и как элемента метода трансплантации, на основе применения гормональных средств не дает на практике прогнозируемой эффективности из-за широкого распространения у коров в послеродовой период и период лактации эндометритов. До 70-80% коров переболевают послеродовыми эндометритами.

В этой связи, применение средств локального воздействия на матку, рассматривают как неотъемлемый элемент биотехнических мероприятий антибиотиков и химиотерапии, используемые при традиционном лечении, экологически небезопасны. При этом ограничивается использование мяса и молока в период лечения и после него. Присутствие ингибиторов в молоке приводит к большим материальным потерям на предприятиях перерабатывающей промышленности вследствие ухудшения его качества, выбраковки сборного молока, потерь при производстве кисломолочной продукции (сыров, творога и т.д.) к снижению сортности молока и продуктов его переработки. Если сложить перечисленные убытки и ущерб от временного недополучения продукции, расходов на медикаменты при традиционных методах лечения, то получается значительная сумма потерь (Андреев Г. и др., 2001, Насибов Ф.Н. и др., 2014; Панкратова А.В. и др., 2014). Это диктует необходимость поиска новых экологически безопасных средств (Эрнст Л.К., 2001). Приемлемое решение этих проблем в животноводстве – применение низкоэнергетического лазерного излучения. В 90-х годах лазерная техника стала применяться в животноводстве (Андреев Г. и др., 2001; Мамукаев М.Н., 2013). Существует множество модификаций лазерной аппаратуры как отечественного, так и зарубежного производства,

начиная от терапевтических лазеров для облучения биологически активных точек на теле больных до хирургических аппаратов, с помощью которых можно коагулировать ткани (Тезиев Т.К. и др., 2008; Оказов Т.А., 2009).

Исследования последних лет показали, что при современных технологиях эксплуатации коров, при значительно возросшей их генетически запрограммированной молочной продуктивности, происходит увеличение случаев эмбриональных потерь. Установлено, что от 7,0 до 38,0% потерь стельностей происходит между 28-98-и днями эмбрионального развития (Smith M. et.al., 1995; Warnick W., 1999). Вместе с тем, наибольшее число эмбриональных потерь происходит спустя 6-7 дней после осеменения. В этой связи большой объем исследований посвящают изучению причин ранней эмбриональной смертности, происходящей перед периодом материнского распознавания беременности, и несколько меньше современных работ рассматривают проблему поздней эмбриональной и ранней фетальной гибели. Во многих исследованиях акцентировали внимание на эмбриональной смертности у повторно осеменённых коров; исследованы и описаны потенциальные факторы и возможные причины ранней эмбриональной смертности у субфертильных молочных коров. Целый ряд ученых приходит к выводу, что для выполнения программ по воспроизводству поголовья главное внимание должно быть сфокусировано на решении задач по проблемам ранней эмбриональной смертности. В этом отношении ультрасонография, как новый метод исследований заслуживает самого пристального внимания. Ультразвуковая технология исследований оказалась нужной почти в каждом аспекте репродуктивной физиологии животных. Использованием ультрасонографии можно диагностировать стельность на самых ранних этапах развития, т.е. намного раньше используемого ранее и в настоящее время ректального исследования. Стало возможным наблюдать процесс эмбриогенеза и развитие плода в динамике, вести и анализировать иллюстративные записи или изображения всего процесса беременности. Визуализация фолликуло и оогенетических

процессов в яичнике, запечатленная в видеозаписи или электронных изображениях, стала весьма ценным инструментом в исследованиях для понимания процессов циклической функции яичников в норме и патологии других видов животных (Седлецкая Е.С. и др., 2011; 2012; 2013).

Известно, что продуктивные качества животного, в т.ч. и признаки воспроизводительной способности являются результатом взаимодействия генотипа и условий среды. Поскольку наследуется не готовый признак, а уровень реагирования, то проявление хозяйственно-полезных признаков обуславливается в значительной мере окружающей средой, в которой выращивают и содержат животных (Foote R., 1996). Это обстоятельство определяет основополагающий методологический принцип физиологии-неразрывное единство организма и внешней среды. Следовательно, для повышения эффективности биотехнических мероприятий по регуляции репродуктивной функции необходим постоянный учет состояния воспроизводительной активности поголовья, но главное-специфики внешних причин, лежащих в основе снижения репродуктивного статуса. Учитывая, что на каждый период развития отрасли скотоводства репродуктивный статус и характер причин его снижения не одинаковы, исследования в этом направлении всегда актуальны и являются первоочередными (Жук Н.Ф. и др., 2003; Решетникова Н.М. и др., 2004; Кыса И.С., 2000; Бабенков В.Ю., 2004; Кононенко С.И. и др., 2011; 2010).

Трансплантация эмбрионов – биотехнологический метод ускоренного воспроизводства высокопродуктивных животных, осуществляемый путем извлечения эмбрионов из рогов матки выпадающей по продуктивности самки донора и переноса их в организм коров-реципиентов. Донор является поставщиком эмбрионов, а вынашивают их другие самки, при этом теленок-трансплантат наследует только генетические свойства отца к матери - донора, а реципиент (как инкубатор) не оказывает влияние на наследственность приплода.

Гормональный метод вызывания множественной овуляции (суперовуляции) разработан в 1930-1935 годах российскими учеными (Завадовский М.М., 1963, Панкратова А.В. и др., 2014). В период с 1949-го по 1952 год А.И. Лопырин осуществил на овцах около 200 пересадок зигот.

В опытах (Квасцницкого А.В. и др., 1988) установлено, что животные, полученные путем трансплантации, полностью сохраняют наследственные признаки родителей, отмечено, что лучшую приживляемость имеют зиготы, раздробившиеся на несколько бластомеров (Яблонский В.А., 1988). Начало широкого практического применения способа ТЭ относится к 1970-м годам. В 1973 году Wilmut, Rowson в Кембридже получили первого теленка после трансплантации эмбриона, замороженного при -196°C в жидком азоте. Замораживание стало выгодной методикой консервирования эмбрионов крупного рогатого скота. В 1981 году Willadsen, Polge получили первых в мире идентичных близнецов из разделенного эмбриона (половинки): у коров пересажено 28 половинок, прижилась- 21, или 75%. В настоящее время уже получено 46 близнецов из четвертых частей зародышей. В США и Канаде к 1987 году осуществляли до 130 тысяч эмбриопересадок в год. Наибольший размах получила эта работа в США, Канаде, Англии, Германии, Франции, Ирландии, Австрии, Дании.

В России первого теленка-трансплантанта получили в 1977 году в Калужской области. Эти работы проводились во Всесоюзном НИИ физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных, затем АО Всесоюзном НИИ животноводства и Всесоюзном НИИ разведения и генетики животных. В ВИЖе отрабатывались вопросы стимуляции овуляции, техники вымывания и ТЭ, оценки их качества, глубокого охлаждения, организации процессов трансплантации. Во ВНИИРГЖе исследования были сосредоточены на проблеме извлечения ооцитов из яичника, их созревания, оплодотворения и раннего развития *in vitro* (в пробирке). На Украине в НИИЖ лесостепи и Полесья УССР, Украинском НИИ разведения и

искусственного осеменения крупного рогатого скота и в других научных учреждениях.

С 1983 года началось создание центров по ТЭ. Было создано около 20 центров, а затем их стали организовывать на производстве в Московской, Тульской, Харьковской областях, в КБР- при совхозе «Нальчинский» в 1988 году. При некоторых центрах ТЭ организованы банки эмбрионов (Эрнст Л.К., 1985; Середин В.А., 2004).

Применение общепринятых методов воспроизводства крупного рогатого скота – одноплодного вида животных – не исключает проявление многоплодия. Под многоплодием понимают одновременное получение от коровы не менее двух телят. Большинство многоплодных отелов – это рождение двоен. В отдельных случаях регистрируется рождение трех и более плодов; тройни – 1 на 10 тыс. отелов, четверни – 1 на 600 тыс. отелов (Завертяев Б.П., 1987).

Многоплодная стельность у коров и телок может быть результатом одновременного созревания и овуляции нескольких овариальных фолликулов (полиовуляция) или одного когда зигота на ранних стадиях развития разобщается на две части, которые развиваются самостоятельно в отдельные плоды (полиэмбриония). В итоге появляются монозиготные (однойцовые) близнецы, которых одного пола, генетически и фенотипически очень схожи.

Из средовых факторов, влияющих на проявление у коров предрасположенности к многоплодию, определены только сезон года и условия кормления. В европейской части России наименьшая частота многоплодных отелов отмечается в январе-феврале и максимальная – в марте-апреле. Круглогодичное полноценное кормление способствует более полной реализации наследственных задатков многоплодия у коров (Шириев В.М., 2002; Гавриков А. и др., 1997; Еремина М.А., 2002; Жук И.И. и др., 1993; 1999; Кинзеев В.Н., 1998; Насибов Ф.Н. и др., 2008; Бугров О.Д. и др., 1994).

Поскольку многоплодие у крупного рогатого скота – достаточно выраженный породный признак, то число двойневых отелов в определенной степени можно регулировать выбором той или иной породы. В отличие от частоты многоплодия удельный вес многоплодных коров значительно выше (9,4-17,5%) (Валюшкин К.Д. и др., 1997). Даже с учетом высокой стабильности признака (коэффициент межлинейной вариации многоплодия составляет 5-9% (Смирнов В.Н., 1990), тем не менее, в ходе генеалогического анализа, многие исследователи (Левченкова В.П. и др., 1990; Stolzenburg U. et.al., 1990; Stolzenburg U. et.al., 1988; Баранова Н.С., 2001; 2002) выявили родственные группы коров с многочисленными проявлениями многоплодных отелов среди потомства коров с двойневыми отелами, число дочерей, отелившихся двойнями, в 1,9-2,5 раза больше, чем в потомстве коров, не имевших двоен (Morris C.A. et.al., 1991).

В современной селекционной работе с крупным рогатым скотом решающее значение имеет отбор быков-производителей по племенным качествам и широкое их использование в технологии искусственного осеменения. В популяциях различных пород выявлены производители, у дочерей которых частота двойневости составляла 8-14%. Ряд исследователей обоснованно (Середин В.А., 2004; Завертяев Б.П., 1987) предлагают, как наиболее эффективный, гомогенный подбор родительских пар, т.е. коров из семейств и линий с высокой повторяемостью многоплодных отелов и быков с высокой частотой многоплодия в их потомстве (Антипова Н.С., 2001; Квасницкий А.В. и др., 1988; Лазаренко Н.А. и др., 2002; Бащенко В.Н., и др., 2005; Жекамухов и др., 1999; Paurik P. et.al., 2004; Hallap I. et.al., 2004; Devkota V.E. et.al., 2008).

При широкомасштабном эксперименте по селекции на многоплодие (Gregory K.E. et. al., 1990; Echternkamp S.E. et. al., 1990), были задействованы быки различных пород (шведская фризская, норвежская красная, пинцгауэр, шароле), дочери которых давали 8-10% двоен, и коровы, отелившиеся двойней один-два раза. Установлено, что у полученного от этого подбора

потомства в среднем за 2,2 отела частота двойневыости достигла 9%. В аналогичном эксперименте, проводимом в Новой Зеландии (Morris C.A. et.al., 1990), коровы фризской, симментальской, джерсейской пород были распределены на две группы: в первой животные два и более раз отелившиеся двойней, у животных второй группы случаев многоплодия не было. В последующий подконтрольный период частота рождения двоен у животных этих групп составляла 9,7 и 0,9%. Коровы осеменялись спермой быков, потомство которых отличалось повышенной частотой рождения двоен. У дочерей коров первой группы двойни родились в 10,8% случаев, у дочерей второй группы не зафиксировано ни одной двойни. Схожие результаты (11,4%) были получены в опытах ВИЖа на коровах швицкой породы (Кинзеев В.Н., 1998; Гавриков А.М., 1995) и других животноводческих объектах (Бабенков В.Ю., 1993; 1998; Бащенко М.И., 1999; Бекмурадов М., 1990; Жук Н.Ф., 1999).

Для снижения изменчивости интервала между введением гонадотропина и началом охоты вызывание многоплодия проводили в синхронизированный прогестероном или гестагенами половой цикл (Mulvehill P. et.al., 1997), а сочетание инъекций прогестерона с последующим введением СЖК вызывало многоплодие у 31% обработанных коров. Обработка мясных коров ГСЖК (600-750 МЕ) после гестагенной синхронизации повышала оплодотворяемость на 10%, частоту многоплодия - на 10% и выход телят - на 20% (Riha J., 1986). Применение на 10 день цикла четырехкратные с интервалом 12 час. инъекции препарата ФСГ-Б (700 МЕ) или однократную инъекцию СЖК (2000 м.е.) с последующим введением, соответственно на 11 или 12-ый день, простагландина F₂α (Коронец И.Н., 1991). Другой автор применял на телках случного возраста коммерческие препараты гипофизарного ФСГ: фолликотропин (240 МЕ), ФСГ-п (25 мг) и фоллитропин (680 ЕД) в комплексе с простагландином. После инъекций фолликотропина и ФСГ-п оплодотворяемость составила 75%, фоллитропина - 55,5%, многоплодная стельность вызвана у 50% оплодотворившихся телок,

обработанных ФСГ-п, у 80% - фоллитропином и 66,7% - фолликотропином (Гавриченко Н.И., 1997).

Несмотря на очевидный эффект, предлагаемые способы гормональной стимуляции пока не нашли широкого применения в практике скотоводства. Основным препятствием является неизбежная вариабельность по числу вызванных овуляций в ответ на введение гонадотропинов (Гавриченко Н.И., 1997; Коронец И.Н., 1991; Журбенко А.М., 1983; Гавриченко Н.И., 1997). Так, инъекции ФСГ в дозе 6,2 мг позволили индуцировать у коров в среднем 2,2 овуляции с колебаниями от 1 до 6. При введении 800 МЕ СЖК овуляторная реакция яичников варьировала в пределах от 1 до 5. Следовательно, в случае оплодотворения выделенных яйцеклеток возникают нежелательные стельности более, чем двумя плодами. При вынашивании трех плодов частота абортс достигает 60% (Журбенко А.М., 1983), четырех - 83%. Позитивный исход трех- и более плодных стельностей часто сопряжен с большим отходом телят в постнатальный период (Гавриченко Н.И., 1997). Также недостатком гормонального метода является не подконтрольность месторасположения вызванных овуляций; двойневая стельность чаще отмечается и сохраняется при овуляции в обоих яичниках, а не в одном (Коронец И.Н., 1991).

До середины 70-х годов в основном применяли хирургические пересадки эмбрионов, обеспечивая доступ к маточным рогам реципиента рассечением брюшной полости по белой линии или по боковой линии в области голодной ямки (Сергеев Н.И. и др., 2004). Хирургическая трансплантация эмбрионов характеризуется высокой степенью их приживляемости и дальнейшего развития в полости матки реципиентов. Согласно сообщениям ряда исследователей (Reid J.P. et.al., 1986; Neumann C. et.al., 1988), после билатеральной пересадки (по одному эмбриону в каждый рог матки) стельными оказались 45-76% реципиентов, из которых двойневые стельности диагностированы у 50-71%. Пересадка предварительно осемененным реципиентам дополнительного эмбриона в контралатеральный

рог (противоположный рогу, на стороне которого в яичнике имеется желтое тело) приводила к стельности 59-75% животных, из них 60-73% были стельными двойней (Neilen M. et.al., 1989; Riha J., 1984). Тем не менее хирургические пересадки эмбрионов в скотоводстве ввиду сложности проведения, больших материальных затрат и послеоперационных осложнений в настоящее время практически не применяются.

В практике скотоводства более приемлемой оказалась процедура нехирургической эмбриотрансплантации. Для ее проведения наиболее часто используется катетер Кассу. Под ректальным контролем катетер, с находящейся в нем пайеттой с эмбрионом, проводят через цервикальный канал глубоко в рог матки ближе к его верхушке и, нажатием на шток, выталкивают эмбрион вместе со средой в просвет рога матки реципиента.

1.2. Научно-производственное обоснование трансплантации эмбрионов в скотоводстве

Трансплантация эмбрионов применяется в селекционно-племенных программах как метод ускоренного размножения выдающихся животных по материнской линии. Применение этой технологии может стать надежным способом получения двоен в скотоводстве, так как 40-60% коров способны за одну стельность обеспечивать нормальное развитие двух телят без ущерба для своего здоровья. Получение телят-трансплантантов технологически объединяет целый ряд последовательно проводимых операций, отбор коров-доноров и реципиентов эмбрионов, гормональное вызывание суперовуляции у доноров, извлечение, поиск и оценка эмбрионов, подготовка реципиентов к пересадке, пересадка эмбрионов реципиентам и контроль за последними вплоть до установления стельности или прихода в охоту. При отборе коров-доноров, прежде всего, руководствуются их племенной ценностью, которая складывается из оценки собственной молочной продуктивности, племенной ценности родителей и, по возможности, качества потомства, а так же могут

дополнено учитываться, породность, экстерьер, тип конституции, морфофункциональные свойства вымени, резистентность, воспроизводительные качества (Гавриков А.М. и др., 1994; Мадисон В.Л., 1993). Однако прогнозирование индивидуальной реакции яичников доноров и выхода эмбрионов на основе селекционных признаков не представляется возможным (Grandke R. et.al., 1990). В первую очередь эффективность метода суперовуляции определяется физиологическим и морфологическим состоянием половых органов, преимущественно яичников, потенциальных доноров. В значительной степени сказывается состояние половой системы в предшествующем послеродовом периоде (Ситниченко Н.В., 1994). Коровы с выраженными гинекологическими заболеваниями к использованию для получения эмбрионов допускаются только после нормализации воспроизводительной функции, а при необратимых патологиях в половых органах - исключаются (Мадисон В.Л. и др., 1993; Будевич И. И. и др., 1996). Хороших результатов можно ожидать, когда к моменту инъекции гонадотропина (9-11 дни полового цикла) у коровы в одном или в каждом яичнике функционирует желтое тело диаметром 1,0-1,5 см (Шеремета В.И., 1996).

У бесплодных коров с установленными и неустановленными причинами бесплодия реакция яичников на гонадотропин низкая (около 6 овуляций на донора) и неудовлетворительная оплодотворяемость яйцеклеток (1,0-1,2 на донора) (Эрнст Л.К. и др., 1989). Эмбриопродукция у коров после шестой лактации, а также по мере увеличения времени от отела снижается, очень часто негативно сказываются запуск лактирующего животного, ожирение его или истощение (Слесарев И.К. и др., 1995; Гавриков А. и др., 1997). Поэтому привлечение в качестве доноров малого числа высокопродуктивных выбракованных коров, особенно проблемных по воспроизводству, может привести к сужению базы разведения и снижению селекционного эффекта трансплантации. Во избежание этого необходимо привлекать коров селекционного ядра в качестве разовых доноров на

протяжении сервис-периода. У таких животных вызывают суперовуляцию не ранее 60-го дня после отела (Будевич И. И. и др., 1996), а при высоких суточных удоях (более 35 кг) еще на 30-45 дней позже. Коров, после курсов их лечения по причинам длительного хронического эндометрита или кист яичников, использовать как доноров нецелесообразно ввиду очень низкого выхода качественных эмбрионов. Период от вымывания эмбрионов до плодотворного осеменения у разовых доноров составляет в среднем 63,5 дня (7–204 дней), сервис-период удлиняется в среднем на 50 дней (Бугров О.Д. и др., 1994).

Наиболее важным этапом в технологии эмбриотрансплантации является гормональное вызывание суперовуляции, создающее предпосылки для одновременного получения большого числа эмбрионов от донора. Согласно методическим рекомендациям (Деряженцев В.И. и др., 1998), это достигается за счет регламентированных по времени и дозам внутримышечных инъекций, начиная с 9-11 дня полового цикла, гипофизарных гонадотропных гормонов (ФСГ+ЛГ) или гонадотропина сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) в сочетании с простагландином F_{2a} и другими биологически активными веществами. Из общего количества гормонально обработанных коров положительный суперовуляторный ответ (3 и более овуляций) удается получить примерно у 80-85% доноров (Будевич И.И., 1992; Бабенков В.Ю., 1998). Оптимальными показателями у донора считают 10-15 овуляций, оплодотворяемость 70-80% яйцеклеток и, после извлечения, выход пяти-шести пригодных к использованию эмбрионов (Мадисон В.Л. и др., 1993; Ибрагимова Ш.А., 2009). Фактически у коров-доноров, даже при использовании одинаковых доз стандартных гонадотропных препаратов, число вызванных овуляций колеблется от 0 до 50, извлеченных эмбрионов - от 0 до 38, жизнеспособных эмбрионов - от 0 до 30 (Мадисон В.Л. и др., 1993).

Высокая вариабельность и непредсказуемость как по числу овуляций, так и количеству и качеству извлеченных эмбрионов у коров-доноров, с

учетом неудачных осеменений и извлечений и, особенно, минимального индекса овуляций, создают трудности в планировании программы пересадок эмбрионов, ведут к существенному повышению затрат на трансплантацию (Мадисон В.Л., и др., 1993). В связи с этим большое внимание при отборе и подготовке животных к получению эмбрионов уделяется факторам, влияющим на эффективность метода суперовуляции.

По мнению ряда авторов (Мадисон В.Л. и др., 1993; Завертяев Б.П., 1989), основной причиной высокой вариабельности реакции суперовуляции и выхода полноценных эмбрионов является большое разнообразие популяции фолликулов в яичниках коров перед гормональной обработкой. Преантральные фолликулы, имеющиеся в начале гормональных обработок, не могут расти до преовуляторного состояния. Ранние атретические фолликулы без овуляции лютеинизируют или продолжают расти, образуя кисты. Лишь наличие достаточного числа малых антральных фолликулов (диаметр 1-3 мм), чувствительных к экзогенным гонадотропинам, обеспечивают соответствующий уровень суперовуляции (Мадисон В.Л. и др., 1993; Завертяев Б.П., 1989; Хохрин С.Н., 2003). Крупные по размеру фолликулы (диаметр 7-10 мм и более) снижают способность к дальнейшему росту фолликулов диаметром 1-3 мм (Хохрин С.Н., 2003; Эрнст Л. К. и др., 1989). Определение гормонального фона у коров-доноров, в частности уровней половых гормонов в крови перед введением гонадотропинов, позволяет уточнить функциональное состояние яичников и способствует правильному отбору животных. Стабильные результаты по суперовуляции и числу нормальных эмбрионов можно получать при концентрации прогестерона в крови более 2 нг/мл, соотношение между прогестероном и эстрадиолом 1:5-6 (Гавриков А.М., 1994).

В определенной степени показатели метода суперовуляции зависят от применяемых гонадотропных препаратов. В настоящее время ассортимент и объемы производства гонадотропинов в мире достаточно велики. Гипофизарные препараты ФСГ, в силу своих химических, биологических

свойств и степени очистки, позволяют получать более высокие показатели по индуцированию суперовуляции и выходу эмбрионов по сравнению с сывороточными гонадотропинами (Кинзеев В.Н., 1998; Решетникова Н.М. и др., 1997; Гавриков А.М., 1994), но при этом доля коров, реагирующих суперовуляцией, остается приблизительно одинаковой (Валюшкин К.Д. и др., 1997). На практике чаще используют гипофизарный ФСГ – выделенный в относительно чистом виде или в сочетании с ЛГ в соотношении 5 к 1 (Завертяев Б.П., 1989; Шеремета В.И. и др., 1996). Для препаратов сывороточных гонадотропинов соотношение ФСГ и ЛГ-активности 3:1 считается оптимальным в отношении результатов суперовуляции у коров-доноров (Гавриков А.М., 1994). Соотношение ФСГ и ЛГ в разных сериях препаратов может меняться в значительных пределах, что является одной из причин вариабельности числа индуцированных овуляций (Шеремета В.И. и др., 1996). Согласно исследованиям Herrier A. (Herrier A. et. al., 1991), обработка коров молочного направления продуктивности очищенным ФСГ (40мг) с добавлением малого количества ЛГ (0,052 МЕ) не вызывала суперовуляции.

Основное действие ФСГ, выделенного в относительно чистом виде из гипофизов сельскохозяйственных животных, заключается в стимуляции развития множества овариальных фолликулов, приводя к пролиферации клеток гранулезы. Однако фолликулы не достигают полного развития и не секретируют эстрогены под действием одного ФСГ. Почти все биологические эффекты гонадотропных гормонов – развитие фолликулов, овуляция, секреция эстрогенов – происходят в результате совместного воздействия ФСГ и ЛГ. Очищенные препараты ФСГ и ЛГ взаимно усиливают друг друга, что принято называть эффектом аугментации. Дополнительное введение ЛГ дублирует физиологический гормональный профиль во время фолликулярного развития, обеспечивает более высокий уровень суперовуляции, повышает оплодотворяемость яйцеклеток и улучшает качество эмбрионов. (Бугров О.Д. и др., 1994).

По данным Мороза Т.А. (Мороз Т.А. и др., 1991), повышение реакции коров наблюдалось при сочетании препаратов ФСГ с 20% ЛГ. При стимуляции яичников избыток ФСГ обеспечивает развитие большого количества полостных и преовуляторных фолликулов, но снижение продукции эндогенного ЛГ приводит к образованию фолликулярных кист. Поэтому для вызывания суперовуляции применяют препараты, сочетающие ФСГ и ЛГ (Бугров О.Д. и др., 1994).

В исследованиях Donaldson L.E., Ward D.N. (Donaldson D.E. et.al., 1986) полученные результаты, напротив, свидетельствующие о негативном влиянии примеси ЛГ в составе гонадотропного препарата. Добавление ЛГ к очищенному ФСГ уменьшало реакцию яичников животных и число нормальных эмбрионов с 7,8 до 4,4 на донора, увеличивало количество аномальных зародышей.

D. Chupin et. al., (Chupin D. et. al., 1985) изучая влияние различных соотношений ФСГ и ЛГ в препаратах на суперовуляторный ответ животных, отмечали что увеличение содержания ЛГ в гонадотропном препарате у фризских коров снижало, а у коров породы шароле повышало уровень полиовуляции.

В настоящее время на постсоветском пространстве для стимуляции роста и развития большого числа фолликулов у коров-доноров широко применяется препарат ФСГ высокой степени очистки – ФСГ-супер (Российская Федерация). В данном гонадотропине на 1000-1500 ед. ФСГ приходится 1 ед. ЛГ. Согласно исследованиям (Овсебян А.А. и др., 1997), от 39 обработанных ФСГ-супер коров-доноров красной горбатовской породы извлечено в среднем по 3,9 пригодных эмбрионов, при этом только от 9 коров (23%) получено достаточное их количество (6 и более эмбрионов). Башенко М.И. (Башенко М.И., 1999) констатирует, что применение ФСГ-супер позволило в среднем на донора получить 4,1 пригодных эмбрионов, 2,6 – дегенерированных и 0,4 – яйцеклеток (Жук Н.Ф. и др., 1999). Сравнили эффективность использования у черно-пестрых коров препаратов ФСГ-супер

и ФСГ-п (в различных сериях препарата соотношение ФСГ:ЛГ колеблется от 1:1 до 2:1 (Мадисон В.В. и др., 1988). После введения ФСГ-п по сравнению с ФСГ-супер выход пригодных эмбрионов был на 24% больше (5,7 против 4,6). По некоторым данным преимущество по получению пригодных зародышей составило 28% в пользу препарата ФСГ-супер при сопоставлении с ФСГ-п (Гончар О.Ф., 1999). Однако препарат ФСГ-супер высокой степени очистки вполне конкурентоспособен, (Мороз Т.А. и др., 1991; 1997) поскольку использование его на донорах костромской породы оказалось более эффективным в сравнении с препаратами ФСГ в сочетании с ЛГ (ФСГ-п, фоллитропин), и также были выявлены положительные свойства препарата ФСГ-супер гонадотропин не приводил к образованию кист яичников и исключал разрастание стромы яичника. Результаты сравнительной оценки (Тарасенко Н.В. и др., 1997) на коровах украинской красно-пестрой и симментальской породы различных гипофизарных гонадотропинов: ФСГ-супер, ФСГ-п, фоллитропин (соотношение ФСГ к ЛГ составляет 5:1 (Деряженцев В.И. и др., 1998)) и не установили существенных различий по числу извлеченных жизнеспособных эмбрионов от (5,8 - 7,0).

Французские специалисты считают, что для успешного вызывания суперовуляции соотношение фракций ФСГ и ЛГ имеет большее значение. Важно установить индивидуальную чувствительность коров-доноров к гормональным препаратам для выбора оптимального препарата ФСГ по способности выделять достаточное число пригодных эмбрионов (Советкин С.В. и др., 1989; Башенко М.И., 1999). В ряде стран все же предпочитают использовать комплексный препарат, включающий ФСГ и ЛГ в соотношении 5 к 1 (Гордон А., 1988).

Суперовуляция у доноров, вызванная введением экзогенных гонадотропинов, сопровождается проявлением комплекса физиологических явлений, отличающихся от таковых при спонтанной овуляции в период естественного полового цикла (Гавриков А.М. и др., 1994). Половая охота у суперовулирующих доноров, независимо от применяемых гонадотропинов,

наступает через 40-50 часов после инъекции простагландина $F_2\alpha$ (Шевелуха В.С. и др., 2003). Овуляции у коров-доноров могут быть растянуты по времени свыше 24 часов, однако овуляции происходят приблизительно через 24 часа после наступления охоты (Решетникова Н.М. и др., 1988). Как правило, признаки половой охоты у доноров хорошо выражены и не могут быть не замечены, в тоже время около 10% животных не проявляют признаков охоты (Гордон А., 1988; Квасницкий А.В. и др., 1988). Без правильно отработанных параметров искусственного осеменения коров-доноров с индуцированной половой охотой невозможно достичь высокой результативности метода эмбриотрансплантации. Оптимальные сроки и кратность осеменения, количество в дозе активных спермиев, место их введения в половые пути коров, – все это определяет оплодотворяемость вышедших яйцеклеток и качественный состав получаемых эмбрионов.

Ввиду того, что при вызывании суперовуляции у коров и телок овуляции растягиваются по времени, то в период половой охоты их искусственное осеменение рекомендуется проводить ректоцервикальным способом 2-3-кратно с интервалом в 9-12 ч, используя каждый раз двойную дозу спермы (около 30 млн. активных спермиев). При двукратном, с интервалом 10-12 часов, осеменении через 48 часов после введения простагландина $F_2\alpha$ при вымывании получено 15,2% неоплодотворенных яйцеклеток, от коров с трехкратным введением спермы – 9,1%, и от четырехкратного осеменения получено 10,8% яйцеклеток (Бугров А.Д. и др., 1988). При трехкратном осеменении дозами 25-30 млн. спермий в каудальную часть шейки матки получено 34,8% яйцеклеток от общего эмбриосбора, в краниальную часть шейки – 16,5%, в полость тела матки или в каждый из рогов матки – 3,8-5,3% яйцеклеток (Будевич И. И. и др., 1996).

Согласно французской технологии трансплантации осеменение доноров проводят одной дозой спермы вначале через 12 часов и повторно через 24 часа после проявления признаков охоты. Допускается осеменение доноров без выявления признаков охоты через 56 и 72 ч после первого

введения простагландина F_{2α}. Также установлено (Шевелуха В.С. и др., 2003), что можно без ущерба для оплодотворяемости яйцеклеток у коров-доноров снизить разовую дозу до 8 млн. активных спермий, а также проводить осеменение однократно через 24 ч после начала охоты. Тем не менее, только на основе индивидуального подхода к донорам можно получить высокий уровень оплодотворяемости.

У суперовулировавших доноров эмбрионы извлекаются нехирургическим методом на 6-8-ой день после искусственного осеменения. Для извлечения применяются двухканальные эластичные катетеры, по которым промывная среда порционно подается в полость матки шприцами (50-150 см³) и самотечно по системе силиконовых трубок поступает в емкость для сбора эмбрионов. Эффективность извлечения при нехирургической технике близка к 70-80%, при этом 10% процедур оказываются безрезультатными, до 20 % коров не дают жизнеспособных эмбрионов, а от 50-60% получают достаточное число жизнеспособных эмбрионов (Бабенков В.Ю., 1998; Мадисон В.Л. и др., 1993; Мадисон В.В., и др., 1988). Полученный из рогов матки эмбриоматериал оценивают под микроскопом при 10-60-кратном увеличении. Эмбрионы, извлеченные на 6-ой день полового цикла, в большинстве своем находятся на стадии ранней морулы, а на 7-8-ой дни преобладающее количество эмбрионов представлено бластоцистами. В то же время вымытые на 7-ой день эмбрионы находятся на разных стадиях развития. Асинхронность выхода яйцеклеток при суперовуляции, многократное осеменение доноров, а также разная жизнеспособность зародышей в полости матки приводят к получению пригодных эмбрионов на стадиях морулы и бластоцисты (Квасницкий А.В. и др., 1988; Гавриков А.М. и др., 1994). На основании морфологической оценки отбираются неоплодотворенные яйцеклетки и эмбрионы – нормально развитые, с частичными нарушениями и дегенерированные. По качеству морулы и бластоцисты оцениваются как «отличные», «хорошие», «удовлетворительные» и «непригодные».

Среди ученых и практиков нет единого мнения о целесообразности получения двоен в скотоводстве. Одни исследователи (Троаре Абу и др., 1999; Гончар О.Ф., 1996; Жук Н.Ф., 1993) указывают на желательность целенаправленного получения двоен, другие (Smeaton D.C. et. al., 1995; Гавриченко Н.И., 2000) высказывают резко негативное отношение. Большая экономическая ценность многоплодия у коров, по мнению многих исследователей (Квасницкий А.В. и др., 1988), заключается в том, что оно положительно коррелирует с высокой продуктивностью. После отела двойней молочная продуктивность возрастает на 4,6-14,5% (Будевич И.И. и др., 1994), более сильно повышение продуктивности выражено у коров по 3-6 лактациям. Положительной стороной многоплодия коров является и получение дополнительного приплода. Многоплодные отелы позволяют в два и более раза увеличить выход телят на корову (Neumann C. et. al., 1988).

Отрицательными сторонами многоплодия у коров считаются низкая живая масса приплода при рождении (70-85% от массы единцов) и удлинение сервис-периода у коров-матерей из-за снижения воспроизводительной способности (Гончар О.Ф. 1996; Renard J.P. et. al., 1977). Однако, телята-двойни обладают повышенной скоростью роста и к 6-12 месяцам жизни компенсируют задержку роста (Жук Н.Ф. и др., 1999), а удлинение сервис-периода у коров после близнецового отела в среднем на 21 день в сравнении с единцовыми снижает выход молодняка из расчета на 100 коров всего на 5,2 теленка.

Также отрицательной стороной многоплодия является низкая выживаемость двоен из-за высокой частоты мертворождаемости и постнатальной смертности. Падеж среди телят-двоен в 2-7 раз превышает падеж среди единцов (Гавриченко Н.В., 1993). Значительно снижает экономическую эффективность многоплодия повышенное количество абортос (Гавриков А.М., 1995). Тем не менее, разница пре- и перинатальных потерь между многоплодными и одноплодными коровами не столь велика, чтобы можно было мотивировать отрицательное отношение к двойням. К

тому же коровы более успешно вынашивают множественные плоды до рождения по сравнению с нетелями. Несмотря на то, что в молочном скотоводстве общий отход телят-двоен в пре- и постнатальный периоды был выше на 10,4-18,5% по сравнению с одиночками, живая масса при рождении – ниже на 20% (27,2 против 32,7кг), а период выращивания до реализации – продолжительнее, тем не менее, уровень рентабельности отелов двойными достоверно выше по сравнению с одиночками (Neumann C. et. al., 1988).

Многоплодие ведет к повышенной выбраковке (до 25%) коров – матерей двоен из-за повышения количества послеродовых заболеваний, которые приводят к снижению их воспроизводительной способности (Smeaton D.C. et. al., 1995; Гавриченко Н.И., 1997). Однако средняя продолжительность использования коров-матерей двоен больше и составляет $5,95 \pm 0,14$ лактаций, а коров-матерей одиночек – $5,26 \pm 0,18$ лактаций. При этом коровы, приносящие двоен по первому отелу, используются в среднем $3,8 \pm 0,24$ лактаций, коровы, приносящие двоен по второму – $4,3 \pm 0,14$, по третьему – $5,26 \pm 0,14$ лактаций (Кива М.С., 1980). Коровы, родившие двоен 1, 2 и 3 раза, используются 6-7-9 лактаций, а родившие одиночек – 5 лактаций, к тому же у многоплодных коров выше пожизненная продуктивность (Леткевич Л.Л., 1993).

В большинстве случаев ряд нежелательных последствий многоплодных отелов (высокая мертворождаемость и низкая выживаемость телят, случаи учащения задержания последа, воспалительных процессов в половом тракте и удлинение сервис-периода и межотельного интервала, а подчас и рост процента яловых коров) можно предупредить путем ранней и достоверной диагностики многоплодной стельности (Решетникова Н.М., 1997), созданием оптимального уровня кормления в заключительный период стельности (Медведев Г.Ф. и др., 1996) и оказанием своевременной помощи при отеле.

Проблемой при многоплодии коров является фримартинизм (от 80 до 100% (Тарадайник Т.Е., 1992)) телочек из разнополых двоен, которых в естественных условиях примерно на половину (46,8%) с однополыми

двойнями. При пересадке двух эмбрионов от 46,7 до 53,8% телят рождаются в составе разнополых двоен, при подсадке одного эмбриона ранее осемененным реципиентам – 45,5%. Фримартины отличаются высокой жизнеспособностью, темпами роста, хорошими мясными качествами, по этим показателям превосходят телок-сверстников (Ибрагимов Ю., 1991; Кинзеев В.Н., 1998).

Экономические расчеты показали, что более широкое использование коров, приносящих двоен, уменьшает материальные затраты на 40-70%, так как значительно снижает поголовье животных в стаде. Прогнозируемый результат массового внедрения двойневых отелов в мясном скотоводстве, даже с учетом повышенных (на 40%) затрат на ветеринарное обслуживание и уход за двойнями, – повышение рентабельности отрасли на 20-25%. Двойневость для выращивания на мясо или производства телятины может получить явные экономические преимущества в случае, если кормление не ограничено и возможно интенсивное содержание (Гордон А., 1988). Экономический эффект от увеличения количества выращиваемого на мясо молодняка будет ниже, если в качестве основного вида продукции скотоводства производится молоко, однако в настоящее время проявляется определенный интерес к проблеме получения двоен и от молочных коров (Валюшкин К.Д. и др., 1997).

Тем не менее, относительно потенциальных экономических возможностей объем исследований по целенаправленному получению двоен в скотоводстве методом трансплантации эмбрионов пока недостаточен.

1.3. Подбор коров-доноров по морфологическим показателям крови, органов размножения

Научно-технический прогресс существенно влияет на характер и направление развития агропромышленного комплекса, где непрерывно возрастает роль и значение внедрения научных достижений при разработке и

реализации различных технологий и отдельных элементов производства сельскохозяйственной продукции.

Это в полной мере относится и к скотоводству – ведущей отрасли животноводства. Характерным для его развития в мире является то, что темпы увеличения производства молока и мяса значительно опережают рост численности скота. Современное скотоводство в ведущих странах Европы, США и Канады характеризуется динамичными структурами изменениями в численности поголовья. С восьмидесятых годов наметилось устойчивое сокращение общего поголовья и доли молочных коров, но одновременно увеличился шлейф. При этом возросла продуктивность, а общее производство продукции осталось практически стабильным. В России с 1991 года происходит устойчивое сокращение поголовья, сопровождающееся повышением доли в стаде при одновременном уменьшении шлейфа, а это снижает возможности увеличения производства молока. По существу, скотоводство, в целом, стало приобретать экстенсивные формы ведения (Левантин Д.Н., 1995). Сложившаяся, вот уже на протяжении 20 лет, обстановка в скотоводстве вызывает большую тревогу и озабоченность, требует серьёзного анализа и принятия целого комплекса организационных, экономических, технологических и морально-психологических мер.

Во многом ситуация обусловлена неудовлетворительным состоянием воспроизводства крупного рогатого скота. Согласно статистическим данным за истекшие сельхозпредприятия Российской Федерации и постсоветского пространства выход телят на 100 коров снизился с 83-85 до 69-70 гол. Более того, в отдельных хозяйствах выход телят не превышает 60%, а в одной четвертой хозяйств – даже 50% (Шубин А.А. и др., 1993; Мысик А.Т., 2003), что препятствует расширенному воспроизводству маточного поголовья, а следовательно наращиванию генетического потенциала молочной продуктивности (Мысик А.Т., 2003; Стрекозов Н.И., 2002; Стрекозов Н.И. и др., 2002; Гуляева Т. и др., 2002; Газетдинов М., 2002; Баймишева Т., 2002). Данное положение является следствием нарушения за годы предшествующих

десятилетий сформировавшейся за длительное время системы непрерывного зооветеринарного образования, которое наряду с изменившимися социально-экономическими факторами предопределила нарастающий разрыв между современным состоянием науки и профессиональным уровнем специалистов сельхозпредприятий и районного звена, задача которых должна заключаться, прежде всего, в современном выявлении у животных болезней органов размножения и молочной железы, квалифицированном лечении с использованием современных методов и схем, научно-обоснованном применении биотехнических средств коррекции половой функции (Анзаров В.А. и др., 2005; Бабенков В.Ю. 1993; Байтлесов Е.У. и др., 2007; Будевич А.И., 2005; Андреев Г. и др., 2001; Грушевский И.Ю. и др., 2011; 2013; Ибрагимова Ш.А. и др., 2009; Полянцев Н.И., 1997; Полянцев Н.И. и др., 2004). Однако есть и не до конца выясненные объективные причины чисто биологического характера. Это подтверждает то, что в станах с высокоразвитой технологической культурой молочного скотоводства низкая плодовитость-главная проблема. Так, эффективность воспроизводства в молочном скотоводстве США за последние 40 лет значительно снизилась: если в штате Нью-Йорк показатели оплодотворения коров после однократного искусственного осеменения в 1951 г. составляли 65%, то к 2000 г. Они снизились до 40% (Butler W., 1998). Если в целом США после однократного осеменения молочных коров в 50-х гг. показатели результативности составляли 55%, то в настоящее время они упали до 35% или даже ниже (Drost M. et.al., 1999; Cartmill J. et.al., 2001; Pancarci S. et.al., 2002).

При анализе причин неудовлетворительного состояния воспроизводства крупного рогатого скота в сельхозпредприятиях Российской Федерации у 37-66% бесплодных коров обнаружили ту или иную патологию органов размножения (Полянцев Н.И. и др., 2004). Данная закономерность свойственна всем современным технологиям содержания и эксплуатации животных (Landsverk K. et.al., 1988). Современные технологии, применяемые

в животноводстве, связаны с рядом воздействующих на животных стресс-факторов, отличающихся по характеру, мощности и продолжительности. Высокий уровень экстремальных воздействий на животных приводит к функциональным нарушениям, в том числе и нарушениям репродуктивной функции (Гуськов А.М. и др., 1994; Смирнова Е.В., 2013; Конопельцев И.Г. и др., 2013) более чем у 30% коров после отела регистрируют задержание последа.

Для животноводческой отрасли являются актуальными исследования, которые направлены одновременно, как на совершенствование норм кормления, содержания и эксплуатации коров, так и на совершенствование воздействий биологически активными веществами и гормональными регуляторами с целью профилактики и нормализации нарушений обменных процессов и репродуктивной функции. Причем, особую актуальность приобретают вопросы разработки и производства новых комплексных препаратов и методик их применения в послеродовой период при параллельном проведении эндокринологии нормы патологии воспроизводительного статуса, а так же изучение влияния факторов внешней среды (с учетом зональных особенностей) на получаемые в ходе исследований показатели (Баева З.Т., 2011; Баймишева Т., 2002; Горячев И.И. и др., 1996; Мовсаров Х.Д., 2006; 2007; Семенович Т.В., 2012; Смирнова Е.В., и др., 2013; Тезиев Т.К. и др., 2008; Темираев Р.Б., 2009).

В программах биотехнологического контроля репродуктивной активности выделяют три физиологических периода: дородовой, постродовой, раздоя и осеменения.

В дородовой период биотехнический контроль направлен на нормализацию иммунного статуса и метаболического профиля; в послеродовой период-на ускорение подготовки органов репродуктивной системы к очередному циклу воспроизведения путем инициации циклической активности яичников. В период раздоя и осеменения биотехнический контроль играет роль устранителя дисфункции яичников,

коррекции сроков осеменения, повышения оплодотворяемости. Эти мероприятия базируются на систематическом клиническом обследовании «проблемных» коров для обнаружения патологии и идентификации дисфункционального состояния.

Трансплантация эмбрионов используется для интенсивного получения потомства от ценных в генетическом отношении самок. Большие преимущества метод дает для импорта и экспорта сельскохозяйственных животных. Трансплантация эмбрионов, в ряде случаев, оказывается более эффективной, чем перевозка спермы. Эмбрионы можно хранить при определенных условиях *in vitro* от 4-48 часов. Разработанный метод криоконсервации эмбрионов дает возможность продлить «хранение генов» практически неограниченно, что обеспечивает реализацию долгосрочных генетических программ благодаря воспроизводству нужного генофонда в любое время.

Считают, что в современных условиях наибольшие процент занимают эндометриты и функциональные нарушения яичников, определяющие широкое распространение симптоматического бесплодия. Здесь на первый план может выступать гипофункция яичников (22%), на второй-персистентность желтых тел (16,1%); меньший процент приходится на кисты яичников, еще меньше - оофориты, сальпингиты и др. (Жаров А.В. и др., 1995; Шириев В.М. и др., 1996; Фенченко Н.Г. и др., 1997; Грига Э.Н., 2000). Таким образом, перечисленные и другие нерешенные проблемы воспроизводства наносят скотоводству экономический ущерб, превышающий ущерб от всех заразных и не заразных болезней вместе взятых.

Выживание нежелательных рецессивных генов при трансплантации становится более доступным и не будет требовать большого времени, все это приведет к возможности элиминации нежелательных генов из популяции сельскохозяйственных животных. Направленная регуляция генеративной функции яичников, в т.ч. и как элемент метода трансплантации, на основе

применения гормональных средств не дает на практике прогнозируемой эффективности из-за широкого распространения у коров в послеродовой период и период лактации эндометритов. До 70-80% коров переболевают послеродовыми эндометритами (Поляков Н.И. и др., 2004; Тяпугин Е.А., 2008; Blanc S.I. et.al., 2002; Насибов Ф.Н. и др., 2006; 2007). В этой связи, применение средств локального воздействия на матку, рассматривают как неотъемлемый элемент биотехнических мероприятий. Однако этому вопросу внимания уделяют крайне недостаточно. Широко практикуемые в ветеринарии методики применения антимикробных препаратов, в т.ч. антибиотиков, для проведения биотехнических мероприятий не всегда приемлемы, например, утероинфузии растворов антибиотиков и других антимикробных препаратов в ранний послеродовой период. Применение большинства антимикробных препаратов на лактирующих коровах влечет за собой экологическую нагрузку. Антибиотики и химиотерапия, используемые при традиционном лечении, экологически небезопасны. При этом ограничивается использование мяса и молока в период лечения и после него. Присутствие ингибиторов в молоке приводит к большим материальным потерям на предприятиях перерабатывающей промышленности вследствие ухудшения его качества, выбраковки сборного молока, потерь при производстве кисломолочной продукции (сыров, творога и т.д.) к снижению сортности молока и продуктов его переработки. Если сложить перечисленные убытки и ущерб от временного недополучения продукции, расходов на медикаменты при традиционных методах лечения, то получается значительная сумма потерь (Андреев Г. и др., 2001). Это диктует необходимость поиска новых экологически безопасных средств (Эрнст Л.К., 2001). Приемлемое решение этих проблем в животноводстве-применение низкоэнергетического лазерного излучения. В 90-х годах лазерная техника стала применяться в животноводстве. Существует множество модификаций лазерной аппаратуры как отечественного, так и зарубежного производства, начиная от терапевтических лазеров для облучения биологически активных

точек на теле больных до хирургических аппаратов, с помощью которых можно коагулировать ткани.

Лазерные терапевтические комплексы «Зорька» и электоролазер «Ключ», разработанные в НПО «Петролазер», а также аппараты для проведения квантовой профилактики и терапии, производимые другими фирмами, открывают новые перспективы.

Исследования последних лет показали, что при современных технологиях эксплуатации коров, при значительно возросшей их генетически запрограммированной молочной продуктивности, происходит увеличение случаев эмбриональных потерь. Установлено, что от 7,0 до 38,0% потерь стельностей происходит между 28-98-и днями эмбрионального развития (Smith M. et.al., 1995; Warnick W., 1999). Вместе с тем, наибольшее число эмбриональных потерь происходит спустя 6-7 дней после осеменения. В этой связи большой объем исследований посвящают изучению причин ранней эмбриональной смертности, происходящей перед периодом материнского распознавания беременности и несколько меньше современных работ рассматривают проблему поздней эмбриональной и ранней фетальной гибели. Во многих исследованиях акцентировали внимание на эмбриональной смертности у повторно осеменённых коров; исследованы и описаны потенциальные факторы и возможные причины ранней эмбриональной смертности у субфертильных молочных коров. Целый ряд ученых приходит к выводу, что для выполнения программ по воспроизводству поголовья главное внимание должно быть сфокусировано на решении задач по проблемам ранней эмбриональной смертности. В этом отношении ультрасонография, как новый метод исследований заслуживает самого пристального внимания. Ультразвуковая технология исследований оказалась нужной почти в каждом аспекте репродуктивной физиологии животных. Использованием ультрасонографии можно диагностировать стельность на самых ранних этапах развития, т.е. намного раньше используемого ранее и в настоящее время ректального исследования. Стало

возможным наблюдать процесс эмбриогенеза и развитие плода в динамике, вести и анализировать иллюстративные записи или изображения всего процесса беременности. Визуализация фолликуло и оогенетических процессов в яичнике, запечатленная в видеозаписи или электронных изображениях, стала весьма ценным инструментом в исследованиях для понимания процессов циклической функции яичников в норме и патологии и др. видов животных.

Известно, что продуктивные качества животного, в т.ч. и признаки воспроизводительной способности являются результатом взаимодействия генотипа и условий среды. Поскольку наследуется не готовый признак, а уровень реагирования, то проявление хозяйственно-полезных признаков обуславливается в значительной мере окружающей средой, в которой выращивают и содержат животных (Foote R., 1996). Это обстоятельство определяет основополагающий методологический принцип физиологии-неразрывное единство организма и внешней среды. Следовательно для повышения эффективности биотехнических мероприятий по регуляции репродуктивной функции необходим постоянный учет состояния воспроизводительной активности поголовья, но главное-специфики внешних причин, лежащих в основе снижения репродуктивного статуса. Учитывая, что на каждый период развития отрасли скотоводства репродуктивный статус и характер причин его снижения не одинаковы, исследования в этом направлении всегда актуальны и являются первоочередными.

1.4. Экономическая эффективность метода эмбриотрансплантации

Среди ученых и практиков нет единого мнения о целесообразности получения двоен в скотоводстве. Одни исследователи (Троаре Абу и др., 1999; Гончар О.Ф., 1996; Жук Н.Ф., 1993) указывают на желательность целенаправленного получения двоен, другие (Smeaton D.C. et. al., 1995; Гавриченко Н.И., 2000) высказывают резко негативное отношение. Большая

экономическая ценность многоплодия у коров, по мнению многих исследователей (Квасницкий А.В. и др., 1988), заключается в том, что оно положительно коррелирует с высокой продуктивностью. После отела двойней молочная продуктивность возрастает на 4,6-14,5% (Будевич И.И. и др., 1994), более сильно повышение продуктивности выражено у коров по 3-6 лактациям. Положительной стороной многоплодия коров является и получение дополнительного приплода. Многоплодные отелы позволяют в два и более раза увеличить выход телят на корову (Neumann C. et. al., 1988).

Отрицательными сторонами многоплодия у коров считаются низкая живая масса приплода при рождении (70-85% от массы единцев) и удлинение сервис-периода у коров-матерей из-за снижения воспроизводительной способности (Гончар О.Ф., 1996). Однако, телята-двойни обладают повышенной скоростью роста и к 6-12 месяцам жизни компенсируют задержку роста (Жук Н.Ф. и др., 1999), а удлинение сервис-периода у коров после близнецового отела в среднем на 21 день в сравнении с единцовыми снижает выход молодняка из расчета на 100 коров всего на 5,2 теленка.

Так же отрицательной стороной многоплодия является низкая выживаемость двоен из-за высокой частоты мертворождаемости и постнатальной смертности. Падеж среди телят-двоен в 2-7 раз превышает падеж среди единцев (Гавриченко Н.В., 1993). Значительно снижает экономическую эффективность многоплодия повышенное количество абортос (Гавриков А.М., 1995).

В большинстве случаев ряд нежелательных последствий многоплодных отелов (высокая мертворождаемость и низкая выживаемость телят, случаи учащения задержания последа, воспалительных процессов в половом тракте и удлинение сервис-периода и межотельного интервала, а подчас и рост процента яловых коров) можно предупредить путем ранней и достоверной диагностики многоплодной стельности (Решетникова Н.М., 1997), созданием оптимального уровня кормления в заключительный период стельности

(Завертяев Б.П., 1989; Медведев Г.Ф. и др., 1996; Насибов З.Н. и др., 2014) и оказанием своевременной помощи при отеле.

Проблемой при многоплодии коров является фримартинизм (от 80 до 100% (Тарадайник Т.Е., 1992)) телочек из разнополых двоен, которых в естественных условиях примерно на половину (46,8%) с однополыми двойнями (Кива М.С., 1980). При пересадке двух эмбрионов от 46,7 до 53,8% телят рождаются в составе разнополых двоен, при подсадке одного эмбриона ранее осемененным реципиентам – 45,5% (Трощенко Л.В. и др., 1989). В этой связи число ремонтных телок значительно не увеличивается: из 1520 двойневых отелов было получено 851 телка, 1548 бычков и 641 – фримартини (21%), которые пригодны для откорма (Кива М.С., 1980). Фримартини отличаются высокой жизнеспособностью, темпами роста, хорошими мясными качествами, по этим показателям превосходят телок-сверстников (Ибрагимов Ю., 1991; Кинзеев В.Н., 1998).

Экономические расчеты показали, что более широкое использование коров, приносящих двоен, уменьшает материальные затраты на 40-70%, так как значительно снижает поголовье животных в стаде. Прогнозируемый результат массового внедрения двойневых отелов в мясном скотоводстве, даже с учетом повышенных (на 40%) затрат на ветеринарное обслуживание и уход за двойнями, – повышение рентабельности отрасли на 20-25%. Двойневость для выращивания на мясо или производства телятины может получить явные экономические преимущества в случае, если кормление не ограничено и возможно интенсивное содержание (Гордон А., 1988). Экономический эффект от увеличения количества выращиваемого на мясо молодняка будет ниже, если в качестве основного вида продукции скотоводства производится молоко, однако в настоящее время проявляется определенный интерес к проблеме получения двоен и от молочных коров (Валюшкин К.Д. и др., 1997).

Тем не менее, относительно потенциальных экономических возможностей объем исследований по целенаправленному получению двоен в скотоводстве методом трансплантации эмбрионов пока недостаточен.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования по производству эмбрионов проводились в ООО «Ираф-Агро» на коровах айрширской породы и в племхозе «Осетия» на коровах черно-пестрой породы в 2009-2014 годах - на 10 первотелках и 10 коровах 3-8 летнего возраста, живой массой 500-560 кг с удоем по наивысшей лактации 5,0-5,2 тыс. кг молока, средней жирностью 3,6%, с учетом сроков наступления половой охоты, осложнений при отеле, течения послеродового периода, анатомо-физиологических показателей органов размножения.

В ходе исследований коров-доноров определены гематологические показатели на гемометре PCT 90 VET, лейкограмма – в камере Горяева. Исследования в сыворотке крови общего белка и белковых фракций, общего кальция, неорганического фосфора, резервной щелочности и буферности крови анатомо-физиологического состояния органов размножения, клинических показателей, живой массы и молочной продуктивности по общепринятым методикам.

Кормление коров-доноров сравниваемых групп осуществляли балансированием по всем питательным и биологически активным веществам по рекомендациям А.П. Калашникова и др., 2003. Условия содержания соответствовали требованиям зоогигиены.

Исследования по определению эмбриопродуктивности и качества эмбрионов проводили согласно схеме (схема 1).

У коров в опытных группах перед вызыванием суперовуляции осуществляли гормональную коррекцию роста и развития овариальных фолликулов за счет внутримышечного введения гонадолоберина – фертагил «Intervet», гонадотропина - хорулон «Intervet» и гонадного стероида - масляного раствора прогестерона «Кургаяфарм».

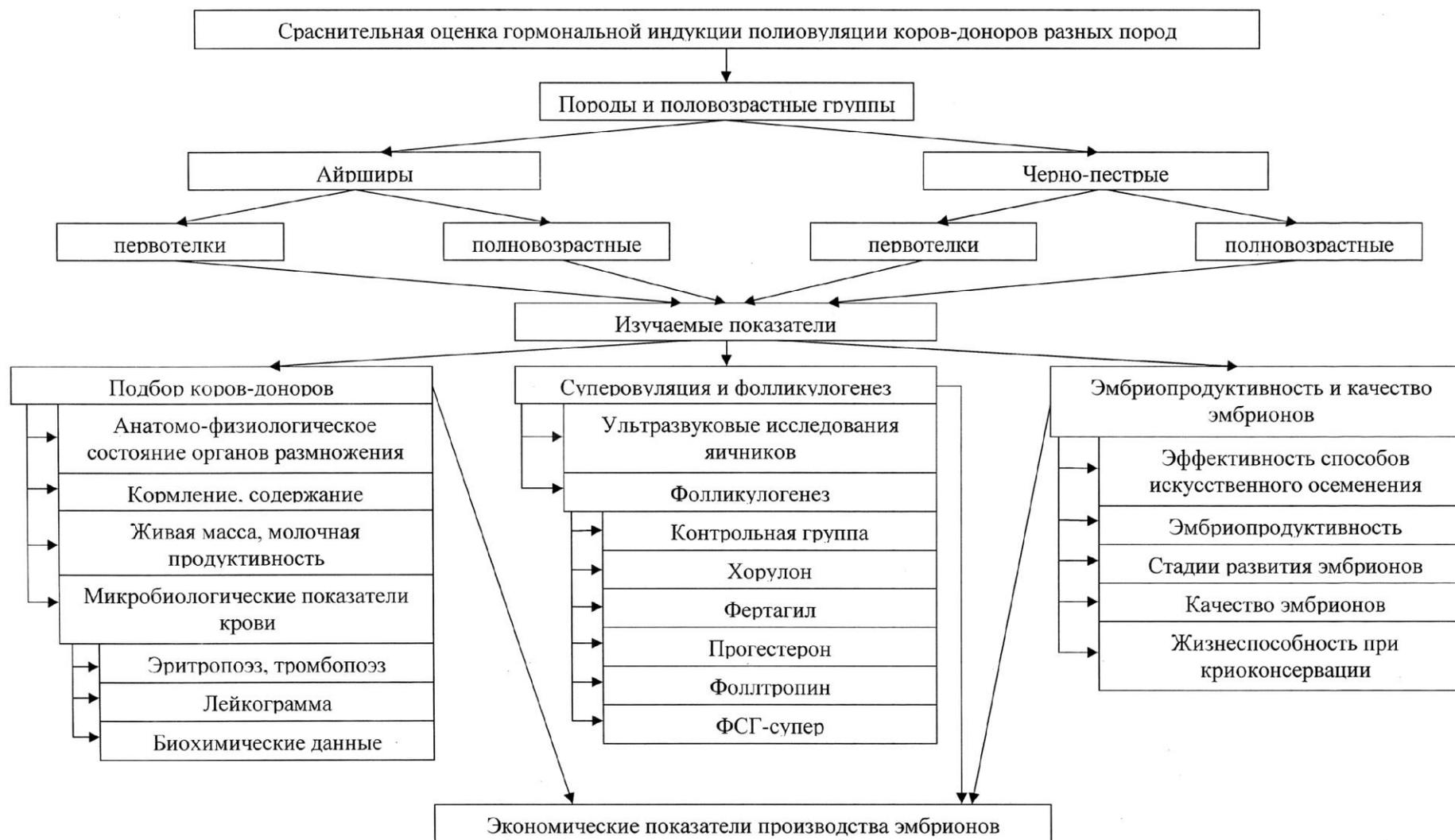


Схема 1. Направление исследований

В контрольной группе коровам перед вызыванием суперовуляции гормональные препараты не вводили.

Гормональная обработка животных в опытных и контрольной группах с целью вызывания суперовуляции осуществлялась с применением гонадотропного препарата ФСГ-супер (ФАО «Союзаг-ромед») в общей дозе 50 Арм.ед.

Для изучения динамики фолликулогенеза во время регуляции роста овариальных полостных фолликулов, перед началом и в период проведения гормональных обработок, проводили ультразвуковое исследование яичников ультразвуковым сканером Scanner 200 PИE-medica (Табл. 2.1).

Таблица 2.1 Схема гормональных обработок и ультразвуковая диагностика состояния яичников коров-доноров, n=10

Группа доноров	Препарат для коррекции фолликулогенеза	Общая доза	Ультразвуковые исследования, день полового цикла
Контроль	-	-	7,8,9
I опыт	Фертагил	1000МЕ	6,7,8,9
II опыт	Хорулон	4500МЕ	7,8,9
III опыт	Прогестерон	300мкг	5,7,9

Гормональные обработки коров-доноров препаратом ФСГ-супер проводили в дозах: 10 день – 16 Арм.ед., 11 день – 14 Арм.ед., 12 день – 12 Арм.ед., 13 день – 8 Арм.ед., на 12 день вводили всем группам Тим эстрофан в дозе 750 мкг.

Осеменение коров-доноров осуществляли замороженно - оттаянной спермой ректоцервикальным способом с интервалом 10-12 часов, используя сперму из племенной станции «Невинномысская» Ставропольского края с активностью не ниже 4 баллов однократно, двукратно двойной дозой (≈ 30 млн. спермиев).

Перед извлечением эмбрионов у коров-доноров ректальным методом определяли наличие и количество желтых тел на яичниках.

Основные технологические элементы производства эмбрионов проводили согласно методическим рекомендациям. Эмбрионы оценивали на пригодность по стадии развития, морфологическим характеристикам и качеству - под микровизором марки «mVizo-101» при 56-кратном увеличении.

При проведении исследований, у коров-доноров учитывались количественные изменения полостных фолликулов разного диаметра, реакция суперовуляции и выход эмбрионов, морфологический и качественный состав извлеченных эмбрионов.

Для изучения эффективности производства и качества эмбрионов у коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород методом суперовуляции, был проведен сравнительный анализ использования гипофизарных препаратов ФСГ-супер и фоллтропина (табл.2.2).

Таблица 2.2 Схема гормональной обработки коров-доноров

День полового цикла	Фоллтропин (400 мг)		ФСГ-супер (1000 ИЕ)	
	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.
0-й	Половая охота у донора			
10-11-й	70 мг	70 мг	160 ИЕ	160 ИЕ
11-12-й	60 мг	60 мг	140 ИЕ	140 ИЕ
12-13-й	40 мг эстрофан 500 мкг	40 мг эстрофан 250 мкг	120 ИЕ эстрофан 500 мкг	120 ИЕ эстрофан 250 мкг
13-14-й	30 мг	30 мг	80 ИЕ	80 ИЕ
14-15-й или 0-й день цикла (охота)	-	Осеменение	-	Осеменение
1-й день цикла	Осеменение	-	Осеменение	-
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов			

Гормональные обработки доноров проводили при наличии в яичниках хорошо выраженного желтого тела. Перед введением индивидуальные дозы препаратов растворяли в 20 мл физиологического раствора и 10 мл среды Дюльбекко. Одновременно с 5 и 6-ой инъекциями гонадотропинов вводили простагландин F2a (эстрофан).

По результатам научно-исследовательской работы проведены производственные апробации в племях «Осетия» и ООО «Ираф-Агро».

Полученный экспериментальный материал обработан методом вариационной статистики (Е.К. Меркурьева и др., 1991).

В таблицах работы результаты математической обработки показаны: без литер обозначения- $P > 0,05$, с литером обозначения – «*» - $P < 0,05$, с литером обозначения- «**» - $P < 0,01$, с литером обозначения- «***» - $P < 0,001$.

3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Отбор коров-доноров для суперовуляции

В технологии эмбриотрансплантации одним из важных звеньев является индуцирование множественной овуляции у коров-доноров методом гормональных обработок, при которой не всегда достигают высокой результативности. Реакцию половых желез на вводимые гормональные препараты учитывали в зависимости от конкретных условий.

Исследования отечественных и зарубежных авторов показывают, что коровы-доноры могут по-разному реагировать на суперовуляцию, на который существенное влияние оказывают природно-климатические условия, кормление, упитанность животных, живая масса, послеродовой период, восстановление половых циклов, воздействие стресс-факторов, состояние организма и ряд других физиологических факторов (Анзоров В.А. и др., 2005; Гуськов А.М. и др., 1994; Нежданов А.Г. и др., 2002; Байтлесов Е.У. и др., 2007; Баранова Н.С., 2001;2002; Грига Э.Н., 2000; Грушевский И.Ю. и др., 2013; Кононенко С.И. и др., 2010; Будевич А.И., 1992; Насибов Ф.Н. и др., 2007; Смирнова Е.В. и др., 2013; Шириев В.М., 2012; Berezovski S.J. et.al., 2004; Fleur Y.J. et.al., 2003).

В связи с этим изучение реакции коров-доноров на вводимые гонадотропины имеет важное значение для эффективной суперовуляционной реакции и успешной организации первого этапа трансплантации-производства жизнеспособных эмбрионов (Анзоров В.А., 2005; Байтлесов Е.У. и др., 2007; Гончар О.Ф. 1994; Дуванов А.В., 1997; Мамукаев М.Н. и др.,

2013; Тарадайник Т.Е., 1992; Тяпугин Е.А., и др., 1996; Pugh P.A. et.al., 1994; Sguiris E. et.al., 2005).

Некоторые исследователи считают, что отрицательное влияние гонадотропинов на естественный механизм гормональной регуляции суперовуляции основная причина слабой ответной реакции яичников коров на гормоностимуляцию (Бойко А.Г., 1992; Гавриков А.М., 1995; Держенцев В.И. и др., 1998; Дронин А.П. 1988; Еремина М.А., 2002; Мадисон В.Л. и др., 1993; Ситнеченко Н.В., 1994; Хетагурова Б.Т., и др. 2014; Завертяев Б.П., 1987; Беригилов Ю.И., 1991; Коронец П.Н., 1991; Мороз Т.А., 1997; Середин В.А., 2004; Herries A. et.al., 1991; Mc Cul P.M. et.al., 2007; Hulvehill P. et.al., 1997; Peres K.R., et.al., 2005), слабую реакцию яичников на экзогенную, гонадотропную реакцию определяют функциональным состоянием яичников коров-доноров до начала введения гормональных препаратов и ставят под сомнение результаты оценки активности гонад, основной концентрации гонадотропинов и других гормонов в крови. Некоторые авторы высокую суперовуляционную реакцию связывают наличием в яичниках большого числа малых фолликулов (2-3мм), которые чувствительны к гонадотропинам и отсутствием крупных фолликулов (10 мм), которые тормозят развитие окружающих мелких фолликулов.

В тоже время основой метода вызывания суперовуляции многие авторы связывают с исследованиями гормональных механизмов стимуляции роста овариальных фолликулов, гонадотропных гормонов, стероидами яичников, кортизолом, тироксином, пролактином, у коров-доноров в различные периоды естественного полового цикла и стимуляции экзогенными гонадотропинами (Нежданов А.Г., 2002; Медисон В.Л. и др.,

1993; Мороз Т.А. и др., 1991; 1997; Ибрагимов Ю., 1991; Овсепян А.А. и др., 1997; Тарасенко Н.В., 1997; Медведев Г.Ф. и др., 1996).

Учитывая вышеизложенное применение современных методов ультразвуковых исследований в скотоводстве может иметь важное диагностическое значение не только стадий беременности, но и состояние яичников при гормоностимуляции.

На показатели оплодотворяемости зигот и жизнеспособности эмбрионов большое влияние оказывает, как генетические факторы (Баранова Н.С., 2012; Завертяев Б.П., 1989; Квасницкий А.В., 1988; Челецкий М.М. и др., 1988) так и влияние неблагоприятных факторов окружающей среды на организм коров-доноров.

Из факторов окружающей животных среды, на воспроизводительные функции самок, активность реакции на воздействие гормональных средств наиболее активно влияют с одной стороны патология репродуктивной системы в послеродовой период, оварииты, эндометриты и др., с другой недостаточный уровень кормления, нарушение условий содержания и эксплуатации животных (Валюшкин К.Д., 1997).

Следует отметить, что репродуктивная активность поголовья коров в стране на сегодняшний день остается низким и поиски путей повышения, являются задачей исследований.

Одним из основных факторов успешной организации воспроизводства стада является разработка технологии трансплантации и производства телят-трансплантантов, в котором производство высококачественных эмбрионов, для производства которых, наряду с другими определяющими факторами, важное значение имеет как физиологическое состояние организма в целом, так и анатомическое состояние органов размножения коров-доноров перед

гормональными воздействиями. Исследованиями перед гормональными обработками доноров, выбранных для использования в технологии производства высококачественных эмбрионов, учитывают:

- возраст подопытного животного;
- дата последнего отела, показатели послеродового периода;
- клинический статус иммуногенного состояния организма;
- анатомическое состояние половых органов;
- размер и формы яичников;
- наличие желтого тела.

При подборе коров-доноров, как первотелок, так и 2-5 отелов, учитывались сроки наступления половой охоты с учетом в среднем 21 день (17-24 дней), даты последнего отела, осложнения при отеле и течение послеродового периода, анатомо-топографические показатели органов размножения, которые, должны соответствовать требованиям морфологического статуса данной породной группы.

В тоже время известно, в практике скотоводства, соответствие состояния матки и рогов матки, яичников не всегда являются гарантией коровы-донора к продуцированию высококачественных эмбрионов. Более объективным показателем для высоких результатов эмбриопродуктивности является клиническое обследование предполагаемого донора (Седмицкая Е.С. и др., 2011-2013; Дюльгер Г.П. и др., 2012; Полянцев Н.И. и др., 2000; 2004; Ибрагимова Ш.А. и др., 1996; Черкасова В.И. и др., 2004; Le Blanc S. et.al., 2002; Esslemont D. et.al., 2002; Sheldon J. et.al., 2004; Bonett B. et.al., 1993; Рубанец Л.Н. и др., 1996; Насибов Ф.Н. и др., 2012).

Фолликулогенезу крупного рогатого скота характерно асхронность в яичниках, присутствие как мелкие (до 4 мм) так и крупные полостные фолликулы.

Учитывая разноречивые данные исследований фолликулогенеза в яичниках устранению влияния крупных фолликулов проведены исследования по применению фолликулостимулирующего гормона (10-12 день) с целью повышения популяции мелких фолликулов (до 2-4 мм) которые массово овулируют при суперовуляции. При организации исследований нами были избраны лютеинизирующие гормоны фолтропин, фертагил и масляного раствора прогестерона.

При организации исследований перед нами стояли следующие задачи:

- изучить фолликулогнез коров-доноров при применении разных гонадотропинов с учетом конкретных условий хозяйств в предгорной зоне Северного Кавказа;
- определить влияние гонадотропинов на динамику фолликулогенеза в яичниках коров-доноров перед вызыванием суперовуляции.

3.1.1. Отбор по клиническим признакам

Нарушение воспроизводительной функции животных при широком распространении имеет тенденцию наиболее ярко проводить в географических зонах с более высокими экстремальными условиями содержания и эксплуатации животных, куда относится Северо-Кавказский регион, в том числе предгорная зона Республики Северная Осетия Алания.

Изменение условий жизни в зависимости от инсоляции, способа содержания, активности моциона, сезонные изменения качества кормов и

зависимость кормления от состава природно-экологических условий является достаточным обоснованием для исследований при подборе коров-доноров.

Литературный поиск показал, что механизмы воздействия сезонных факторов и природно-климатических условий на воспроизводительные функции, на суперовуляционную реакцию фолликулогенеза, овуляции, оплодотворяемость и жизнеспособность эмбрионов, изучены недостаточно (Чомаев А.М., 2005; Черкасова В.И. и др., 2004).

Анализ статистических данных показывает, что патология органов размножения, главным образом эндометриальные патологии в практике скотоводства на сегодняшний день широко распространены и составляют от 14 до 40%, иногда доходят до 90% коров не только наносят значительный урон как воспроизводительным качествам, так и экономическим показателям (Поляков Н.И. и др., 2004; Тяпугин Е.А., 2008; Blanc S.I. et.al., 2002; Esslemont D. et.al., 2002; Валюшкин К.Д. и др., 1997) и в 10,5% случаев последующей беременности осложняются абортами, в 4,5%- мертворожденными (Esslemont D. et.al., 2002; Sheldon J. et.al., 2004; В.А. Коркин В.А., 1989).

Патологию органов размножения часто осложняют трансплантация в органах размножения патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в частности протей, и синегнойная кишечная палочка, обуславливающие длительное течение болезни (Тяпугин Е.А., 2008; Bonett V. et.al., 1993), лечение которой требует поиска эффективных в отношении лечебных свойств и не угнетающих нейрогуморальные механизмы защиты организма (Тяпугин Е.А., 2008; Полянцев Н.И. и др., 2000; Ибрагимова Ш.А. и др., 2009; Рубанец Л.Н. и др., 1996) которых необходимо подтверждать

лабораторными исследованиями (Черкасова В.И. и др., 2004; Насибов Ф.Н. и др., 2012; Медведев Г.Ф. и др., 1996; 1994).

Исследования клинического состояния коров-доноров показали, что по этологическим показателям коровы-доноры характеризовались породной принадлежностью и реакцией на внешние раздражители. Доноры первотелки более активно реагировали на внешние раздражители, чем полновозрастные особи.

Показатели клинических данных подопытных животных на всех периодах исследований были в пределах физиологических норм (табл. 3.1).

Таблица 3.1 Динамика клинических показателей коров-доноров

Показатели	Группа коров			
	Айрширы		Черно-пестрые	
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные
Температура тела, °С	38,6±0,6	38,4±0,32	38,5±0,41	38,2±0,28
Дыхание, дв./мин	29,8±0,33	29,6±0,27	29,6±0,22	29,3±0,17
Пульс, уд/мин	63,2±0,72	63,0±0,63	62,4±0,70	62,1±0,53

Температура тела первотелок как айрширской, так и черно-пестрой породы были незначительно выше, чем у полновозрастных доноров, однако различия не были существенными и колебались в пределах от 0,2 до 0,3 °С.

Аналогичная динамика установлена у подопытных животных.

Ритм сердца так же отличался стабильностью с превосходством сердечных сокращений в 1 минуту у доноров из первотелок.

Таким образом, исследования клинического статуса коров-доноров дает основание сделать следующие выводы:

- показатели морфологического состояния органов размножения подопытных животных находятся в пределах физиологических норм;

- возрастные данные соответствуют задачам исследований: 1 группы обеих породных групп сформированы из первотелок, 2 группы из коров 2-4 отелов с соответствующими данными живой массы даты последнего отела продуктивных показателей;
- клинические показатели температуры тела, ритма работы легких и сердца соответствуют физиологическим нормам породных групп;
- при обосновании показателей клинического статуса животных, важное значение имеют морфологические показатели крови которые имеют прямо пропорциональную зависимость от кормления в разрезе физиологических норм с учетом местных условий.

3.1.2. Кормление коров-доноров

Организация полноценного кормления коров-доноров рационами, сбалансированными всеми питательными и биологически активными веществами являются одним из факторов, отрицательно влияющей на эффективность гормональной реакции на суперовуляции, качество получаемых эмбрионов и их высокую приживляемость при технологии эмбриотрансплантации (Гавриков А. и др., 1997; Горячев И.И. и др., 1996; Кононенко С.И. и др., 2011; 2010; Газдаров А.А., 2011; Байтлесов Е.У., 2006).

В связи с вышеизложенным с целью обеспечения высоких результатов эмбриопродуктивности коров-доноров, важное значение имеет увеличивать уровень их кормления некоторые авторы считают, что для молочных коров в рацион необходимо дополнительно ввести 1-2 к.ед. с высоким содержанием питательных и биологически активных веществ что общая потребность в обменной энергии молочных коров составляет 450 Мкал и 3,1 Мкал (~ 13

МДж) обменной энергии, приняв эти данные за основу, для стельных двумя плодами коров с продуктивностью 6-8 тыс. кг молока и живой массой 600-650 кг в период сухостоя необходимо увеличивать уровень обменной энергии на 9,2-7,8%. Кроме этого, разница в поддерживающей потребности обменной энергии составляет еще 10% в пользу многоплодных коров. Другие авторы предпочтение отдают восполнение дополнительной потребности за счет повышения уровня скармливания концентрированных кормов, содержащих высокий уровень обменной энергии (Аришина И.А., 2012; Ярмоц А.В. и др., 2011; Баева З.Т. и др., 2011; Тедтова В.В. и др., 2009).

Немаловажное значение имеет биологическое действие макро-, микроэлементов и витаминов в составе рационов, которые необходимы для повышения воспроизводительных качеств коров и продуктивных качеств коров, которые важны для отрасли скотоводства. Подопытные коровы имели среднюю упитанность. У коров-доноров айрширской породы живая масса составила в среднем 530 кг, суточный удой-16,6 кг, у черно-пестрых эти показатели были 536 и 16,8 кг. Учитывая выше изложенное рационы кормления подопытных групп были составлены на основе данных изучения химического состава кормов и в соответствии с рекомендациями Калашникова А.П. и др., 2003 (табл. 3.2).

Основу рационов подопытных коров-доноров составляли грубые корма-сено и сенаж-до 51-60%.

Таким образом, уровень кормления подопытных коров-доноров соответствовал требованиям физиологических потребностей для реализации как продуктивных качеств так и высокого биологического статуса организма.

Таблица 3.2 Рацион кормления первотелок и полновозрастных коров-доноров

Показатели	Группа	
	первотелки	полновозрастные
Среднесуточный рацион, кг		
Сено злаковое	3,5	х
Сенаж злаковый	19	х
Свекла кормовая	10	х
Комбикорм К60-10Б	4	х
Дерть ячменная	-	х
Патока кормовая	1	х
В рационе содержалось:		
Кормовые единицы	13,6	13,8
Обменная энергия, МДж	162,3	156,0
Сухое вещество, кг	16,10	14,5
Сырой протеин, г	2388	2335
Сырой жир, г	418	525
Сырая клетчатка, г	3689	3045
Сахара, г	1595	1518
Кальций, г	145,0	135,0
Фосфор, г	81,5	80,0
Магний, г	37,5	24,5
Калий, г	260	92
Железо, мг	2509	965
Медь, мг	157,6	137,0
Цинк, мг	591	690
Марганец, мг	794	690
Йод, мг	11,2	9,7
Каротин, мг	534	828
Витамин А, МЕ	100000	-
Минеральная добавка, г		
Поваренная соль	85	85
Монокальцийфосфат*	-	х
Сернокислый цинк	0,44	х
Сернокислый марганец	-	х
Кайод	-	х
Ежедекадные внутримышечные инъекции, мл		
Тетравит	3,5	х
Масляный р-р витамина А	-	х
Сочные	8	х
Грубые	60	х
Концентрированные	29	х

* Монокальцийфосфат содержит 24% фосфора и 17,6% кальция

3.1.3. Живая масса и молочная продуктивность

Рост, развитие и дифференциация в организме животных взаимообусловлены и являются составляющими единого процесса-онтогенеза и на ранних стадиях преобладают процессы дифференциации.

Интенсивность роста животных обусловлена наследственными и ненаследственными факторами, из которых к генетическим относятся особенности на которые большое влияние оказывают кормление и содержание животных (Решетникова Н.М., 1991; Горячев И.И. и др., 1992; Кононенко С.И. и др., 2011; Кокоев О.Л., 2006; Тарчоков Т.Т., 2010). Онтогенез крупного рогатого скота характеризуется неравномерностью развития органов и тканей и при организации полноценного кормления и благоприятных условий содержания скорость роста животных с возрастом достигает физиологических норм, обусловленные генетическим потенциалом.

Одним из объективных показателей развития животного служит его живая масса (Валюшкин К.Д. и др., 1997; Пабат В.А. и др., 1999; Стрекозов Н.И., 2002; Середин В.А., 2004; Grossman M. et.al., 1986; Чеходариди Г.Н., 1988) и установлена взаимосвязь между живой массой и молочной продуктивностью коров (Газдаров А.А., 2001; Тезиев Т.К., 2008).

При отборе коров-доноров нами учитывались, с одной стороны, живая масса, с другой их молочная продуктивность, которые являются объективными показателями физиологического состояния организма.

Молочная продуктивность коров определяется комплексом анатомо-физиологических особенностей организма, которая связана со способностью мобилизации резервов организма для реализации лактационной деятельности и являются показателями реализующие молочную продуктивность до определенного предела (Туников Г. и др., 1996; Гуляева Т. и др., 2002; Пабат В.А. и др., 1999; Стрекозов Н.И. и др., 2002;

Тезиев Т.К. и др., 2008; Оказов Т.А., 2009; Тедтова В.В. и др., 2009; Mc Parland et.al., 2007).

В условиях промышленной технологии формирования групп животных и переводе на беспривязное-боксовое содержание, необходимо учитывать их этологические особенности.

При этом установлена зависимость формирования групп с учетом типа вышей нервной деятельности, исключая агрессивное поведение животных, которая способствует нормализации этологического и физиологического состояния животного необходимое для повышения реакции суперовуляции и создания высокопродуктивных стад коров с живой массой не менее 500 кг.

Таким образом, реализация биологических возможностей животных, основанных на создании условий эффективного функционирования системы биотехники воспроизводства, основанный на использовании технологии трансплантации, важное значение имеют создание условий, когда животное находится в движении и больше проявляют жизненную активность, тем лучше реагируют на внешние раздражители, что необходимо учитывать особенности физиологических и поведенческих реакций животных, состояние обменных процессов, возбудимости и напряженности нервной системы, стрессовое состояние, которое в конечном итоге снижает показатели продуктивности и ослабляют реакцию на внешние раздражители, в том числе на гормональные воздействия.

Суперовуляционная реакция на гормональные воздействия характеризуется достоверным снижением живой массы первотелок на 6,0 кг (табл. 3.3). Снижению живой массы полновозрастных коров после гормональных обработок при развитии суперовуляционной реакции также сопровождалось снижением показателя на 3,8 кг ($P > 0,05$).

Таблица 3.3 Живая масса коров-доноров айрширской породы при гормональных обработках

Обработки	Группа	
	первотелки	полновозрастные
До гормональных обработок	509,4±2,07	542,6±8,38*
При суперовуляции	503,4±1,96*	538,8±2,17
После извлечения эмбрионов	511,8±2,48	543,3±2,14

По завершении реакции на гормональные воздействия и извлечения эмбрионов у коров-доноров из первотелок живая масса превышала показатель до гормональной реакции на 2,4 кг ($P>0,05$), у полновозрастных достигла практически уровня до начала гормональных обработок и разница составила 0,7 кг.

Исследования живой массы черно-пестрой породы показали, что живая масса полновозрастных коров-доноров на всех стадиях исследований достоверно была выше на 49,5 кг ($P<0,01$), при суперовуляционной реакции на 52,5 кг ($P<0,01$) и после завершения гормональной реакции на 45,8 кг при $P<0,01$ (табл. 3.4).

Таблица 3.4 Живая масса коров-доноров черно-пестрой породы при гормональных обработках

Обработки	Группа	
	первотелки	полновозрастные
До гормональных обработок	511,3±2,07	560,8±3,07**
При суперовуляции	504,5±2,30*	556,8±2,12**
После извлечения эмбрионов	513,7±1,93	561,5±2,17**

Реакция на гормональные воздействия более активно повлияло на живую массу коров-доноров из первотелок, у которых живая масса при развитии суперовуляционной реакции на вводимые гонадотропные препараты снизило показатель на 6,8 кг ($P < 0,05$), который был восстановлен после завершения процесса извлечения эмбрионов с некоторым повышением (2,4).

Аналогичная динамика установлена у доноров из половозрелых коров, однако различия были менее существенны. Разница живой массы при суперовуляционной реакции по сравнению с первотелками составила 4,0 кг, а по завершении процесса извлечения эмбрионов живая масса была восстановлена с минимальным показателем (0,7кг).

Динамике показателей молочной продуктивности коров-доноров из первотелок айрширской породы характерно по сравнению с началом исследований (до гормоновоздействий) снижение при суперовуляционной реакции среднесуточных удоев на 7,98%, содержание жира - на 2,37%, СОМО – на 3,0%. Расхода корма на 1 кг 4% жирности молока - 0,02% ЭКЕ, в то время как показатели содержания белка, сухого вещества, молочного сахара, плотности, кислотности, содержание кальция и фосфора, золы, при суперовуляции имели лишь тенденцию к снижению, а в постопытный период исследований показатели были выше первоначального уровня в пределах 0,4-2,5%.

Аналогичные результаты молочности и качества молока установлены у половозрелых коров-доноров айрширской породы (табл.3.5) с той разницей, что реакция на гормональные воздействия менее существенно повлияли на изучаемые показатели. Если разница молочности между результатами до гормонообработок и при суперовуляционной реакции у первотелок составила 7,98%, то у половозрелых снижение составило 3,92%, а показатели содержания жира, белка, сухого вещества, СОМО, молочного сахара и золы колебались в пределах 0,24-1,37% показатели кислотности и плотности молока практически были равны, а снижение

содержания в молоке кальция (-5,88%) и фосфора (-9,10%) были более ощутимы.

Таблица 3.5 Показатели качества молока коров-доноров из первотелок айрширской породы

Показатели	Группа		
	контроль	половозрастные группы	
		первотелки	полновозрастные
Среднесуточный удой, кг	14,21±0,38	13,16±0,43	14,34±0,57
Содержание жира, %	3,45±0,04	3,38±0,02	3,48±0,04
Содержание белка, %	3,35±0,01	3,31±0,04	3,40±0,02
Сухое вещество, %	12,58±0,11	12,34±0,09	12,63±0,12
СОМО, %	8,94±0,09	8,68±0,05	9,11±0,08
Мол. сахар, %	4,46±0,05	4,40±0,08	4,52±0,05
Плотность, °А	29,11±0,34	29,02±0,27	29,14±0,18
Кислотность, °Т	18,06±0,06	18,03±0,06	18,07±0,07
Са	0,16±0,002	0,16±0,001	0,17±0,003
Р, %	0,11±0,001	0,09±0,002	0,12±0,001
Зола, %	0,72±0,007	0,71±0,03	0,74±0,006
Расход корма на 1 кг молока с 4% содержанием жира ЭКЭ (ММЖ)	1,031±	1,05±	1,041±

При исследовании показателей качества молока (табл 3.6) полновозрастных коров-доноров черно-пестрой породы установлено менее существенное влияние на гормональные обработки по показателям молочности (-1,83%), содержания жира (-1,13%), белка (0,89%), сухого вещества (0,40%) СОМО (0,56%), а данные плотности, кислотности и содержания фосфора были на одном уровне, а разница содержания кальция в молоке снизилась на 5,56%, золы – на 2,67% при одновременном повышении затрат корма на 1 кг молока с содержанием 4% жира – на 0,01 ЭКЭ.

Таблица 3.6 Показатели качества молока из полновозрастных коров-доноров айрширской породы

Показатели	Группа		
	контроль	половозрастные группы	
		первотелки	полновозрастные
Среднесуточный удой, кг	15,33±0,56	14,81±0,32	15,63±0,43
Содержание жира, %	3,52±0,07	3,50±0,04	3,56±0,06
Содержание белка, %	3,38±0,03	3,35±0,02	3,43±0,01
Сухое вещество, %	12,63±0,17	12,60±0,14	12,60±0,11
СОМО, %	8,90±0,11	8,86±0,09	8,93±0,13
Мол. сахар, %	4,49±0,08	4,45±0,05	4,52±0,03
Плотность, °А	29,10±0,24	29,08±0,23	29,12±0,17
Кислотность, °Т	18,29±0,09	18,23±0,10	18,30±0,12
Са, %	0,18±0,001	0,17±0,001	0,19±0,003
Р, %	0,12±0,002	0,11±0,003	0,13±0,001
Зола, %	0,74±0,08	0,73±0,05	0,77±0,07
Расход корма на 1 кг молока с 4% содержанием жира ЭКЭ (ММЖ)	1,04±	1,05±	1,03±

После извлечения эмбрионов все изучаемые показатели восстановлены с некоторым преимуществом первоначального уровня, при снижении затрат кормов.

Таблица 3.7 Влияние производства эмбрионов у коров-доноров из первотелок черно-пестрой породы на качество молока

Показатели	Группы		
	контроль	половозрастные группы	
		первотелки	полновозрастные
Среднесуточный удой, кг	14,79±0,38	14,68±0,47	15,05±0,55
Содержание жира, %	3,54±0,09	3,50±0,07	3,58±0,09
Содержание белка, %	3,40±0,06	3,34±0,05	3,44±0,06
Сухое вещество, %	12,66±0,08	12,61±0,07	12,68±0,11
СОМО, %	8,86±0,10	8,80±0,11	8,95±0,08
Мол. сахар, %	4,50±0,07	4,50±0,08	4,54±0,07
Плотность, °А	28,7±0,34	28,6±0,62	28,7±0,53
Кислотность, °Т	18,23±0,12	18,20±0,11	18,24±0,08
Са, %	0,17±0,006	0,17±0,009	0,18±0,006
Р, %	0,09±0,003	0,08±0,001	0,11±0,002
Зола, %	0,74±0,06	0,72±0,08	0,76±0,04
Расход корма на 1 кг молока с 4% содержанием жира ЭКЭ (ММЖ)	1,04±	1,05±	1,03±

Реакция на гормоностимуляцию коров-доноров из первотелок черно-пестрой породы более результативно повлияло на среднесуточные удои, которые снизились на 7,88%. Снижение содержания жира и белка составили 1,14 и 2,40% соответственно. Снижение показателей содержания сухого вещества, СОМО, плотности и кислотности, кальция были на одном уровне, а снижение содержания в молоке фосфора и золы составили 12,5 2,70% соответственно.

После извлечения эмбрионов по завершении влияния гормональных обработок первотелки восстановили первоначальный уровень молочности и качества молока при более интенсивном росте содержания жира, молочного белка, СОМО, кальция и фосфора, а также расхода корма на 1 кг молока с 4/% содержанием ЭКЭ.

Таблица 3.8 Показатели качества молока у полновозрастных коров-доноров черно-пестрой породы на качество молока

Показатели	Группы		
	контроль	половозрастные группы	
		первотелки	полновозрастные
Среднесуточный удой, кг	16,75±0,63	16,58±0,43	16,93±0,63
Содержание жира, %	3,58±0,06	3,54±0,05	3,64±0,03
Содержание белка, %	3,41±0,05	3,38±0,03	3,46±0,06
Сухое вещество, %	12,65±0,11	12,60±0,08	12,68±0,12
СОМО, %	8,95±0,14	8,90±0,09	8,95±0,11
Мол. сахар, %	4,52±0,07	4,54±0,003	4,58±0,05
Плотность, °А	29,16±0,37	29,16±0,42	29,26±0,31
Кислотность, °Т	18,18±0,14	18,16±0,23	18,18±0,28
Са, %	0,19±0,007	0,18±0,005	0,21±0,003
Р, %	0,14±0,001	0,13±0,003	0,16±0,001
Зола, %	0,77±0,06	0,75±0,05	0,78±0,007
Расход корма на 1 кг молока с 4% содержанием жира ЭКЭ (ММЖ)	1,04±	1,05±	1,03±

Гормональные воздействия на полновозрастных коров-доноров оказало стимулирующее действие на изучаемые показатели. Так, среднесуточный удой по сравнению с началом экспериментального периода (до гормоностимуляции) повысилось на 180г (1,08%), с периодом суперовуляционной реакции – на 350 г (2,11%), содержанием жира - на 1,68% и 1,68%, белка - на 1,47 и 2,37%, молочного сахара – на 1,33 и 0,88%, кальция – на 10,53 и 16,67%, фосфора – на 14,29 и 23,08% соответственно.

Таким образом, по результатам доек подопытных коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой породы установлено, что молочная продуктивность полновозрастных исследуемых групп была выше, чем у первотелок и удои за исследуемый лактационный период были выше у айрширских коров, на 1,17 кг, 1,65 и 1,29 кг, черно-пестрых на 1,96 кг, 1,90 и 1,88 кг во всех периодах исследований однако различия не были достоверными.

Более результативны были показатели содержания жира в молоке, когда различия между первотелками и полновозрастными коровами айрширской породы составляли 2,03%; 3,55 и 2,30%, черно-пестрой породы 1,13%; 1,14 и 1,68% в пользу полновозрастных коров соответственно во всех периодах исследований.

Показатели содержания белка в молоке в подопытных группах были менее существенны и различия сравнительных групп колебались в пределах + 0,29; + 1,2 и + 0,58% соответственно в исследуемых периодах.

Исследования расхода корма на 1 кг молока с содержанием 4% жира у подопытных коров-доноров, при суперовуляционной реакции было выше и у полновозрастных коров-доноров имели тенденцию к снижению.

Таким образом, исследования показателей живой массы и молочной продуктивности подопытных коров-доноров позволяют сделать следующие выводы:

– в показателях среднесуточных удоев у полновозрастных групп существенных различий не установлено;

- содержание жира и белка в молоке у полновозрастных коров-доноров по сравнению с первотелками были существенно выше при преимуществе показателей черно-пестрых доноров;
- в показателях расхода корма на производство 1 кг молока с 4% содержанием жира в подопытных группах до и после гормональных обработках не установлены существенные различия, у полновозрастных животных имели тенденцию к снижению;
- в условиях ООО «Ираф-Агро» и племхозе «Осетия» созданные условия кормления, содержания телок как айрширской, так и черно-пестрой пород обеспечивают живую массу, первотелок в пределах 509,4-511,3 кг., полновозрастных доноров 552,6-560,8 кг., при молочной продуктивности 5014-5093 кг. у первотелок и 5119-5176 кг у полновозрастных коров, которые соответствуют физиологическим нормам и требованиям к коровам-донорам.

3.2. Морфологические и иммунобиологические показатели крови коров-доноров

Из средовых факторов, влияющих на проявление у коров предрасположенности к многоплодию, определены только сезон года и условия кормления, обеспечивающие высокий иммунобиологический статус маточного поголовья, который ярко проявляется в гематологических показателях (Никитин А. и др., 2000; Темираев Р.Б. и др., 2009; Шеремета В.И. и др., 1996; Шитиков В.В. и др., 2011; Темираев Р.Б., 2009; Семенович Т.В., 2012).

Подбор коров-доноров для производства эмбрионов должен отвечать определенным требованиям, из которых приспособление к определенным условиям климата, содержания, кормления, эксплуатации являются важными звеньями (Темираев Р.Б. и др., 2009).

Исследования показали, что при одинаковом уровне кормления, содержания, и природно-климатических условиях, морфологические

показатели у разных животных как одной и той же породы, так и разных пород могут существенно различаться.

При этом морфологические показатели крови, являются важнейшим критерием, отражающим степень адаптации организма к конкретным условиям среды.

3.2.1. Эритропоэз и тромбопоэз

Обоснование выбора породной группы для эффективного производства высококачественных эмбрионов и использования в биотехнологии трансплантации, имеет важное значение успешного воспроизводства потомства, с одной стороны, высоких производственных показателей, продуктивных качеств, заложенных в организме генетически, с другой, производства телят-трансплантантов, имеющий важное значение в экономическом плане.

Учитывая выше изложенное, исследование гематологических показателей как иммуногенетического маркера планируемых породных групп коров-доноров, а также коров реципиентов, может иметь практическое значение для физиологического обоснования и высоких результатов эмбриотрансплантации.

На практике животноводства вопросам исследования гематологического статуса животных, уделяется огромное значение отечественными и зарубежными исследователями (Симонова Н.В. и др., 2001; Левантин Д.Н., 1995; Шириев В.М. и др., 1996; Шеремета В.И. и др., 1996; Dalton T.P., et.al., 1999; Kamata W. et.al., 1999).

Исследования эритропоэза и тромбопоэза показали (табл.3.9), что эритропоэз в группах полновозрастных коров-доноров был более активным

Содержание эритроцитов в группе полновозрастных коров-доноров айрширской породы был выше по сравнению с показателями первотелок на $0,33 \cdot 10^{12}/л$ (5,37%), аналогичные результаты среди коров-доноров черно-

пестрой породы составили $0,21 \cdot 10^{12}/л$ (2,84%). Более существенны были различия соответствующих групп между породами. Содержание эритроцитов у первотелок черно-пестрых животных по сравнению с данными айрширской породы составило $0,54 \cdot 10^{12}/л$ (8,79%) при $P < 0,05$, у полновозрастных аналогичные различия составили $0,40 \cdot 10^{12}/л$ (6,18%) при $P < 0,05$.

Таблица 3.9 Показатели эритропоза и тромбопоза коров-доноров

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные
Эритроциты, $10^{12}/л$	6,14±0,11	6,47±0,08	6,68±0,21*	6,87±0,12*
Средний объем эритроцита,	46,19±0,14	46,53±0,20	46,50±0,16	46,61±0,21≈
Среднее содержание гемоглобина в эритроците,pg	6,85±0,08	17,74±0,13**	18,34±0,11	19,20±0,13**
Гематокрит, %	25,72±0,322	26,16±0,52	27,17±0,38**	27,38±0,33*
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, g/l	381,4±3,14	387,4±2,74	389,2±2,41	392,8±3,10≈
Средний объем тромбоцита, fl	5,9±0,11	6,0±0,06	6,4±0,03	7,0±0,07≈
Показатель гетерогенности тромбоцита, %	26,82±12	26,91±0,08	27,84±0,07	27,79±0,11
Тромбокрит, %	0,203±0,09	0,212±0,011	0,211±0,010	0,220±0,006≈
Гемоглобин/л	103,17±1,17	105,29±2,14	107,22±0,936*	111,28±1,82*

Таким образом, эритропоз в группах полновозрастных коров-доноров сравниваемых групп был выше показателей первотелок, однако, показатели содержания эритроцитов у всех групп животных был в пределах физиологических норм.

Средний объем эритроцитов у полновозрастных групп коров-доноров по сравнению с первотелками имел тенденцию к повышению и различия колебались в пределах 0,74-0,24%.

Более высокое содержание гемоглобина в эритроците отмечено в группе полновозрастных коров-доноров айрширской породы по сравнению с

первотелками и составило 0,89 рд ($P < 0,01$), различие аналогичного показателя среди животных черно-пестрой породы составили 0,86 рд ($P < 0,01$).

Анализ средней концентрации гемоглобина в эритроцитах у полновозрастных коров-доноров, показал, что полновозрастные подопытные животные превосходили первотелок на 6,0-3,6 д/е, однако различия не носили достоверный характер.

В показателях гематокрита отразились данные эритропоеза и различия между первотелками и полновозрастными коровами составили 1,44% ($P < 0,05$) и 1,22% ($P < 0,05$) среди айрширов и соответственно черно-пестрых.

Исследования среднего объема тромбоцита, тромбокрита и гетерогенности тромбоцитов в подопытных группах коров-доноров не выявили существенных различий и колебались в пределах видовой нормы при превосходстве полновозрастных.

В процессах метаболизма живых систем, также как буферная система организма, гемоглобин играет первостепенную роль.

У подопытных группах коров-доноров первотелки уступили полновозрастным по показателям синтеза гемоглобина, айрширы на 2,12 г/л, черно-пестрые на 4,06 г/л. Более существенны были различия сравниваемых групп первотелок и полновозрастных животных, по черно-пестрой породе, которые составили, в первом случае, физиологическим нормам.

Таким образом, результаты исследований показателей гемопоэза и тромбопоэза коров-доноров дают основание сделать следующие выводы:

- гематологические показатели первотелок и полновозрастных коров-доноров, как айрширской, так и черно-пестрой породы соответствуют физиологическим нормам;
- показатели содержания эритроцитов были достоверно выше среди коров-доноров из первотелок и полновозрастных черно-пестрой породы;

- данные синтеза гемоглобина повторяют закономерности эритропоэза коров-доноров по обоим породным группам;
- показатели среднего объема эритроцитов , среднего содержания гемоглобина в эритроците средней концентрации гемоглобина в эритроците положительно коррелируют с эритропоэзом и синтезом гемоглобина в пользу полновозрастных подопытных животных;
- показатели гематокрита при высокой достоверности и тромбокритпа соответствовали в целом гемопозу и тромбопозу и в группах полновозрастных коров-доноров имели тенденцию к повышению.

В целом по показателям эритропоэза все половозрастные группы коров-доноров, как айрширской, так и черно-пестрой породы можно использовать для производства эмбриопродукции.

3.2.2 Лейкограмма

Лейкоциты – как фактор, определяющий иммунную систему, наряду с функциональным состоянием организма, позволяют резюмировать о разнообразных проявлениях реакций (живых систем) связанных эволюционно со специфическими звеньями иммунитета и являются физиологической основой для защитных реакций организма в конкретных условиях окружающей среды (Оказов Т.А., 2009; Шитиков В.В. и др., 2011; Тезиев Т.К. и др., 2008; Будевич А.И., и др., 2008; Никитин А. и др., 2008).

Важным показателем уровня естественной резистентности живых систем являются лейкоциты, в связи с чем определенный научно-практический интерес представляет изучение лейкоидной формулы и изменения состава лейкограммы который по мнению ряда авторов имеет важное диагностическое значение для выбора коров-доноров (Бойко А.Г., 1992; Грушевский И.Ю., 2013; Грушевский И.Ю. и др., 2013; Леткевич В.П. и др., 1990; Мамукаев М.Н. и др., 2013; Рябых В.П., 1989; Ситниченко Н.В., 1994; Шитиков В.В. и др., 2011; Ибрагимов У.З. и др., 2010).

Наши исследования показали, что содержание лейкоцитов у исследуемых групп как первотелок, так и полновозрастных коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород были в пределах видовой нормы (табл. 3.10).

Показатели содержания лейкоцитов у полновозрастных коров-доноров айрширской породы были выше по сравнению с первотелками на $0,33 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P > 0,05$). Аналогичные различия в группе черно-пестрой породы составили $0,48 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$). В целом лейкопоз различий между первотелками айрширов и черно-пестрых был в пользу вторых на $0,49 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$), показатели полновозрастных коров-доноров черно-пестрой породы были выше по сравнению с показателями полновозрастных коров айрширской породы на $0,65 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,01$), с первотелками внутри породы – на $0,48 \cdot 10^9/\text{л}$ ($P < 0,05$).

Таким образом, из подопытных групп коров-доноров внутри породных групп содержание лейкоцитов было выше у черно-пестрых коров и полновозрастных животных, но в целом у всех исследованных коров-доноров показатель был в пределах физиологической нормы.

Показатели суперовуляции базофилов в крови коров-доноров в подопытных группах были практически на одном уровне с некоторым преимуществом первотелок. Аналогичные результаты установлены по содержанию эозинофилов, палочкоядерных и сегментоядерных нейтронов. Исследования показали, что различия содержания юных нейтрофилов, в группе коров-доноров первотелок черно-пестрой породы были ниже аналогичных показателей айрширов на 0,13% ($P < 0,05$), в остальных подопытных группах были практически равны с некоторым превосходством данных первотелок.

Таблица 3.10 Лейкограмма коров-доноров

Показатели	Айрширы			Черно-пестрые					
	Группа								
	первотелки	полновозрастные	P 2-1	первотелки	P 3-1	полновозрастные	P4-1	P 4-2	P 4-3
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	5,6±0,11	5,93±0,13	>0,05	6,09±0,14	<0,05	6,58±0,12	<0,01	<0,01	<0,05
Лейкограмма %									
Базофилы	1,17±0,04	1,01±0,03	>0,05	1,11±0,07	>0,05	1,08±0,02	>0,05	>0,05	>0,05
Эозинофилы	3,42±0,09	3,52±0,21	>0,05	3,59±0,11	>0,05	3,53±0,08	>0,05	>0,05	>0,05
Нейтрофилы:									
юные	0,75±0,03	0,72±0,12	>0,05	0,62±0,07	<0,05	0,53±0,08	<0,01	>0,05	>0,05
палочкоядерные	4,3±0,12	4,28±0,04	>0,05	4,14±0,08	>0,05	4,18±0,07		>0,05	>0,05
сегментоядерные	26,3±0,74	25,11±0,92	>0,05	25,52±0,43	>0,05	25,16±0,68		>0,05	>0,05
Лимфоциты	60,14±0,86	61,98±1,82	>0,05	61,84±1,17	<0,05	62,3±1,20	<0,01	<0,05	<0,05
Моноциты	3,92±0,11	3,38±0,21	>0,05	3,18±0,13	>0,05	3,32±0,17		>0,05	>0,05

Различия показателей содержания лимфоцитов в крови доноров у полновозрастных по сравнению с первотелками были на 1,97% ($P < 0,05$) внутри айрширской породы и на 1,25% ($P < 0,05$)- у черно-пестрых животных. Достоверно были также различия показателей лимфоцитов между первотелками полновозрастными коровами-донорами черно-пестрой породы.

Показатели содержания в крови моноцитов подопытных группах были практически на одном уровне и соответствовали физиологическим нормам.

Таким образом, в лейкограмме подопытных коров-доноров просматривается закономерно более высокие параметры у полновозрастных групп.

3.2.3. Биохимические показатели

Кровь является жидкой средой организма, которая обладает биохимическими свойствами, осуществляет транспортировку питательных и биологически активных веществ и продуктов метаболизма и может играть важную роль в обеспечении высоких результатов жизнеспособности эмбриопродуктивности коров-доноров (Ибрагимов Ю., 1991; Никитин А. и др., 2000; Семенович Т.В., 2012; Темираев Р.Б. и др., 2009; Шеремета В.И. и др., 1996; Grossman M. et.al., 1989; Dalton T.P. et.al., 1999; Kamata W. et.al., 1999).

Исследования показали, что по содержанию общего белка и его фракций наиболее высокое содержание общего белка установлено в сыворотки крови полновозрастных коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой пород на 3,52% и на 2,98%, соответственно без достоверных различий. Аналогичные различия установлены по показателям альбуминовой фракции белков (табл. 3.11).

Таблица 3.11 Биохимические показатели сыворотки крови коров-доноров, n=5

Показатели	Айрширы			Черно-пестрые						
	Группа									
	1-первотелки	2-полновозр.	Р 2-1	3-первотелки	Р 3-1	Р 3-2	4-полновозр.	Р 4-1	Р 4-2	Р 4-3
Общий белок, г/л	78,94±0,04	81,72±0,63	>0,05	82,44±0,73	<0,05	>0,05	84,82±0,42	<0,01	<0,05	>
Альбумины, г/л	34,21±0,32	35,14±0,48	>0,05	35,18±0,67	>0,05	>	35,69±0,38	>0,05	>0,05	>
Глобулины, г/л	44,73±0,30	46,58±0,31	<0,05	47,26±0,78	<0,05	>	49,13±0,62	<0,01	>	>
α-глобулины	11,45±0,12	11,79±0,08	>0,05	12,38±0,14	>	>	12,61±0,09	>0,05	>	>
β-глобулины	10,54±0,23	11,32±0,07	>0,05	10,77±0,11	>	>	11,16±0,05	>0,05	>	>
γ-глобулины	22,74±0,24	23,47±0,24	>0,05	24,11±0,27	>	>	25,36±0,11	<0,05	<0,05	<0,05
Коэффициент, А/Г	0,765	0,754		0,744			0,725			
Общий кальций ммоль/л	11,54±0,42	12,14±0,56	>0,05	12,24±0,88	>	>	12,51±0,74	>0,05	>	>
Неорганический фосфор ммоль/л	7,49±0,22	8,14±0,31	>0,05	8,72±0,14	<0,05	>	8,74±0,28	>	>	>
Резервная щелочность об%СО ₂	48,72±3,7	49,38±2,9	>0,05	50,34±3,8	<0,05	>	50,73±2,1	>	>	>
Каротин ммоль/л	1,76±0,08	1,88±0,11	<0,05	1,93±0,07	>0,05	>	2,18±0,14	>	>	>

Более существенны были различия показателей в сыворотки крови глобулиновой фракции белков. У полновозрастных коров-доноров айрширской породы содержание глобулинов было выше по сравнению с первотелками на 1,85г/л ($P > 0,05$), а по показателям глобулиновой фракций показатели полновозрастных имели тенденцию к повышению без достоверных различий.

По содержанию альбуминов между первотелками и полновозрастными коровами-донорами черно-пестрой породы достоверных различий не установлено, а показатель глобулиновой фракции был выше на 1,87%г/л ($P < 0,05$) и если показатели фракций α и β глобулинов был выше на 1,25 г/л при ($P < 0,05$) чем у айрширов.

Показатель альбумин-глобулинового коэффициента были выше у коров-доноров первотелок.

При сравнении показателей содержания общего белка между первотелками и полновозрастными коровами-донорами породных групп последние отличались более высокими показателями и различия составили 3,50 г/л ($P < 0,05$) и 3,10 г/л ($P < 0,05$) соответственно.

Установлено, что наиболее высокие показатели общего белка и белковых фракций наблюдается у полновозрастных коров-доноров черно-пестрой породы.

Исследованиями содержания в сыворотке общего кальция в подопытных группах коров-доноров достоверных различий не установлено, однако и здесь у полновозрастных групп коров отмечено некоторое преимущество. Аналогичная динамика показателей содержания в сыворотке крови неорганического фосфора, установлены в подопытных группах с разницей, что различия между первотелками сравниваемых пород были достоверно выше у черно-пестрой породы на 1,23 ммоль/л ($P < 0,05$).

Показатели резервной щелочности сыворотки крови были в пользу полновозрастных коров-доноров и различия были в пределах 1,35-0,77%, а более высокий результат щелочности крови у первотелок черно-пестрой породы, что достоверно выше по сравнению с показателем айрширской породы на 1,62 об% CO_2 ($P < 0,05$).

Различия содержания каротина в сыворотке крови между первотелками и полновозрастными коровами-донорами составили 0,12 ммоль/л ($P > 0,05$) у айрширской и 0,25 ммоль/л ($P > 0,05$) у черно-пестрой пород.

Таким образом, биохимические показатели сыворотки крови сравниваемых групп коров-доноров выявили более высокие показатели полновозрастных животных, а биохимические показатели черно-пестрой породы по сравнению с айрширской были выше, что по всей вероятности, связано с продолжением процесса адаптации к условиям предгорной зоны Северного Кавказа.

3.3. Методика извлечения и оценка качества эмбрионов

Анализ данных показывает, что результативность производства эмбрионов бескровными методами колеблется от 42 до 56% числа желтых тел и в редких случаях бывает выше 71-92%, исследователи проводили опыт на небольшом поголовье животных, (до 24-40). Недостатком нехирургического способа извлечения эмбрионов является нанесение механических повреждений слизистых оболочек половых органов (шейки и рогов матки), однако нехирургическое извлечение эмбрионов имеет ряд преимуществ применения метода на животноводческих объектах, многократно использовать как коров-доноров, так и реципиентов и возможность совершенствования на основе полученных результатов.

При разработке метода извлечения эмбрионов у коров-доноров нами использован резиновый двухканальный катетер ВИЖа состоящий из трубки, конец которой имеет надувной баллончик и шесть отверстий, обеспечивающие введение промывной среды в рог матки. Конец рабочей части трубки резиновый и имеет жесткий вкладыш с отверстием для фиксации стилета. Надувной баллончик зафиксирован на резиновую трубку, а воздухоносный канал снабжен отверстием, а другой конец надувного канала, выполнен в виде расширенной формы, наружный канал которого конусообразный и в него вставляется металлический переходник, имеющий замковый узел, фиксирующий стилет с конечной частью металлического переходника, который вставляется в трубку.

Катетер в рабочее состояние приводится путем вставления металлического переходника в металлический стилет и фиксируют в рабочей части.

Устройство стерилизуют кипячением, а резиновые катетеры стерилизуют спиртом за 1,5-2 часа до начала работы, внутренний канал трубки промывают фосфатно-солевым буферным раствором, затем катетер смазывают стерильным вазелиновым маслом и помещают в полиэтиленовый чехол.

Перед извлечением эмбрионов животных фиксируют в станке, освобождают прямую кишку, наружные половые органы тщательно моют водой с мылом, дезинфицируют аэрозолем «Септонекс» или 70% этанолом, а для снятия напряжения с шейки матки проводят сакральную анестезию 2% новокаина в дозе 5 мл. между последним крестцовым и первым хвостовым позвонками.

Катетер вводят в шейку матки, снимают чехол, продвигают в матку и размещают в одном из рогов матки. Стиллет удаляют по мере продвижения катетера до нужной глубины, в баллон надувают 10-15 см³ воздуха. Через

основной канал шприцем нагнетают 50-100 мл промывной среды и с помощью этого шприца удаляют из рога матки жидкость, который переносят во флакон емкостью 500 мл. процедуру повторяют 8-9 раз и после снятия стилета с помощью тройника прикрепляют систему шлангов, конец одного из которых соединяется с флаконом со средой, а второй опускают в мерный цилиндр на 500 мл. Среду подают самотеком путем подвешивания флакона на штативе. Поступление жидкости из флакона и её отток из рога матки регулируют зажимами, а отток контролируют ректально и учитывают количество введенной и собранной промывной жидкости (фосфатно-солевой буфер Дюльбеко) затем промывают.

Второй рог промывают в той же последовательности для извлечения эмбрионов. После вымывания в матку вводят раствор антибиотиков (пеницилин+стрептомицин по 500 тыс. ИЕ в 20 мл 0,5% новокаина).

Основными причинам неудачного извлечения эмбрионов иногда являются:

- у доноров провести катетер через шейку матки не удастся, (первотелок);
- отверстия наконечника катетера закупорено слизью, нарушения эндометрия при чрезмерном или быстром наполнении баллона воздухом и механические повреждения слизистой матки, в промывной жидкости появляется кровь.

После промывания рогов матки коровы-донора, флаконы с промывной жидкостью оставляют на 30 минут в термостате при 37⁰С для осаждения эмбрионов, затем верхнюю часть жидкости удаляют с помощью шприца с длинной иглой, оставляя 60-100 мл среды и переносят в 2-3 пластмассовые чашки Петри, дно которых расчерчено в квадраты (1x1 см).

Под бинокулярной лупой при 15-20 кратном увеличении по квадратам с право налево, сверху вниз и наоборот обнаруживают эмбрионы.

Среду после исследования жидкости в одной плоскости, необходимо сделать вращательные движения чашкой Петри, чтобы исключить потери эмбрионов, прилипших к стенке чашки.

Обнаруженные эмбрионы пипеткой Пастера переносят в стерильные часовые стекла с питательной средой (ФСБ+20% фетальной сыворотки крови теленка или сыворотки крови овцы) и хранят при температуре 37⁰С в 0,5-1 мл питательной среды в часовых стеклах, помещенных в чашки Петри, дно которых покрыто увлажнённой фильтровальной бумагой.

Качество эмбрионов определяют под микроскопом в проходящем свете при 100-160 кратном увеличении, для чего часовые стекла покачивают с целью осмотра эмбрионов и учитывают стадии их развития, возраст, состояние оболочек, бластомеров, бласто-полости, связи между бластомерами, выраженность клеток эмбриобласта и трофобласта, изолируют неоплодотворенные яйцеклетки, нормально развитые эмбрионы, с частичной дегенерацией и дегенеративными изменениями, подлежащие выбраковке.

Неоплодотворенная яйцеклетка имеет форму правильной сферы, прозрачное перивителиновое пространство, гомогенное распределение цитоплазматических телец, дегенерированные неоплодотворенные яйцеклетки характеризуются вытягиванием прозрачной оболочки, ее деформацией, цитоплазма занимает все перивителиновое пространство, иногда наблюдается смещение по одному из полюсов или по периферии, напоминая раннюю 7-ми суточную бластоцисту.

В норме развитые эмбрионы имеют неповрежденные опалесцирующие оболочки и цитоплазму в состоянии дробления, которая соответствует возрасту эмбриона. Морула имеет скопление бластомеров, иногда неодинаковых по размеру из-за асинхронности дробления. Цитоплазма морулы гомогенная, бластомеры имеют полигональную связь.

Бластоцисты ранние (6,5-7 дней) характеризуются различными бластополосями, которые дифференцированы на трофобластические и эмбриобластические.

Поздняя бластоциста отличается от ранней наличием большой полости, занимающей все перивителеновое пространство, клетки трофобласта утолщены, хорошо дифференцированы от эмбриобласта, оболочка утолщена и растянута.

Эмбрионы с частичной дегенерацией характеризуются несимметричным расположением бластомеров, которые различны по величине, имеют в перивителиновом пространстве гранулы, включения.

Морулы характеризуются частичным разрушением бластомеров, отсутствием деления отдельных бластомеров из которых два или три погибших, остальные продолжают делиться, достигая тем самым развития до поздней морулы или бластоцисты.

Дегенерированные эмбрионы характеризуются распадом бластомеров, фрагментацией цитоплазмы и наличием в перивителеновом пространстве гранул, включений. Прозрачная оболочка имеет дефекты в виде множественных расслоений, разрывов, трещин, сколов.

Заморожено-оттаянные эмбрионы оценивают аналогично по тем же морфологическим показателям, что свежеполученные. Эмбрионы, со значительными повреждениями прозрачной оболочки, разрушением бластомеров, подвергаются дополнительной оценке методом культивирования или выбраковываются (Britto L.F.C. et.al., 2003; Cdeghini E.C. et.al., 2008).

Исследования эмбрионов с момента получения до замораживания занимают от 1 до 3 часов, при котором создаются условия, обеспечивающие высокую жизнеспособность эмбрионов.

3.4. Качественный состав эмбрионов, у коров-доноров в зависимости от технологии искусственного осеменения

Суперовуляция у коров-доноров, вызванная введением экзогенных гонадотропинов, сопровождается проявлением комплекса физиологических явлений, отличающихся от таковых при спонтанной овуляции в период естественного полового цикла. Соблюдение параметров искусственного осеменения коров-доноров с индуцированной половой охотой дает основание достичь высокой результативности получения высококачественных эмбрионов для эмбриотрансплантации.

Использование по изучению результативности производства эмбрионов для трансплантации, диктует необходимость изучения качества спермы и разработки наиболее эффективной технологии искусственного осеменения коров-доноров (Осташко Ф.И. и др., 1988).

Результативность разведения крупного рогатого скота во многом зависит от использования спермы быков-производителей с высоким генетическим потенциалом (Антипов Н.С., 2001; Бекмурадов М., 1985; Дерезанцев В.И. и др., 1998; Рябых В.П., 1989).

Одним из показателей более высокого качества и устойчивости спермиев, является возраст быков (Devkota B. et.al., 2008; Hallap I et.al., 2004; Halbid L.et.al., 2007; Paurik P. et.al., 2004) и сезон года сбора эякулята (Koivisto M.B. et.al., 2009; Koonjaenak S. et.al., 2007; Mc Parland S. et.al., 2010).

Вместе с тем учитывая то, что при вызывании суперовуляции у коров, овуляция растягивается во времени на 24 ч и более (Sedlakova L., 1985), искусственное осеменение при половой охоты необходимо проводить 2-3-кратно с интервалом в 9-12 ч, используя каждый раз двойную дозу высококачественной спермы (около 30 млн.), рекомендуемое многими исследователями (Sedlakova L., 1985; Morris C.A. et.al. 1990) в случаях

применения сывороточных и гипофизарных гонадотропинов с узким соотношением ФСГ и ЛГ. Применение ФСГ-супер вызывает более быструю и синхронную суперовуляторную реакцию у коров-доноров, что подтверждается получением эмбрионов с большей стадийной синхронностью развития (табл. 3.12).

Таблица 3.12 Показатели эмбриопродуктивности коров-доноров при разных условиях искусственного осеменения

n=10

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	условия осеменения			
	однократно	двукратно	однократно	двукратно
Положительных по извлечению, n	8	10	9	10
извлечено эмбрионов: всего	57	75	67	81
на 1 донора, n	7,1±0,06	7,5±0,08	7,4±0,10	8,1±0,12*
в том числе пригодных, n	4,1±0,03	4,6±0,04*	4,6±0,05	5,4±0,11**
непригодных, n	3,0±0,02	2,9±0,03	2,9±0,06	2,7±0,03
В том числе:				
дегенерированных, отставших в развитии, n	1,6±0,03	1,7±0,05	1,6±0,02	1,6±0,03
%	22,54	22,67	21,62	19,75
неоплодотворенных, n	1,4±0,01	1,2±0,02	1,3±0,01	1,1±0,01
%	19,72	16,00	17,57	13,58
Пригодных эмбрионов: n	33	46	41	54
%	57,89	61,33	61,19	66,67
Из них: отличных: n	23,	34	29	40
%	69,70	73,91	70,73	74,07
хороших, n	6	9	9	12
%	18,18	19,57	21,95	22,22
удовл., n	4	3	3	2
%	12,12	6,52	7,32	3,70

Результаты исследований показали, что использование однократно и двукратно двойной дозой спермы при ректоцервикальном осеменении айрширских и черно-пестрых коров-доноров через 60-62 ч от первой инъекции простагландина F₂α получено оплодотворенных эмбрионов 80,28-84,00% у айрширских коров-доноров и 82,43-86,42% у черно-пестрых коров-

доноров соответственно при одно- и двукратном осеменении двойной дозой оплодотворенных яйцеклеток. Различия данного показателя по сравнению с осеменением двойной дозой спермы однократно и двукратно были существенными.

Выход качественных эмбрионов был повышен при снижении кратности осеменения на 3,58% (57,75 против 61,33%) у айрширских и на 5,51% (66,67 против 61,16%) у черно-пестрых коров-доноров, в том числе эмбрионов «отличного» качества на 4,21% (69,70 против 73,91%), и 3,534% (70,73 против 70,73%), хорошего качества на 1,39% (18,18 против 19,57%) и на 0,27% (21,95-22,22) и наоборот, эмбрионов «удовлетворительного» качества было больше при осеменении однократно на 5,60% (12,12 против 6,52%) и на 3,62% (7,32 против 3,70%) соответственно у айрширов и доноров черно-пестрой породы.

Результаты исследований технологии искусственного осеменения коров-доноров позволяют рекомендовать осеменение двойной дозой двукратно с интервалом 10-12 часов обеспечивающий повышение оплодотворяемости эмбрионов, выхода эмбрионов с преимуществом отличного и хорошего качества.

3.5. Морфологические показатели яичников коров-доноров при обработке гонадотропинами фертагил, хорулон, прогестерон

Важным звеном в технологии эмбриотрансплантации в скотоводстве является стимуляция гормональная реакция коров-доноров предсказуемость состояния яичников. Анализ источников отечественной и зарубежной литературы показывает, что эмбриопродуктивность коров-доноров существенное влияние оказывает сезон года, организация кормление потребность физиологической нормы, обеспечивающее нормальное

состояние органов размножения и течение половых циклов, воздействие психологических, а также применение лазерного излучения на репродуктивные функции животных (Авдеенко В.С. и др., 2008; 2009; Нежданов А.Г. др., 2002; Решетникова И.М., 1989; Смирнова Е.В. и др., 2013; Рябых В.П., 1989).

В тоже время основополагающим факторами повышения эффективности вызывания суперовуляции являются применение гормональных технологий стимуляции роста овариальных фолликулов основанных на изучение динамики взаимодействия гонадотропных гормонов и яичника, в зависимости от породы естественного полового цикла. (Прокофьев М.И., 1983; Ибрагимов Ю., 1991; Мороз Т.А. и др., 1991; 1997; Овсепян А.А. и др., 1997).

На вопросы гормональной суперовуляции одни авторы отмечают отрицательное влияние экзогенных стимуляторов гормональной регуляции фолликулогенеза и считают, это причиной слабой ответной реакции яичников коров-доноров.

Другие слабую ответную реакцию яичников на введение гонадотропинов связывают с функциональным состоянием яичников коров-доноров до начала обработки гормонами отрицают физиологическую реакцию содержание гонадальных препаратов в крови доноров и считают, что большого количества малых фолликулов (2-3мм), активно реагируют на введение гонадотропинов, а отсутствие крупных (10 мм), которые оказывают отрицательное влияние на развитие мелких фолликулов обеспечивают высокий уровень суперовуляции доноров.

Учитывая выше изложенное, ультразвуковая диагностика имеет важное значение не только для беременности, но и для выявления состояния

яичников доноров, их реакции на вводимые гонадотропины (Седлецкая Е.С. и др., 2011; 2012; 2013).

Учитывая важное значение суперовуляционной реакции доноров на показатели крупного фолликулогенеза к началу введения фолликулостимулирующего гормона (10-12 день) с целью одновременного созревания крупных и мелких фолликулов (до 2-4 мм), которые имеют первостепенное значение при суперовуляции и производства эмбрионов.

Таким образом, при организации исследований по изучению фолликулогенеза перед нами стояли следующие задачи:

- изучить влияние разных гонадотропинов на фолликулогенез, рост и развитие фолликулов у коров-доноров;
- определить влияние гормонов яичника на фолликулогенез и разработать более совершенный метод регуляции роста фолликулов коров-доноров перед суперовуляцией.

3.5.1. Исследование состояния яичников коров-доноров контрольной группы

Ультразвуковые исследования яичников коров-доноров показали (табл. 3.13), что до вызывания суперовуляции (7-9 день полового цикла) общее количество полостных фолликулов не изменялось и колебалось в пределах 29,5-31,5 мм в группе коров-доноров айрширской и 29,7-31,7 мм в группе черно-пестрых доноров при относительно однократном количестве фолликулов разного диаметра с незначительным преимуществом показателей диаметра фолликулов последних (0,7-0,6%).

На 10 день и последующие дни введения гонадотропина ФСГ-супер количество фолликулов к 12 дню возросло с 30,2 до 36,6 (20,8%) за счет

увеличения числа фолликулов диаметром 5-8 мм 2,1 до 4,3 мм (2,1 раз) и диаметром более 8 мм с 0,3 до 3,1 мм (6,2 раз) в группе коров-доноров айрширской породы по показателям черно-пестрой породы доноров с 30,6 до 36,9 (20,6%), 2,2-4,7 мм(2,1 раз) и с 1,0 до 2,7 мм (2,7 раз).

Дальнейшее исследование полостных фолликулов в яичниках не поддавалось точной диагностике.

Таблица 3.13 Ультразвуковые исследования яичников коров-доноров контрольной группы

Стадия полового цикла, день	Морфологические показатели состояния фолликулов в яичниках			
	Айрширы			
	Количество фолликулов диаметром более 2 мм			
	всего	в том числе диаметром, мм		
7	29,5±1,9	25,3±1,2	2,6±0,4	1,6±0,3
8	28,9±1,5	24,6±1,6	2,4±0,3	1,9±0,1
9	31,5±1,8	27,9±1,3	2,3±0,1	1,3±0,3
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	30,3±1,3	27,7±1,6	2,1±0,4	0,5±0,1
11	32,9±1,8	28,8±1,4	2,9±0,6	1,2±0,2
12	36,6±2,2	29,2±2,2	4,3±0,7	3,1±0,1
13-14	не диагностируются			
Черно-пестрые				
7	29,7±1,8	25,5±1,6	2,8±0,3	1,4±0,1
8	29,1±1,4	24,8±1,2	2,5±0,5	1,6±0,2
9	31,7±1,9	28,1±1,7	2,6±0,6	1,5±0,4
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	30,6±1,6	28,2±1,1	2,2±0,3	1,0±0,2
11	33,0±1,9	29,4±1,8	3,1±0,8	1,3±0,1
12	36,9±2,1	29,5±1,9	4,7±0,5	2,7±0,1
13-14	не диагностируются			

Таким образом, при относительно разных диаметров фолликулов 7-9 дневных коров-доноров при естественном протекании полового цикла, введение гонадотропина ФСГ-супер с 10 по 12 день полового цикла

стимулирует рост фолликулов диаметром до 2 мм на 20,8% у айрширских доноров, на 20,5% - у черно-пестрых и в основном более интенсивный рост фолликулов наблюдается диаметром 5-8 мм (2,1) и более 8 мм (6,2-2,7).

3.5.2 Фоликулогенез коров-доноров при обработке фертагилом

Анализ влияния ежедневного введение гонадотропина фертагила с 6 до 9 дня полового цикла коровам-донорам айрширской и черно-пестрой пород на динамику роста фолликулов в яичниках показал, что первоначальное количество фолликулов малого диаметра (2-5 мм) на протяжении четырех дней инъекций гонадотропина снижалось с 3,6 до 2,2 фолликулов диаметром более 8 мм, с 1,3 до 1,1 и с 1,3 до 0,6 соответственно у доноров айрширской и черно-пестрой пород (табл. 3.14).

Введение фертагила в организм самок вызывало лютеинизацию полосных фолликулов, не только фолликулов крупных размеров, но и фолликулов диаметром 2-5 мм, что свидетельствует о том, что лютеинизации подверглись выборочно фолликулы, где наметились отклонения в развитии.

Таким образом, результаты фоликулогенеза коров-доноров фертагилом, дают основание сделать следующие выводы:

- введение гонадотропина с 6 по 9 день полового цикла существенные изменения в фолликулах диаметром как от 2 до 5 мм, от 5 до 8 и более 8 мм существенное влияние на организм не оказала, и они колебались в пределах 0,7 мм в показателях диаметром 2-5 мм, 1,4-1,3 диаметром 5-8 мм и на 0,2-0,7 мм диаметром более 8 мм соответственно в группах доноров айрширской и черно-пестрой пород;

- динамика роста фолликулов у коров-доноров в период, предшествующий суперовуляции существенных различий в породных группах не выявил за исключением более низкого результата фолликулов диаметром более 8 мм в группе черно-пестрых коров, 0,7 мм против 0,2 мм;
- стимуляция суперовуляции гонадотропином ФСГ-супер выявил более низкие показатели размеров фолликулов от 2 до 5 мм (4,0 против 6,5) и более 8 мм (1,5-против 2,2) в группе доноров черно-пестрой породы и более высокие показатели фолликулов диаметром от 5-до 8 мм ,(4,0 против 2,1).

Таблица 3.14 Состояние полостных фолликулов яичников коров-доноров при введении фертагила

Стадия полового цикла, день	Показатели состояния фолликулов в яичниках коров-доноров			
	Айрширы			
	всего	в том числе диаметром, мм		
от 2 до 5		от 5 до 8	более 8	
6	24,1±2,1	20,1±1,8	3,6±0,4	1,3±0,06
7	20,5±2,3	16,8±1,3	2,5±0,6	1,2±0,08
8	19,2±2,0	15,3±1,4	2,4±0,8	1,5±0,05
9	24,1±2,1	20,8±1,3	2,2±0,7	1,1±0,09
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	22,8±2,0	20,3±1,5	1,6±0,4	0,9±0,03
11	27,4±2,6	24,1±1,3	2,1±0,6	1,2±0,03
12	32,6±2,9	26,8±2,05	3,7±0,4	3,1±0,01
13-14	не диагностируются			
Черно-пестрые				
6	25,7±2,4	21,2±1,8	3,2±0,6	1,3±0,3
7	21,7±2,9	17,8±1,2	2,8±0,5	1,1±0,2
8	20,7±2,2	17,9±1,9	1,8±0,4	1,0±0,4
9	23,4±2,8	21,9±1,3	1,9±0,7	0,6±0,5
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	22,8±2,0	21,2±1,4	1,1±1,0	0,5±0,5
11	28,6±1,8	25,5±1,0	2,0±1,1	1,1±0,7
12	32,7±2,5	25,2±2,2	5,5±1,5	2,0±0,6
13-14	не диагностируются			

С 6 по 9 день полового цикла, количество фолликулов разного диаметра в яичниках коров как айрширской так и черно-пестрой пород подготовки (к вызыванию суперовуляции) колебалось не значительно. После введения на 10 день полового цикла гонадотропного препарата ФСГ-супер число резко возросло с 22,8 до 32,6 и с 22,8 до 32,7 в обеих породных группах, а число крупных фолликулов диаметром 5-8 мм, увеличилось с 1,1 до 3,7 и 1,1 до 5,5, а диаметром более 8 мм от 0,9 до 3,1 и 0,5 до 2,0.

При организации ультразвуковых исследований определить при помощи сканера точное количество диаметра фолликулов в период вызывания суперовуляции на 12 день не представляется возможным ввиду нечеткости границ между фолликулами.

3.5.3. Состояние яичников коров доноров при обработке гонадотропином хорулон

Инъекции с 7 по 9 день полового цикла опытных коров доноров лютеинизирующим гормоном хорулон общей дозой 4000 МЕ при ультразвуковом сканировании яичников показали, что первоначальное количество фолликулов крупных размеров на протяжении трех дней снижалось с 3,5 до 1,1 у айрширов и с 3,4 до 1,84 у черно-пестрых доноров, фолликулов диаметром 5-8 мм, повысилось соответственно с 1,2 до 1,8 и с 1,3 до 0,9, фолликулов диаметром более 8 мм в соответствующих группах количество фолликулов диаметром 2-5 мм снижалось в среднем с 23,4 до 20,7 и с 23,8 до 21,2 (табл. 3.15). Применение хорулона вызывало лютеинизацию полосных фолликулов разных размеров, но более активно

крупных фолликул, что объясняется тем, что хорулон действует непосредственно на гонады.

Таблица 3.15. Количественные изменения полостных фолликулов в яичниках коров-доноров при введении хорулона

Стадия полового цикла, день	Показатели состояния фолликулов в яичниках коров-доноров			
	Айрширы			
	всего	в том числе диаметром, мм		
от 2 до 5		от 5 до 8	более 8	
7	28,1±2,1	23,4±0,3	3,5±0,8	1,2±0,04
8	20,6±2,0	18,1±0,7	1,7 ±0,3	0,8±0,03
9	23,4±2,4*	20,7±0,4	1,9±0,7*	1,8±0,06
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	24,8±2,6	22,3±0,6	1,6±0,5	0,9±0,02
11	32,6±2,2	27,9±0,9	3,2±0,8	1,5±0,05
12	35,9±2,9*	28,3±0,7*	5,3±0,4*	2,0±0,03
13-14	не диагностируются			
Черно-пестрые				
7	28,5±2,5	23,8±1,8	3,4±0,6	1,3±0,6
8	21,8±2,0	18,9±1,4	2,3±0,8	0,6±0,05
9	23,9±2,4*	21,2±1,6	1,8±0,4*	0,9±0,01*
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	24,0±2,2	22,1±1,2	1,4±0,9	0,5±0,02
11	31,4±2,6	28,3±1,9	2,1±1,3	1,0±0,07
12	35,3±2,9*	27,1±2,0*	5,4±1,2**	2,8±0,04*
13-14	не диагностируются			

В итоге применение хорулона с 7 по 9 день общее количество полостных фолликулов в яичниках доноров в подготовительный этап суперовуляции сократилось с 28,1 до 23,4 и с 28,5 до 23,9 в соответствующих группах коров. При введении на 10 день полового цикла гонадотропина (ФСГ-супер) для суперовуляционной реакции животных, число фолликулов резко возросло с 24,8 до 35,9 и с 24,0 до 35,3 в исследуемых группах животных, в том числе количество фолликулов диаметром 5-8 мм

увеличилось на 3,7 и 5,0 един, диаметром более 8 мм на 1,1 и 2,3 единиц в соответствующих группах. Ультразвуковое исследование на 13 день полового цикла коров-доноров при суперовуляции не представляется возможным из-за расплывчивости границ между фолликулами. Таким образом, применение лютеинизирующего гормона хорулона лютеинизируют не только крупных, но и мелких фолликулов в яичниках коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой пород.

3.5.4 Фолликулогенез коров-доноров при введении масляного раствора прогестерона

Применение масляного раствора прогестерона с 5 по 7 и 9 дни полового цикла у подопытных групп вызывает определенную ответную реакцию фолликулогенеза которые привели к снижению крупных фолликулов (5-8 мм) с 2,0 до 1,9 ($P < 0,01$) и фолликулов более 8 мм. с 1,1 до 0,6 ($P < 0,05$) в соответствующих группах. В тоже время данные качества фолликулов характеризуются увеличением с 25,0 до 27,3 ($P > 0,05$) и с 26,9 до 31,4 ($P < 0,05$) менее существенны были показатели общее число фолликулов в соответствующих группах (табл. 3.16).

Введение ФСГ-супер на 10 день полового цикла вызвало активное увеличение мелких фолликулов с 28,7 до 34,2 ($P < 0,05$) и с 32,8 до 36,4 ($P < 0,05$), соответственно в группах изучаемых доноров на показателях количество крупных фолликулов данный прием не оказал достоверного.

Таблица 3.16 Показатели состояния фолликулов яичников коров-доноров при введении прогестерона

Стадия полового цикла, день	Показатели состояния фолликулов в яичниках коров-доноров			
	Айрширы			
	всего	в том числе диаметром, мм		
от 2 до 5		от 5 до 8	более 8	
5	28,6±2,1	25,0±1,3	2,6±0,4	1,0±0,01
7	26,1±2,0	22,5±1,4	2,8 ±0,6	0,8±0,02
9	30,8±2,4	27,3±1,6	1,9±0,9*	1,6±0,05*
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	32,9±2,8	28,7±1,2	2,6±0,5	1,6±0,07
11	38,7±2,9	38,1±1,0	1,7±0,5	0,9±0,03
12	37,2±3,1	34,3±1,4	1,8±0,8	1,1±0,06
13-14	не диагностируются			
Черно-пестрые				
6	31,4±2,2	26,9±1,9	2,9±0,6	1,6±0,02
7	29,6±2,6	26,6±1,8	2,1±0,8	0,9±0,06
9	33,2±2,2	31,4±1,6*	1,0±0,5**	0,8±0,04*
Введение гонадотропина ФСГ-супер				
10	35,9±2,4	32,8±1,8	2,5±0,6	0,6±0,04
11	41,7±2,9	37,4±2,4	2,5±1,2	1,8±0,03
12	39,6±3,2	36,4±2,6	1,8±1,2	1,4±0,05
13-14	не диагностируются			

Таким образом, инъекции масляного раствора прогестерона в предшествующий период стимуляции у доноров обеих породных групп животных, приводит к лютеинизации крупных фолликулов, но не блокирует рост мелких фолликул.

3.6. Показатели суперовуляции коров-доноров при обработке гормонами

3.6.1. Суперовуляция и эмбриопродуктивность коров-доноров контрольной группы

Показатели суперовуляции и качественная характеристика эмбриопродукции при естественном течении полового процесса и применении гормональной обработки препаратом ФСГ-супер показали (табл.

3.17.), что положительных по извлечению доноров составило в группах из полновозрастных доноров айрширской и черно-пестрой пород и первотелок черно-пестрых доноров составило по 90%, в то время как у подопытных коров-доноров из первотелок айрширской породы показатель был в пределах 80%.

Таблица 3.17 Уровень суперовуляции и эмбриопродукции у коров-доноров контрольной группы

n=10

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	группы коров-доноров			
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные
Реагировало суперовуляцией, п желтых тел: %	6,1±1,6	6,2±0,14	6,3±0,20	6,8±0,13
Положительных по извлечению доноров, гол.	8	9	9	9
Извлечено эмбрионов: всего:	48	56	58	61
на донора: п	6,0±0,16	6,2±0,14	6,4±0,13	6,8±0,11*
в том числе: пригодных: всего, п	28	33	32	34
непригодных: всего, п	3,5±0,08	3,7±0,7*	3,6±0,09	3,8±0,11
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии, п	2,5±0,04	2,5±0,03	2,8±0,01	3,0±0,05
неоплодотворенных яйцеклеток, п	1,3±0,05	1,5±0,02	1,6±0,04*	1,3±0,07
Оплодотворяемость, %	1,2±0,02	1,0±0,01	1,2±0,01	1,7±0,03
Выход пригодных, п эмбрионов: %	80,0	78,38	78,75	80,00
	28	33	32	34
	58,33	58,92	55,17	55,26

Наиболее низкие показатели общего выхода эмбрионов установлено по группе первотелок айрширской породы (6,0), что ниже показателя полновозрастных доноров на 3,33%, первотелок черно-пестрой породы на 6,67% (P>0,05) и полновозрастных черно-пестрых доноров на 13,33% (P<0,05). Аналогичные различия по выходу пригодных эмбрионов на донора составили 5,71%; 2,86 и 8,57%.

Таким образом, показатели суперовуляции и эмбриопродукции были наиболее высокие у доноров черно-пестрых коров.

Определенный производственный интерес представляет стадии развития эмбрионов (табл. 3.18) по данным которых выход эмбрионов в стадии поздней морулы был наиболее высоким и составил от 46,43 до 50,00, тогда как показатели эмбрионов в стадии бластоцисты ранней составило 30,30-35,14% во всех породных группах, однако, если эмбрионов в стадии бластоцисты поздней было в группе первотелок айрширских доноров 25,00%, то у всех подопытных доноров показатель составил 16,22-18,18%.

Таблица 3.18 Качество эмбриопродукции коров-доноров контрольной группы

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые		
	группы коров-доноров				
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные	
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	n	13	16	16	18
	%	46,43	48,48	50,00	48,65
Бластоциста ранняя:	n	9	10	11	13
	%	32,14	30,30	34,38	35,14
Бластоциста поздняя:	n	6	7	5	6
	%	21,43	21,21	15,12	16,22
Всего:	кол	28	33	32	34
Качественные характеристики эмбрионов					
Отличные	кол	15	19	19	22
	%	53,57	57,58	59,38	59,46
Хорошие	кол	9	9	9	10
	%	32,14	27,27	28,12	27,03
Удовлетворит	кол	4	5	4	5
	%	14,29	15,15	12,50	13,5
Всего:	кол	28	33	32	34

По показателям качества эмбрионов наиболее высокие результаты установлены у черно-пестрых доноров (59,38-59,46%) и полновозрастных коров-доноров айрширской породы (57,58%), тогда как у контрольных коров первотелок айрширской породы был низким (53,57%).

Эмбрионов отличного качества было больше по сравнению с другими данными и они составили в пределах 53,57% (первотелки айрширской породы) и 57,58-59,46% в других группах доноров при превосходстве данных полновозрастных доноров черно-пестрой породы.

Эмбрионов хорошего качества было больше в группе коров-доноров первотелок айрширской породы (32,14%), что больше показателей сравниваемых групп на 5,11-4,02%, тогда как количество эмбрионов удовлетворительного качества было практически на одном уровне (12,50-15,15%).

Таким образом, качественные показатели эмбрионов были наиболее высокие в группах черно-пестрых доноров и доноров из полновозрастных коров айрширской породы.

3.6.2 Суперовуляция коров-доноров при обработке гонадотропином фертагил

Исследования показателей суперовуляции коров-доноров при применении гонадотропина фертагил показали, что во всех сравниваемых группах положительных по извлечению доноров было 90%, на 1 донора извлечено у айрширской породы всего 7,0-7,3 эмбриона, у черно-пестрых по 8,0 эмбрионов в обеих группах (табл. 3.19). Показатели выхода пригодных эмбрионов составили по 4,0 на корову-донора айрширской породы по 4,4-4,8 на доноров черно-пестрой породы.

Таблица 3.19 Уровень суперовуляции и эмбриопродукции у коров-доноров при введении фертагила

n=10

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	группы коров-доноров			
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные
Реагировало суперовуляцией, желтых тел: n	6,3±1,3	6,7±1,12	6,7±0,8	70,1±1,0*
Положительных по извлечению доноров, гол.	9	9	9	9
Извлечено эмбрионов всего:	63	66	72	72
на донора: n	7,0±0,11	7,4±0,18	8,0±0,39*	8,1±0,14*
в том числе: пригодных, n	36	38	41	44
	4,0±0,06	4,0±0,04	4,5±0,08	4,8±0,11*
Непригодных: всего, n	3,0±0,04	3,4±0,03	3,6±0,05	3,3±0,02
в том числе: дегенерированных отставших в развитии, n	1,4±0,03	1,8±0,02*	1,8±0,01*	1,6±0,02
неоплодотворенных яйцеклеток, n	1,5±0,02	1,6±0,01	1,7±0,01	1,6±0,03
Оплодотворяемость %	77,14	78,38	78,75	80,00
Выход пригодных эмбрионов, n	36	36	40	43
	57,14	54,55	55,56	59,72

В целом выход пригодных эмбрионов в группах доноров как айрширской, так и черно-пестрой породы был выше у полновозрастных коров соответственно 54,79% и 60,00%.

Показатели стадии развития морула поздняя превосходила другие стадии и была наиболее высокой среди коров-доноров айрширской породы и составила 55,56-55,26%, тогда как аналогичные результаты среди доноров черно-пестрой породы были меньше на 6,78-2,99% в соответствующих группах (табл. 3.20).

Эмбрионов в стадии бластоцисты ранней было меньше в группе первотелок айрширской породы (33,33%), чем в остальных сравниваемых группах (36-84-36,36%). Эмбрионов в стадии бластоцисты поздней было меньше у полновозрастных доноров айрширской породы - (7,89%), чем у

первотелок данной породной группы и полновозрастных доноров черно-пестрой породы (11,11-11,37), первотелок (14,60%).

Таблица 3.20 Показатели качества эмбриопродукции коров-доноров при обработке гонадотропином фертагил

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые		
	группы коров-доноров				
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные	
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	n	20	20	21	23
	%	55,56	55,56	52,50	53,49
Бластоциста ранняя:	n	12	13	14	16
	%	33,33	36,84	35,00	37,21
Бластоциста поздняя:	n	4	3	5	4
	%	11,11	8,12	12,50	9,30
Всего:	кол	36	36	40	43
Качественные характеристики эмбрионов					
Отличные	кол	20	21	24	26
	%	55,56	58,11	59,72	60,47
Хорошие	кол	9	9	10	11
	%	25,40	25,68	25,00	25,53
Удовлетворительные	кол	7	6	6	6
	%	19,05	16,22	15,28	13,70
Всего:	кол	36	36	40	43

При исследовании качественных показателей эмбрионов установлено что по выходу эмбрионов отличного качества, черно-пестрые доноры превосходили (60,10-61,36) показатели айрширской породы на 4,54% по первотелкам и на 3,47% по полновозрастным коровам.

Эмбрионов хорошего качества было больше в группе из первотелок черно-пестрых доноров (29,27%), чем в остальных подопытных группах (24,27-26,32%), удовлетворительных эмбрионов, наоборот, было меньше у первотелок черно-пестрых доноров (12,20%), чем в остальных группах доноров (15,30-19,44%).

Таким образом, показатели суперовуляционной реакции подопытных коров-доноров при использовании гонадотропина фертагил были наиболее выражены среди коров-доноров черно-пестрой породы, а в показателях

различных стадии развития и качества эмбрионов в сравниваемых группах не установлены существенных различий.

3.6.3 Суперовуляция коров-доноров при воздействии лютеинизирующим гормоном хорулон

Поиск наиболее эффективных гонадотропинов диктует необходимость научного обоснования наиболее результативных гормональных средств.

Исследования суперовуляционной реакции на введение лютеинизирующего гормона хорулон показали (табл. 3.21), что реагировали положительно на вводимый препарат 90% экспериментальных животных из обеих групп.

Таблица 3.21 Уровень суперовуляции и эмбриопродукции у коров-доноров при применении гонадотропина хорулон, n=10

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	группы коров-доноров			
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Реагировало суперовуляцией желтых тел, гол	9,4±0,8	10,3±1,07	10,0±1,1	11,7±1,3
Положительных по извлечению, гол.	9	9	9	9
Извлечено эмбрионов всего: на донора, n	66 7,4±0,14	68 7,6±0,15	73 8,1±1,16	75 8,3±0,15
в том числе: пригодных, n	4,0±0,09	4,2±0,88	4,5±0,6	4,9±0,10
непригодных, n	3,4±0,8	3,4±0,2	3,6±0,3*	3,4±0,1
Из не пригодных: дегенерированных отставших в развитии, n	1,7±0,07	1,8±0,3	1,9±0,2	1,8±0,1
неоплодотворенных яйцеклеток, n	1,7±0,3	1,6±0,4 -0,1	1,7±0,1	1,6±0,4 -0,1
Оплодотворяемость %	77,03	78,95	79,01	80,72
Выход пригодных n эмбрионов, %	36	38	42	44
	54,55	55,88	57,53	58,67

Среднее количество извлеченных эмбрионов в расчете на голову составили среди доноров айрширской породы 7,4 и 7,6, что ниже уровня суперовуляционной реакции черно-пестрых доноров на 0,7 эмбриона во всех половозрастных группах.

Менее существенны показатели получены по выходу пригодных эмбрионов, показатели которых колебались среди доноров айрширской породы от 4,0 до 4,2, черно-пестрых доноров от 4,5 до 4,9 эмбриона.

Данные выхода непригодных эмбрионов положительно согласуются с результатами пригодных эмбрионов (табл. 3.22).

Таблица 3.22 Качество эмбриопродукции коров-доноров при обработке хорулоном

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые		
	группы коров-доноров				
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.	
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	кол	19	20	20	21
	%	53,03	54,41	49,32	47,72*
Бластоциста ранняя:	кол	13	13	17	19
	%	36,36	35,29	35,62	43,18
Бластоциста поздняя:	кол	4	4	5	4
	%	10,61	10,29	15,07	9,09
Всего:	кол	36	38	42	44
Качественные характеристики эмбрионов					
Отличные	кол	19	21	24	26
	%	52,78	56,76	57,14	59,09
Хорошие	кол	10	10	13	14
	%	27,78	27,03	30,96	31,82
Удовлетворительное	кол	7	6	5	4
	%	19,44		11,90	9,09
Всего:	кол	36	38	42	44

Показатели развития пригодных эмбрионов по стадии развития поздней морулы были выше у айрширских коров-доноров в сравнении с черно-пестрыми и различия составляли у первотелок 2,7%, полновозрастных черно-пестрых подопытных животных - 6,33%, эмбрионов в стадии развития

бластоцисты ранней практически в группах доноров из айрширской породы и доноров из первотелок черно-пестрой породы было равное количество (36,11-35,71%), в то время, как у полновозрастных доноров черно-пестрой было больше и составило 43,18% и наоборот, если эмбрионов в стадии развития бластоцисты поздней было больше в группах доноров айрширской породы (11,11-10,81%) и первотелок черно-пестрой породы (14,29%) то показатель был ниже в группе полновозрастных доноров черно-пестрой породы (9,09%)

Таким образом, результаты исследований эмбриопродуктивности подопытных коров-доноров при воздействии гонадотропином хорулон дают основание сделать следующие выводы:

- применение лютеинизирующего гормона хорулон повышает суперовуляционную реакцию и качество эмбрионов коров-доноров;
- наиболее высокую суперовуляционную реакцию по общему выходу эмбрионов и показателю пригодных эмбрионов установлено среди коров-доноров черно-пестрой породы, показатели непригодных эмбрионов в подопытных группах были практически равными;
- по развитию эмбрионов более высокие показатели установлены в стадии морулы поздней (47,72-54,05%) при более низком показателе у полновозрастных черно-пестрых доноров, эмбрионы в стадии развития были равны в группах айрширских и первотелок черно-пестрых доноров (35,13-36,11%) выше у полновозрастных черно-пестрых доноров (43,18%) и наоборот, эмбрионов в стадии бластоцисты поздней было меньше;
- показатели эмбрионов отличного и хорошего качества показатели в подопытных группах были равны, эмбрионов удовлетворительного качества было больше у айрширских эмбрионов.

3.6.4. Показатели суперовуляционной реакции коров-доноров при обработке масляным раствором прогестерон

Суперовуляционная реакция при применении прогестерона у подопытных коров-доноров составила 100% (табл. 3.23), однако по количеству извлеченных эмбрионов в группах айрширских доноров и первотелок черно-пестрой породы не было существенных различий и колебались в пределах 8,1-8,6 эмбрионов, в группах доноров из половозрелых черно-пестрых коров показатель был достоверно выше на 12,35% ($P > 0,05$).

Таблица 3.23 Уровень суперовуляции эмбриопродукции у коров-доноров при применении прогестерона

n=10

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	группы коров-доноров			
	первотелки	половозрастные	первотелки	половозрастные
Реагировало суперовуляцией гол желтых тел	10,2±0,11	10,8±0,9*	11,4±0,8	12,5±0,10*
Положительных по извлечению доноров, гол.	10	9	10	10
Извлечено эмбрионов: всего на донора, n	81 8,1±0,4	78 8,7±0,18	86 8,6±0,12	91 9,1±0,19*
в том числе: пригодных, n	4,6±0,7	5,0±0,04*	5,2±0,4	6,1±0,2*
непригодных, n	3,5±0,07	3,6±0,13	3,4±0,06	3,0±0,09
из не пригодных: дегенерированных отставших в развитии, n	1,8±0,09	1,9±0,04	1,6±0,11*	1,2±0,08
Неоплодотворенных яйцеклеток, n	1,7±0,16	1,7±0,16	1,8±0,11	1,8±0,17
Оплодотворяемость %	79,01	80,23	79,07	80,22
Выход пригодных эмбрионов, %	46 56,79	45 57,69	52 60,46	61 67,03

Показатель выхода пригодных эмбрионов на одного донора был наиболее высоким в группе половозрелых черно-пестрых коров-доноров

(6,1), что выше айрширской и первотелок черно-пестрой породы соответственно 10,21-6,54% ($P<0,05$).

Выход пригодных эмбрионов наиболее высоким был в группе полновозрастных черно-пестрых доноров и составил 6,1 ($P<0,05$), который по сравнению с первотелками данной породы был выше на 32,60%, айрширской породы – на 32,61% и полновозрастными донорами – на 22,00%.

В итоге выход пригодных эмбрионов если в группах черно-пестрых коров-доноров составил 60,46-67,03% аналогичные показатели у коров-доноров айрширской породы составили 56,79 и 58,14% соответственно у первотелок и полновозрастных группах.

Исследования качества эмбриопродукции коров-доноров при обработке гонадотропином прогестерон выявил существенные различия в изучаемых показателях подопытных животных (табл. 3.24).

Таблица 3.24 Качество эмбриопродукции коров-доноров при обработке гонадотропином прогестерон

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые		
	группы коров-доноров				
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные	
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	кол	24	24	29	34
	%	52,17	53,34	55,77	55,74
Бластоциста ранняя:	кол	15	15	17	21
	%	32,61	33,33	32,69	34,43
Бластоциста поздняя:	кол	7	6	6	6
	%	15,22	13,33	11,54	9,84
Всего:	кол	46	45	52	61
Качественные характеристики эмбрионов					
Отличные	кол	26	27	31	39
	%	56,56	60,26	60,46	63,93
Хорошие	кол	14	13	15	17
	%	30,86	28,21	29,07	27,87
Удовлетворительное	кол	6	5	6	5
	%	13,04	11,11	11,54	8,20
Всего:	кол	46	45	52	61

Выход эмбрионов в стадии ранней морулы среди доноров от первотелок выявил более высокие показатели у черно-пестрой породы (на 3,6%) и наоборот выход эмбрионов от полновозрастных доноров был выше в группе айрширских животных (0,86%). Эмбрионов в стадии ранней бластоцисты от первотелок было больше у животных айрширской породы (2,1%), полновозрастных доноров - у черно-пестрых доноров (7,5%). В показателях стадий развития эмбрионов бластоцисты поздней более высокие показатели установлены как среди доноров от первотелок (5,35%), так и полновозрастных животных (6,64%) в пользу черно-пестрых коров-доноров.

Результаты исследования качественной характеристики эмбрионов при стимуляции масляным раствором прогестерона более эффективно отразились на выход эмбрионов отличного качества, которые составили 56,52%, 64,00, 63,46 и 69,64% соответственно в группах первотелок и полновозрастных коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород. Преимущество полновозрастных доноров по сравнению с первотелками составили 7,48% у айрширских и 6,18% у черно-пестрых доноров.

Эмбрионов хорошего качества было выделено больше среди подопытных групп айрширской породы и различия по сравнению с показателями черно-пестрых доноров составили среди первотелок 1,49%, полновозрастных – 2,79%.

Аналогичные различия по эмбрионам удовлетворительного качества составили 5,35% и 2,86% соответственно в пользу айрширов.

Таким образом, результаты применения прогестерона (гормона желтого тела) для повышения выхода качества эмбрионов коров-доноров, дает основание сделать заключение о том, что применяющий гонадотропин повышает:

- суперовуляционную реакцию с преимуществом доноров черно-пестрой породы;
- выходу эмбрионов как общего количества, так и пригодных эмбрионов с более высокими данными полновозрастных коров изучаемых пород;
- показатели наиболее высококачественных эмбрионов по стадии развития с преимуществом полновозрастных коров-доноров;
- в подопытных группах повышает выход эмбрионов отличного качества у полновозрастных доноров, эмбрионов хорошего и удовлетворительного качества - в группах первотелок у доноров изучаемых породных групп.

3.6.5 Итоговые показатели суперовуляционной реакции коров-доноров при гормоностимуляции

По нашему мнению суперовуляционная реакция коров-доноров во многом может, зависит как от природно-экономических условий окружающей среды, растительных ресурсов, условий и качества кормовых средств, условий содержания и других факторов, обуславливающих определенные предпосылки для реакции внешних воздействий на организм.

При организации исследований одной из основных задач было выявление морфологического состояния органов размножения, степени выявления гонадотропинов на суперовуляционную реакцию и выход высококачественных эмбрионов и рекомендовать для последующих научных работ и внедрения в практику.

Итоговые данные исследований, отраженные в таблицах 3.25, 3,26 показывают, что все применяющие гонадотропные препараты фертагил,

хорулон и прогестерон оказывают положительное влияние на суперовуляционную реакцию, морфологические показатели и качество эмбрионов, как у первотелок, так и у половозрелых коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород и дают основание сделать следующие выводы:

Таблица 3.25 Показатели суперовуляции коров-доноров при обработке гонадотропинами

n = 10

Гормональный препарат	Показатели	Породная группа			
		Айрширы		Черно-пестрые	
		первотелки	полновозр	первотелки	Полновозр
Контрольная группа	Реагировало положительно, гол	8	9	9	9
	извлечено эмбрионов: всего	48	56	57	61
	на донора, n	6,0±0,16	6,2±0,14	6,3±0,20	6,8±0,13
	в т.ч. пригодных, n	3,5±0,08	3,7±0,07	3,6±0,09	3,8±0,11
Фертагил	Реагировало положительно, гол	9	10	9	9
	извлечено эмбрионов: всего	63	74	72	73
	на донора, n	7,0±0,11*	7,4±0,18	8,0±0,19**	8,1±0,14**
	в т.ч. пригодных, n	4,0±0,06	4,0±0,04	4,4±0,08	4,8±0,10
Хорулон	Реагировало положительно, гол	9	9	9	10
	извлечено эмбрионов: всего	66	68	73	83
	на донора, n	7,3±0,14*	7,6±0,15*	8,1±0,16*	8,3±0,15**
	в т.ч. пригодных, n	4,0±0,09	4,2±0,08	4,5±0,06	4,9±0,12
Прогестерон	Реагировало положительно, гол	10	9	10	10
	извлечено эмбрионов: всего	81	78	86	91
	на донора, n	8,1±0,12**	8,7±0,18*	8,6±0,12*	9,1±0,19**
	в т.ч. пригодных, n	4,6±0,07	5,6±0,04	5,2±0,06	6,1±0,09

превосходством группы применения прогестерона (4,6-6,1 эмбриона) при достоверности показателя группы доноров из полновозрастных коров чернопестрой породы;

– морфологические показатели эмбрионов в стадии развития морулы поздней были наиболее высокие во всех группах коров-доноров при превосходстве применения прогестерона (52,17-58,07 эмбриона) чем при использовании фертагила (48,79-55,56 эмбриона), хорулона (47,72-54,05 эмбриона) и в контрольной группе (46,43-50,00 эмбриона), эмбрионов в стадии развития бластоцисты ранней и бластоцисты поздней, было больше в контрольной группе доноров и при применении гонадотропных препаратов фертагил и хорулон;

– исследования качественных показателей эмбриопродукции подопытных коров-доноров выявил более высокое количество эмбрионов отличного качества в группе применения прогестерона (58,52-69,64 эмбриона), чем в контроле (53,57-59,46 эмбриона), при применении гонадотропина фертагил (55,56-61,38 эмбриона) и хорулона (52,78-59,09 эмбриона), хорошего качества были практически на одном уровне и показатели эмбрионов удовлетворительного качества были меньше в группе воздействия прогестероном (7,14-10,04 эмбриона), чем в контрольной группе (12,50-15,15 эмбриона), и у доноров при стимуляции фолликулогенеза фертагилом (12,20-19,44 эмбриона) и хорулоном (9,09-19,44 эмбриона);

– исследования влияния гонадотропных препаратов фертагила, хорулона и прогестерона для стимуляции суперовуляционной реакции коров-доноров, морфологического развития эмбрионов и качества эмбриопродукции дают основание сделать вывод о том, что более высокие результаты фолликулогенеза получены при использовании масляного раствора прогестерона, которого рекомендуем для применения в практике производства эмбрионов для трансплантации, наши исследования положительно согласуются с исследованиями других авторов (Байтлесов Е.У. и др., 2007; Хетагурова Б.Т. и др., 2014);

– по показателям эмбриопродуктивности более высокие показатели получены при использовании полновозрастных коров-доноров, преимущественно черно-пестрой породы, которая адаптирована к предгорным и климатическим условиям РСО-Алания.

3.7 Суперовуляция эмбрионов у коров-доноров гонадотропинами ФСГ-супер и фоллтропина

Важнейшим биотехнологическим этапом, определяющим успех метода эмбриотрансплантации в целом, является суперовуляция, создающая предпосылки для одновременного получения большого числа эмбрионов от коровы-донора. В практике трансплантации эмбрионов для вызывания суперовуляции у коров чаще используются препараты гипофизарного ФСГ – выделенного в относительно чистом виде или в сочетании с ЛГ при соотношении 5 к 1. К первой категории относится препарат ФСГ-супер, характеризующийся низким содержанием ЛГ (на 1000-1500 ед. ФСГ приходится 1 ед. ЛГ), ко второй – фоллтропин.

Результаты поискового вызывания суперовуляции у черно-пестрых коров – доноров эмбрионов гонадотропными препаратами – фоллтропином (общая доза 400 мг) и ФСГ-супер (1000 ИЕ) представлены в таблице 3.22.

Из данных таблицы 3.27 видно, что при использовании указанных гонадотропных препаратов по многим показателям суперовуляции и эмбриопродукции не установлено существенных различий. После обработки фоллтропином и ФСГ-супер реагировало суперовуляцией 91,9 и 90% коров, а уровень суперовуляции в среднем на донора составил 11,0 и 11,3 соответственно. При этом более высокая вариабельность, вызванных овуляций отмечена после инъекций фоллтропина (53%) по сравнению с ФСГ-супер (42%). Необходимо отметить тот факт, что при использовании препарата с узким соотношением ФСГ и ЛГ (фоллтропин) в яичниках у 53% доноров на день извлечения эмбрионов наблюдаются неовулировавшие

фолликулы, иногда достаточно больших размеров. При широком соотношении ФСГ и ЛГ (ФСГ-супер) в препарате такое явление встречается очень редко, и в основном, у коров с отсутствием суперовуляции.

Таблица 3.27 Показатели эмбриопродукции у коров-доноров при обработке фоллтропином и ФСГ-супер

n=10

Показатели		Гонадотропный препарат	
		фоллтропин	ФСГ-супер
Положительных по суперовуляции,	гол.	10	9
	%	100	90,0
Реакция суперовуляцией желтых тел,	n	11,0±1,1	11,3±1,2
Количество неовулировавших фолликулов,	n	1,0±0,02	-
Положительных по извлечению доноров:	n	9	9
	%	90,0	90
Извлечено эмбрионов всего, n		73	78
на донора,	n	8,1±0,77	8,7±0,6*
в том числе: пригодных,	n	5,8±0,04	6,4±0,05*
непригодных,	n	2,3±0,01	2,4±0,01
дегенерированных, отставших в развитии,	n	0,9±0,03	1,2±0,02
неоплодотворенных,	n	1,4±0,03*	1,1±0,02
Оплодотворяемость эмбриопродукции,	%	82,7	87,4
Получено пригодных эмбрионов,	n	52,	57
	%	71,23	73,08

По общему количеству извлеченных, в том числе и пригодных к использованию, эмбрионов в расчете на донора получены при обработке фоллтропином (8,1 и 5,8), ФСГ-супер (8,7 и 6,3) при достоверности различий ($P < 0,05$). При схожем количестве непригодных эмбрионов (2,3 и 2,4), дегенерированных и отставших в развитии было на 33% больше (1,2 против 0,9) после применения ФСГ-супер, а неоплодотворенных яйцеклеток, наоборот, на 27,3% больше (1,4 против 1,1) ($P < 0,05$) после применения фоллтропина, при оплодотворяемости яйцеклеток различия составили 4,7% (82,7 против 87,4%).

В итоге в результатах применения указанных гонадотропнинов более существенные различия по эффективности вызывания суперовуляции и

выходу пригодных эмбрионов у коров-доноров установлены при применении гонадотропина ФСГ-супер и представляет научный интерес организация исследований по определению наиболее эффективного гонадотропина как в плане эффективности суперовуляционной реакции, коров-доноров разных породных групп так и в экономическом плане.

Дальнейшие исследования (табл. 3.28) показали, что коровы-первотелки частично снижают показатели метода суперовуляции и существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата. Айрширские коровы после обработок фоллтропином и ФСГ-супер реагировали суперовуляцией в 80 и 90% случаев, а черно-пестрые – 90 и 100%, а реакция суперовуляции в среднем составила 7,3 и 7,4; 8,1 и 8,3 желтых тел у коров-доноров айрширской породы и на 9,2 и 8,6; 9,1 и 9,6 желтых тел черно-пестрой породы и первотелок и полновозрастных коров-доноров различия между полновозрастными группами достоверно при $P < 0,05$ соответственно. Характерной особенностью введения фоллтропина коровам-донорам было отсутствие неовулировавших фолликулов к 7 дню после осеменения. После введения фоллтропина количество их достигло в среднем 0,9-0,1 на донора. Введение ФСГ-супер позволило получить более стабильные результаты суперовуляторного ответа (8,1-8,3%) по сравнению с фоллтропином (9,1-9,6) различия между первотелками и полновозрастными коровами-донорами айрширской породы были достоверны при $P < 0,05$.

По выходу пригодных эмбрионов у айрширских коров лучшие результаты получены после инъекций ФСГ-супер и различия между возрастными группами составили 0,8 желтых тел и 0,9 желтых тел ($P < 0,05$). Аналогичные различия в группах применения ФСГ-супер и фоллтропина между полновозрастными группами составили 1,0 эмбриона ($P < 0,05$). При обработке фоллтропином, по сравнению с ФСГ-супер, получено больше неоплодотворенных яйцеклеток ввиду более высокого уровня оплодотворяемости (81,3 против 86,2%).

Таблица 3.28 Показатели суперовуляции коров-доноров айрширской и черно-пестрой породы

Показатели	Айрширы				Черно-пестрые			
	фоллтропин		ФСГ-супер		фоллтропин		ФСГ-супер	
	группа коров-доноров							
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Положительные по суперовуляции и извлечению доноров: n %	8	8	9	9	10	9	10	9
	80	80	90	90	100	90	100	90
Реакция суперовуляции желтых тел, n	7,3±0,09	7,4±0,10	8,1±0,11*	8,3±0,08*	9,2±0,09	8,6±0,06	9,1±0,08	9,6±0,10*
Неовулировавших фолликулов: гол	0,9±0,01	0,7±0,01	-	-	0,3±0,02	0,1±0,01	-	-
Извлечено эмбрионов всего, n	8,1±0,4	8,4±0,6	8,7±1,1*	9,1±1,2*	9,2±0,9	9,4±0,8	9,5±0,7	10,3±0,2**
в том числе: пригодных, n непригодных, n	5,9±0,08	6,1±0,05	6,4±0,06*	6,7±0,08*	7,0±0,10	7,2±0,06	7,4±0,09*	8,4±0,05**
	2,2±0,10	2,3±0,11	2,3±0,09	2,4±0,05	2,2±0,05	2,2±0,08	2,1±0,05	1,9±0,09
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии, n	0,6±0,02	0,9±0,01	1,1±0,05	1,4±0,03	0,9±0,06	0,9±0,03	0,7±0,08	0,8±0,002
неоплодотворенных, n	1,6±0,08*	1,4±0,07	1,2±0,07	1,0±0,03	1,3±0,04	1,3±0,07	1,4±0,03	1,1±0,03
Оплодотворяемость, %	80,25	83,3	86,2	89,01	85,9	87,2	85,3	89,3
Выход пригодных эмбрионов, n %	47	49	57	60	70	65	74	76
	73,75	72,6	73,6	73,6	76,1	76,6	77,9	81,6

В группе доноров черно-пестрой породы более высокий выход пригодных эмбрионов, по сравнению с коровами-донорами айрширской породы был получен после введения ФСГ-супер и различия составили между первотелками 0,4 эмбриона ($P < 0,05$), полновозрастными 1,2 эмбриона ($P < 0,01$).

При применении фоллтропина у первотелок айрширской породы выход составил 47 эмбрионов (5,9 из 8,1) в группе применения ФСГ-супер был выше на 10 эмбрионов (6,4 из 8,7) при $P < 0,05$, у черно-пестрых соответственно на 4 эмбриона (7,4 из 9,5) при $P < 0,01$, у полновозрастных соответственно 49 эмбриона (6,1 из 8,4), 11 эмбриона ($P < 0,05$).

Таким образом, более высокие показатели суперовуляционной реакции при применении гонадотропинов фоллтропина и ФСГ-супер, как у айрширских, так и черно-пестрых коров-доноров получены при применении последнего, однако для окончательных выводов диктуется необходимость исследования качественного состава эмбриопродукции.

Морфологической оценкой эмбриопродукции коров-доноров установлено (табл. 3.29), что независимо от применяемых гонадотропинов признанные пригодными эмбрионы были представлены поздними морулами и ранними бластоцистами, на долю которых от общего количества эмбрионов в группах приходилось у коров-доноров из первотелок в породных группах от 89,4 до 91,43% (фоллтропин) и от 91,23 до 93,24% (ФСГ-супер), у полновозрастных коров-доноров соответственно от 91,84 до 91,43% (фоллтропин) и от 93,33 до 88,74% (ФСГ-супер), что характерно периоду их извлечения (7-ые сутки после осеменения).

Таблица 3.29 Характеристика эмбриопродукции коров-доноров айрширской и черно-пестрой породы

Показатели	Айрширы				Черно-пестрые			
	фолтропин		ФСГ-супер		фолтропин		ФСГ-супер	
	группа коров-доноров							
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Стадии развития пригодных эмбрионов								
Морула ранняя: n	1				2			
	2,13				2,86			
Морула поздняя: n	24	26	30	33	37	35	41	43
	51,06	53,06	52,63	55,00	52,86	53,85	55,40	50,58
Бластоциста ранняя: n	18	19	22	23	27	25	28	29
	38,30	38,78	38,60	38,33	38,57	38,46	37,84	38,16
Бластоциста поздняя: n	4	4	5	4	5	5	5	4
	8,51	8,16	8,77	6,67	7,14	7,69	6,76	5,26
Всего:	47	49	57	60	70	65	74	76
Качественные характеристики эмбрионов								
Отличные: n	27	29	35	37	41	41	47	49
	57,45	59,10	61,40	61,67	58,57	63,08	63,51	64,47
Хорошие: n	13	14	17	18	21	20	22	22
	27,66	28,74	29,83	30,00	30,00	30,77	29,73	28,95
Удовлетворительные: n	7	6	5	5	8	4	5	5
	14,89	12,16	8,77	8,33	11,43	6,15	6,76	6,58
Всего:	47	49	57	60	70	65	74	76
	72,8	72,6	73,6	73,6	76,1	76,6	77,9	81,6

Характерной особенностью при использовании фоллтропина было наличие эмбрионов на более ранних и поздних стадиях развития, в среднем 2,13-2,86% приходилось на ранние морулы. Это объясняется тем, что препараты, вызывающие суперовуляцию, индуцируют неодновременный выход яйцеклеток. Многократное осеменение доноров, направленное на получение большего количества эмбрионов, приводит к появлению нормально развитых эмбрионов на разных стадиях развития от морулы до бластоцисты. Для ФСГ-супер свойственно получение эмбрионов с большей стадийной синхронностью развития, особенно четко это наблюдалось при индивидуальном учете эмбриопродукции доноров, что свидетельствует о синхронности вызванных множественных овуляций.

По количеству качественных эмбрионов между группами существенных различий не наблюдалось (4,8-8,4%). В группе черно-пестрых коров 5 и более эмбрионов получено от 55,6-66,6% доноров, в группе айрширской – от 45,8-53,3%, что указывает на большую чувствительность к введению гонадотропинов и интенсивность отбора среди черно-пестрых доноров. У доноров обеих групп наблюдалась высокая вариабельность выхода качественных эмбрионов, которая обусловлена индивидуальными особенностями животных к индуцированию суперовуляции.

Таким образом, существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата: для коров-доноров черно-пестрой породы предпочтительнее использовать ФСГ-супер (13,1 желтых тел и 8,1 пригодных эмбрионов на донора), для айрширских – фоллтропин (10,7 и 6,4 соответственно). При вызывании суперовуляции фоллтропином наблюдалось разрастание интерстициальной ткани яичников, иногда образование кист и увеличение периода восстановления половой цикличности (в среднем на 8,6 дней) и сервис-периода (на 29 дней) у черно-пестрой доноров, следовательно, при разовом использовании, данный препарат менее эффективен. Для ФСГ-супер, напротив, свойственно получение эмбрионов с большей стадийной

синхронностью развития, что наблюдалось при индивидуальном учете эмбриопродукции доноров.

3.8 Жизнеспособность эмбрионов при криоконсервации

Оценку жизнеспособности эмбрионов проводили на основании морфологических показателей уровня развития до и после криоконсервации по 5 бальной шкале.

Для оценки качества спермы после замораживания и оттаивания существует много тестов (Байтлесов Е.У. и др., 2007; Brito L.F.C. et.al., 2003; Celeghini E.C. et.al., 2008; Luhoseviciute K. et.al., 2005), которые позволяют определить морфологические показатели спермотозоидов и чем выше качество их тем выше оплодотворяемость коров и нетелей после искусственного осеменения (Mc Parland S. et.al., 2007). Важным показателем качества спермотозоидов является подвижность, стабильность которые повышают качество при криоконсервации и после оттаивания (Rodriguer-Martinez H. 2006), которые связанные между собой (Hallap I. et.al., 2006; Hua Y. et.al., 2006; Zuge R.M. et.al., 2008) и положительно коррелируют с оплодотворяемостью коров и телок (Cjrrea J.R. et.al., 1997; Januskauskas A. et.al., 1997; Verberckmoos S. et.al., 2002).

Анализ исследований морфологической оценки качества эмбрионов показала, что большая часть полученных зародышей, как от первотелок, так и от половозрелых коров-доноров соответствует стадии развития на день извлечения (табл. 3.30).

Из общего числа полученных зародышей, если до криоконсервации содержание дегенеративных эмбрионов у первотелок айрширской породы составило 25,86%, то после консервации и оттаивания отход был выше на 3,45%, у половозрелых коров различия составило 1,57%. Аналогичные различия в группе доноров черно-пестрой породы оказались ниже и составили 1,39 и 0,27%.

Таблица 3.30 Показатели качества эмбрионов до и после криоконсервации и оттаивания

Показатели	Айрширы		Черно-пестрые	
	Группа пород			
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Заморожено и оттаяно	58	64	72	79
Из них дегенерированных:				
до криоконсервации, n	15	17	18	19
%	25,86	26,56	25,00	24,05
после криоконсервации, n	17	18	19	20
%	29,31	28,13	26,39	25,32
Пригодных к пересадке:				
до криоконсервации, n	43	47	54	60
%	74,14	73,44	75,00	75,95
после криоконсервации, n	41	46	53	59
%	70,69	71,88	73,61	74,68
Качественные показатели				
Отличные:				
до криоконсервации, n	7	9	11	14
%	16,28	19,15	20,37	23,34
после криоконсервации, n	6	7	8	10
%	14,63	15,22	15,09	16,95
Хорошие:				
до криоконсервации, n	22	25	29	32
%	51,16	53,19	53,70	53,33
после криоконсервации, n	19	22	26	29
%	46,34	47,83	49,06	49,15
Удовлетворительные:				
до криоконсервации, n	14	13	14	14
%	32,56	27,66	25,93	23,33
после криоконсервации, n	16	17	17	20
%	37,21	36,96	32,08	33,90

Отход дегенеративных пригодных к пересадке эмбрионов после криоконсервации был наиболее высоким среди доноров первотелок, а в породном отношении показатели отхода были наиболее высокие у айрширских коров-доноров. Наличие сравнительно большего числа эмбрионов на ранних стадиях развития, не продолживших свое развитие в условиях культивирования, снижение жизнеспособности эмбрионов связано

с морфо-функциональными нарушениями в эмбрионах, которые не установлены методом морфологической оценки качества эмбриопродукции.

Анализ результатов жизнеспособных, пригодных к использованию в дальнейшем технологическом процессе трансплантации эмбрионов показал, что среди первотелок айрширской породы показатель был ниже после криоконсервации на 4,88%, между полновозрастными коровами различия до и после криоконсервации составило 2,17%.

Криоконсервация эмбрионов менее существенно повлияло на разницу пригодности эмбрионов до и после замораживания черно-пестрых доноров. Показатель пригодных зародышей у первотелок составил до замораживания 75,00%, что превосходит данные пригодных эмбрионов после замораживания на 1,89%, у полновозрастных доноров на 1,69%.

Таким образом, жизнеспособность эмбрионов до криоконсервации и после оттаивания снижается более активно среди групп доноров из первотелок, а в породном отношении более высокую жизнеспособность установлено у черно-пестрых коров-доноров.

Биологически более полноценными являются эмбрионы, имеющие округлую форму, неповреждённую оболочку, одинаковые в размерах и цитоплазму без дефектов и с плотным межклеточным составом.

Морфологическая оценка показала, что при нехирургическом извлечении зародышей при гормональном вызывании суперовуляции количество эмбрионов отличного качества получили незначительно и составили как до криоконсервации (16,28-23,34%) при более высоких данных хороших (51,16-53,70%) и удовлетворительных эмбрионов (23,33-32,56%) в исследуемых группах.

На показатели отличного качества эмбрионов криоконсервация менее существенно повлияло у доноров айрширской породы, у которых разница составила у первотелок 1,65%, полновозрастных – 3,93%, тогда как аналогичные показатели у черно-пестрых доноров составили 5,28 и 6,39% .

Эмбрионов хорошего качества, если до криоконсервации получено в подопытных группах на 51,16%; 53,70 и 53,33%, то аналогичные данные после криоконсервации составили 46,34%; 47,83; 49,83 и 49,15%, что было ниже по сравнению с данными до криоконсервации оттаивания на 4,82%; 5,36; 4,67 и 4,18% соответственно у первотелок и полновозрастных доноров изучаемых пород животных.

Более существенны были различия показателей эмбрионов удовлетворительного качества до и после замораживания. У доноров из первотелок снижение показателя составило 4,65% у айрширской породы и 6,15% у черно-пестрых доноров, у полновозрастных доноров аналогичные различия составили 9,30-10,57%.

Таким образом, исследования показателей жизнеспособности, качества эмбрионов до и после криоконсервации дают основание сделать следующие выводы:

- криоконсервация эмбрионов полученных от коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой породы, снижает жизнеспособность и качество эмбрионов;
- на отход эмбрионов, не пригодных к трансплантации, дегенеративных и с морфологическими отклонениями, криоконсервация более существенно повлияло на доноров, как из первотелок, так и полновозрастных подопытных животных айрширской породы, где разница составила от 3,45 до 1,57%, тогда как аналогичные данные среди подопытных групп черно-пестрой породы были в пределах 1,39-1,27%;
- показатели пригодных эмбрионов из породных групп после криоконсервации были наиболее высокие у коров-доноров черно-пестрой породы (1,39-1,27%), чем у подопытных коров айрширской породы (3,45-1,56);
- криоконсервация эмбрионов менее существенно повлияло на эмбрионы отличного качества айрширских доноров, чем у черно-пестрых, на

- эмбриопroduкцию хорошего качества и так же удовлетворительных - криоконсервация практически оказала равнозначное действие;
- эмбрионы коров-доноров как айрширской так и черно-пестрой пород после криоконсервации можно успешно использовать в технологии пересадки эмбрионов коровам-донорам.

4. ЭКОНОМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ КОРОВ- ДОНОРОВ И СТОИМОСТЬ ЭМБРИОПРОДУКЦИИ

4.1. Экономические показатели производства эмбрионов в племхозе «Осетия»

Для изучения эффективности получения эмбрионов у коров-доноров методом суперовуляции был проведен сравнительный анализ использования гипофизарных препаратов с различным соотношением ФСГ и ЛГ: фоллитропина (Канада) и ФСГ-супер (Российская Федерация). В качестве доноров использовались клинически здоровые первотелки и полновозрастные коровы черно-пестрой породы в возрасте 3-8 лет, (живой массой 500-560 кг, годовым удоем 5-6 тыс. кг молока, жирностью более 3,6%). Гормональные обработки доноров (по 10 голов – фоллитропином и ФСГ-супер) проводили, начиная с 10-11 дня естественного или синхронизированного синтетическим аналогом простагландина $F_{2\alpha}$ – (эстрофан, Чехия) полового цикла при наличии в яичниках хорошо выраженного желтого тела, по классической четырехдневной схеме (табл. 4.1). Непосредственно перед введением индивидуальные дозы препаратов (400 мг для фоллитропина и 1000 ИЕ для ФСГ-супер) растворяли соответственно в 20 мл физиологического раствора и 10 мл среды Дюльбекко. Одновременно с 5 и 6-ой инъекциями гонадотропинов вводили простагландин $F_{2\alpha}$ в дозах 500 и 250 мкг соответственно.

Искусственное осеменение доноров осуществляли при выраженности половой охоты замороженно-оттаянной спермой ректоцервикальным способом дважды с интервалом 10-12 часов, используя двойную дозу спермы (30 млн. спермиев) с оценкой активности не ниже 4 баллов. Использовалась сперма быков-производителей в соответствии с селекционной программой подбора породных групп.

Таблица 4.1 Схема гормональной обработки и подготовки коров-доноров

День полового цикла	Фоллтропин (400 мг)		ФСГ-супер (1000 ИЕ)	
	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.
0-й	Половая охота у донора		Половая охота у донора	
10-11-й	70 мг	70 мг	160 ИЕ	160 ИЕ
11-12-й	60 мг	60 мг	140 ИЕ	140 ИЕ
12-13-й	40 мг эстрофан 500 мкг	40 мг эстрофан 250 мкг	120 ИЕ эстрофан 500 мкг	120 ИЕ эстрофан 250 мкг
13-14-й	30 мг	30 мг	80 ИЕ	80 ИЕ
14-15-й или 0-й день цикла (охота)	-	Осеменение	-	Осеменение
1-й день цикла	Осеменение	-	Осеменение	-
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов			

Перед извлечением эмбрионов (на 7-ой день после первого осеменения) у коров-доноров ректальным методом определяли наличие и количество желтых тел и неовулировавших фолликулов на яичниках. Нехирургическое извлечение эмбрионов у суперовулировавших доноров проводили с помощью закрытой системы трубок согласно методическим рекомендациям ВИЖ. В качестве жидкости для извлечения эмбрионов использовали среду Дюльбекко с добавлением фетальной сыворотки (10 мл/л) или бычьего сывороточного альбумина (0,05г/л) и антибиотиков (ампициллин, 100 ИЕ/мл и гентамицин, 12 мкг/мл).

На извлечение эмбрионов из рогов матки донора затрачивали 800-900 мл среды. После проведения процедуры извлечения эмбрионов в полость матки коров-доноров вводили смесь антибиотиков (ампициллин, 500 тыс. ЕД + гентамицин, 20 мг) в 30-50 мл среды Дюльбекко, а внутримышечно – 500 мкг простагландина F_{2α}.

По результатам вызывания суперовуляции и извлечения эмбрионов установили число реагирующих на введение гонадотропинов и положительных по извлечению коров в каждой из групп, рассчитали реакцию суперовуляции и выход пригодных и непригодных зародышей, оплодотворяемость яйцеклеток и вариабельность числа овуляций.

Исследования показали (табл. 4.2), что коровы-первотелки частично снижают показатели суперовуляции и существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата, коровы после обработок фоллтропином в 80-90% случаев, ФСГ-супер реагировали суперовуляцией в 90 и 100% случаев, а реакция суперовуляции в среднем составила 9,3 и 12,7% желтых тел. Характерной особенностью введения ФСГ-супер коровам-донорам было отсутствие неовулировавших фолликулов к 7 дню после осеменения. После введения фоллтропина количество их достигло в среднем 0,3-0,1 на донора. Введение ФСГ-супер позволило получить более стабильные результаты суперовуляторного ответа по сравнению с фоллтропином.

Таблица 4.2 Показатели суперовуляции коров-доноров черно-пестрой породы коров-доноров

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер	
	первотелки	полновозр	первотелки	полновозр
Положительных по суперовуляции: n	8	9	9	10
%	80	90	90	100
Реакция суперовуляции желтых тел, n	10,1±0,10	11,2±0,05	9,3±0,08	12,7±0,06
Неовулировавших фолликулов: n	0,3±0,02	0,1±0,01	-	-
Извлечено эмбрионов: всего, n	9,11±	9,41±	9,38±0,7	9,64±1,1
в том числе пригодных, n	7,16±1,0	7,24±0,8	7,26±0,9	7,44±
непригодных, n	2,11±0,	2,17±	2,32±	2,20±
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии, n	0,7±	0,7±	0,9±	0,9±0,02
неоплодотворенных, n	1,41±	1,47±	1,42±	1,30
Оплодотворяемость, %	84,52	84,38	84,86	86,51
Выход пригодных эмбрионов, n	56	65	65	74
%	70,00	72,22	72,60	74,00

По выходу пригодных эмбрионов у первотелок лучшие результаты установлены после инъекций ФСГ-супер – в среднем на 77,4% (7,26 из 9,38), в то время как при введении фоллтропина этот показатель составил 76,8% (7,16 из 9,11). При обработке фоллтропином, по сравнению с ФСГ-супер, получено на 0,34% меньше неоплодотворенных яйцеклеток ввиду более

высокого уровня оплодотворяемости как у первотелок (84,86 против 84,52%) так и в группе полновозрастных коров-доноров более высокий показатель оплодотворяемости эмбрионов, был получен после введения ФСГ-супер 1,65% (86,51 против 84,86%).

Морфологической оценкой эмбриопродукции коров-доноров установлено (табл. 4.3), что независимо от применяемых гонадотропинов признанные пригодными эмбрионы были представлены поздними морулами которые составили 53,57-53,85% (фоллтропин) и 55,38-58,11% (ФСГ-супер) и ранними бластоцистами, на долю которых от общего количества эмбрионов в группах приходилось от 35,71 до 35,38% (фоллтропин) и от 36,92 до 36,49% (ФСГ-супер).

Таблица 4.3 Характеристика эмбрионов коров-доноров черно-пестрой породы

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер		
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные	
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	n	30	35	36	43
	%	53,57	53,85	55,38	58,11
Бластоциста ранняя:	n	20	23	24	27
	%	35,71	35,38	36,92	36,49
Бластоциста поздняя:	n	6	7	5	4
	%	10,71	10,80	7,69	5,40
Всего:		56,	65	65	74
Качественная характеристика эмбрионов					
Отличные:	n	33	39	38	45
	%	58,93	60,00	58,46	60,81
Хорошие:	n	18	22	25	26
	%	32,14	33,85	38,46	35,14
Удовлетворительные:	n	5	4	2	3
	%	8,93	6,15	3,08	4,05
Всего эмбрионов:	n	56	65	65	74
	%	70,00	72,22	2,60	74,00

Обратная закономерность установлена по эмбрионам в стадии развития поздней бластоцисты, что характерно периоду их извлечения (7-ые сутки после осеменения), которых было больше относительно стадий морулы поздней и бластоцисты ранней и составили 10,71-10,80% при применении фоллтропина и 7,69-5,40% в группе коров-доноров, которых обрабатывали ФСГ-супер. По качественному составу эмбрионов между группами существенных различий не наблюдалось по показателям эмбрионов отличного и хорошего качества, которые в группе первотелок составили при применении фоллтропина и ФСГ-супер 89,28% и 92,30% у полновозрастных коров-доноров соответственно 89,23% и 94,60%.

Эмбрионы удовлетворительного качества колебались в группе применения фоллтропина в пределах 6,15-8,93%, ФСГ-супер - 3,08-4,05%. У доноров обеих групп наблюдалась высокая вариабельность выхода качественных эмбрионов, которая обусловлена индивидуальными особенностями животных к индуцированию суперовуляции.

Показатели экономической эффективности производства эмбрионов показали (табл. 4.4), что себестоимость одного качественного эмбриона составила у коров-доноров при применении ФСГ-супер у первотелок 47,14 руб., полновозрастных 46,20 руб., в среднем 46,67 руб., фоллтропином 57,50 руб. и 55,97 руб., в среднем 38,74руб. соответственно. Стоимость эмбрионов при применении гормонального препарата ФСГ-супер была ниже в среднем на 21,58%, стоимость эмбрионов от полновозрастных коров-доноров по сравнению с первотелками на 2,41%.

Таблица 4.4 Показатели экономической эффективности производства эмбрионов у коров-доноров черно-пестрой породы

Показатели	Гормональный препарат			
	ФСГ-супер		Фоллитропин	
	первотелки	полновозр	первотелки	полновозр
Положительных по суперовуляции, n	9	10	8	9
Реакция желтых тел, n	9,3±0,5	12,7±0,07	10,1±0,11	11,2±0,9
Неовулировавших фолликулов, n	0,0	0,0	0,3±0,02	0,1±0,01
Извлечено эмбрионов всего: n	84	96	73	85
на донора, n	9,38±0,62	9,64±0,51	9,11±0,11	9,41±0,48
в т.ч.: пригодных: n	7,36±0,27	7,44±0,12	7,08±0,15	7,24±0,18
%	77,40	77,18	77,72	76,24
непригодных к использованию: n	2,32±0,09	2,20±0,07	2,11±0,04	2,17±0,05
в т.ч. дегенерированных, отставших в развитии	0,9±0,01	0,9±0,02	0,7±0,04	0,7±0,05
неоплодотворенных, n	1,42±0,04	1,30±0,08	1,41±0,06	1,47±0,09
Оплодотворяемость, %	84,86	86,51	84,52	84,38
Получено качественных эмбрионов, всего, n	65	74	56	65
Затраты на вызывание суперовуляции и искусственное осеменение, руб.	996	996	1082	1082
Затраты на извлечение, поиск и оценку эмбрионов у одного суперовулировавшего донора, руб.	684	684	684	684
Прочие затраты, руб.	1384	1739	1454	1872
Итого затрат всего, руб.	3064	3419	3220	3638
на 1 донора, руб.	340,44	341,90	402,50	404,22
Себестоимость одного качественного эмбриона, руб.	47,14	46,20	57,50	55,97

Таким образом исследования показали, что при применении гонадотропина ФСГ-супер по сравнению с эффективностью вызывания суперовуляции фоллитропином из расчета на одного донора получено качественных эмбрионов больше на 14,88% при снижении общих затрат в расчете на одного донора в среднем 62,19 руб., (18,23%).

4.2. Экономические показатели производства эмбрионов в ООО «Ираф-Агро»

В целях изучения эффективности производство эмбрионов у коров-доноров методом суперовуляции был проведен сравнительный анализ использования гипофизарных препаратов с различным соотношением ФСГ и ЛГ: фоллитропина (Канада) и ФСГ-супер (Российская Федерация). В

качестве доноров использовались клинически здоровые первотелки и половозрелые коровы айрширской породы в возрасте 5-8 лет, (живой массой 600-650 кг, с годовым удоем 5-6 тыс. кг молока, жирностью более 3,8%). Гормональные обработки доноров (по 10 голов – фоллтропином и ФСГ-супер) проводили, начиная с 10-11 дня естественного или синхронизированного синтетическим аналогом простагландина F_{2α} – (эстрофан, Чехия) полового цикла при наличии в яичниках хорошо выраженного желтого тела, по классической четырехдневной схеме (табл. 4.5). Перед введением индивидуальные дозы препаратов (400 мг для фоллтропина и 1000 ИЕ для ФСГ-супер) растворяли соответственно в 20 мл физиологического раствора и 10 мл среды Дюльбекко. Одновременно с 5 и 6-ой инъекциями гонадотропинов вводили простагландин F_{2α} в дозах 500 и 250 мкг соответственно.

Таблица 4.5 Схема гормональной обработки и подготовки коров-доноров

День полового цикла	фоллтропин (400 мг)		ФСГ-супер (1000 ИЕ)	
	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.
0-й	Половая охота у донора		Половая охота у донора	
10-11-й	70 мг	70 мг	160 ИЕ	160 ИЕ
11-12-й	60 мг	60 мг	140 ИЕ	140 ИЕ
12-13-й	40 мг эстрофан 500 мкг	40 мг эстрофан 250 мкг	120 ИЕ эстрофан 500 мкг	120 ИЕ Эстрофан 250 мкг
13-14-й	30 мг	30 мг	80 ИЕ	80 ИЕ
14-15-й или 0-й день цикла (охота)	-	Осеменение	-	Осеменение
1-й день цикла	Осеменение	-	Осеменение	-
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов			

Искусственное осеменение коров-доноров осуществляли при выраженности половой охоты замороженно-оттаянной спермой ректоцервикальным способом дважды с интервалом 10-12 часов, используя двойную дозу спермы (около 30 млн. спермиев) с оценкой активности не ниже 4 баллов. Использовалась сперма быков-производителей в соответствии с селекционной программой подбора породных групп.

На 7-ой день после первого осеменения у коров-доноров перед извлечением эмбрионов ультразвуковыми исследованиями Scanner 200 PIE определяли наличие и количество желтых тел и неовулировавших фолликулов на яичниках. Нехирургическое извлечение эмбрионов у суперовулировавших доноров проводили с помощью закрытой системы трубок согласно методическим рекомендациям ВИЖ. В качестве жидкости для извлечения эмбрионов использовали среду Дюльбекко с добавлением фетальной сыворотки (10 мл/л) или бычьего сывороточного альбумина (0,05г/л) и антибиотиков (ампициллин, 100 ИЕ/мл и гентамицин, 12 мкг/мл).

При извлечении эмбрионов из рогов матки донора затрачивали 800-900 мл среды. После проведения процедуры извлечения эмбрионов в полость матки коров-доноров вводили смесь антибиотиков (ампициллин, 500 тыс. ЕД + гентамицин, 20 мг) в 30-50 мл среды Дюльбекко, а внутримышечно – 500 мкг простагландина F_{2α}.

По результатам вызывания суперовуляции и извлечения эмбрионов посредством микровизора «mVizo-101» при 56 кратном увеличении установили число реагирующих на введение гонадотропинов и положительных по извлечению коров в каждой из групп, рассчитали реакцию суперовуляции и выход пригодных и непригодных зародышей, оплодотворяемость яйцеклеток и вариабельность числа овуляций и качественные показатели эмбрионов.

Исследования показали (табл. 4.6), что коровы-первотелки частично снижают показатели суперовуляции и существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата. айрширские коровы после обработок фоллтропином в 80-100% случаев, ФСГ-супер реагировали суперовуляцией в 90% и 100% случаев, а реакция суперовуляции в среднем составила 7,5-7,6 и 8,4-8,8 желтых тел. Характерной особенностью введения ФСГ-супер коровам-донорам было отсутствие неовулировавших фолликулов к 7 дню после осеменения. После введения фоллтропина количество их достигло в среднем 0,4-0,1 на донора.

Введение ФСГ-супер позволило получить более стабильные результаты суперовуляторного ответа (9,33-9,74) по сравнению с фоллтропином (7,5-7,6 гол.).

Таблица 4.6 Показатели суперовуляции коров-доноров айрширской породы

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер		
	первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные	
Положительных по суперовуляции:	гол.	8	10	9	9
	%	80	100	90	90
Реакция суперовуляции желтых тел	гол.	7,6±0,09	7,5±0,10	8,4±0,11*	8,8±0,08*
Неовулировавших фолликулов:	гол.	0,01±0,01	0,4±0,03	-	-
Извлечено эмбрионов всего,	п	8,71±	8,90±	9,33±	9,74±
в том числе пригодных,	п	6,26	6,52	7,19	7,52±
непригодных,	п	2,45±0,03	2,38±0,08	2,14±0,07	2,32±0,7
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии,	п	1,1±0,01	1,2±0,02	0,87±0,04	1,03±0,05
неоплодотворенных,	п	1,35±	1,78±	1,27±	1,19
Оплодотворяемость,	%	84,50	80,00	86,39	87,78
Выход пригодных эмбрионов,	п	50	65	65	68
	%	71,87	73,26	77,06	77,21

По выходу пригодных эмбрионов у первотелок коров-доноров лучшие результаты установлены после инъекций ФСГ-супер – в среднем на 77,1% (7,26 из 9,33), в то время как при введении фоллтропина этот показатель составил 77,06% (7,19 из 9,74). При обработке фоллтропином по сравнению с ФСГ-супер, получено меньше неоплодотворенных яйцеклеток ввиду более высокого уровня оплодотворяемости как у первотелок 1,89% (86,39 против 84,50%) так и у полновозрастных коров-доноров 7,78% (87,78 против 80,00%) в группе полновозрастных коров-доноров более высокий показатель оплодотворяемости эмбрионов, был получен после введения ФСГ-супер 1,75%.

Морфологической оценкой эмбриопродукции коров-доноров установлено (табл. 4.7), что независимо от применяемых гонадотропинов признанные пригодными эмбрионы были представлены поздними морулами которые составили 52,00-52,31% (фоллтропин) и 50,77-54,11% (ФСГ-супер) и ранними бластоцистами, на долю которых от общего количества эмбрионов в группах приходилось от 34,00 до 33,85% (фоллтропин) и от 35,38 до 35,29% (ФСГ-супер). Обратная закономерность установлена по эмбрионам в стадии развития бластоцисты что характерно периоду их извлечения (7-ые сутки после осеменения). Поздняя, которых было больше относительно стадий поздней и бластоцисты ранней, и составили 10,00-7,69% при применении фоллтропина и 7,69-5,40% в группе коров-доноров, которых обрабатывали ФСГ-супер.

Таблица 4.7 Характеристика эмбрионов коров-доноров айрширской пород

Показатели		Фоллтропин		ФСГ-супер	
		первотелки	полновозрастные	первотелки	полновозрастные
Стадии развития пригодных эмбрионов					
Морула поздняя:	n	26	34	33	37
	%	52,00	52,31	50,77	54,41
Бластоциста ранняя:	n	17	22	23	24
	%	34,00	33,85	35,38	35,29
Бластоциста поздняя:	n	7	9	9	7
	%	14,00	13,84	13,84	10,29
Всего:		50	65	65	68
Качественная характеристика эмбрионов					
Отличные:	n	28	38	39	41
	%	56,00	58,46	60,00	60,29
Хорошие:	n	17	22	21	23
	%	34,00	33,85	32,31	33,82
Удовлетворительные:	n	5	5	5	4
	%	10,00	7,69	7,69	5,89
Всего эмбрионов:	n	50	65	65	68
	%	71,87	73,26	77,06	77,21

Исследованиями качественного состава эмбрионов установлено, что в основном эмбрионы соответствовали требованиям отличного качества и наиболее высокие были среди доноров-первотелок, обработанных ФСГ-супер (58,46- 60,29%), чем у коров-доноров, обработанных фоллтропином (56,00-

60,00%). Менее существенны были различия в группах коров-доноров показатели хорошего качества, которые колебались в пределах 32,31-34,00%. Показатели эмбрионов удовлетворительного качества были в группе коров-доноров, обработанных фоллтропином и составили у первотелок 2,31%, у полновозрастных на 1,80% в пользу коров-доноров после обработки гонадотропином ФСГ-супер.

Показатели производственной апробации результаты научно-исследовательской работы (табл. 4.8) установили существенные различия себестоимости качественных эмбрионов у коров-доноров как при применении фоллтропина так и ФСГ-супер. При воздействии гонадотропина ФСГ-супер у первотелок стоимость одного качественного эмбриона составила 49,28 руб., полновозрастных доноров 48,14 руб., а средняя стоимость по группе составила 48,71 руб. Аналогичные показатели при применении фоллтропина для гормональной стимуляции составили 60,07 руб., и 55,28 руб., при средней себестоимости 57,67 руб. Более высокая стоимость эмбрионов в группе применения фоллтропина составила 18,39%.

Различия стоимости эмбрионов от первотелок и полновозрастных коров-доноров в группе применения фоллтропина составила 8,70% и 2,36% при воздействии ФСГ-супер в пользу полновозрастных коров-доноров. Общие затраты на одного донора составили при применении ФСГ-супер 359,78 руб, у коров-доноров при применении фоллтропина затраты для обработке одного донора были больше на 13,38 руб. или на 3,72%.

В итоге при применении гонадотропина ФСГ-супер по сравнению с показателями суперовуляции фоллтропином у первотелок и полновозрастных коров-доноров из расчета на одного донора получено качественных эмбрионов больше на 8,13% при снижении общих затрат в 13,38 руб.

Таблица 4.8 Показатели экономической эффективности производства эмбрионов у коров-доноров айрширской породы, n=10

Показатели	Гормональный препарат			
	ФСГ-супер		Фоллитропин	
	первотелки	полновозр	первотелки	полновозр
Положительных по суперовуляции, гол %	9	9	9	10
	90	90	80	100
Реакция желтых тел, n	8,4±0,3	8,8±0,05	7,6±0,08	7,5±0,6
Неовулировавших фолликулов, n	0,0	0,0	0,4±0,02	1,1±0,02
Извлечено эмбрионов: всего: n	70	88	78	89
на донора, n	9,33±0,4	9,74±0,31	8,71±0,21	8,90±0,38
в т.ч.: пригодных, %	7,19±0,47	7,52±0,36	6,44±0,36	6,52±0,28
	77,06	77,21	73,94	73,26
Непригодных к использованию: в т.ч. дегенерированных, отставших в развитии неоплодотворенных, n	2,14±0,09	2,22±0,07	2,45±0,03	2,38±0,06
	0,87±0,01	1,03±0,05	1,10±0,02	1,21±0,02
	1,27±0,07	1,19±0,03	1,35±0,08	1,40±0,07
Оплодотворяемость, %	86,39	87,78	84,50	80,00
Получено качественных эмбрионов, всего, n %	65	68	58	65
	72,22	77,00	73,94	72,22
Затраты на вызывание суперовуляции и искусственное осеменение	996	996	1082	1082
Затраты на извлечение, поиск и оценку эмбрионов у одного суперовулировавшего донора, руб.	684	684	684	684
Прочие затраты	1523	1593	1856	1726
Итого затрат: всего, руб.	3203	3273	3498	3592
На 1 донора, руб.	355,89	363,67	387,11	359,19
Себестоимость одного качественного эмбриона, руб.	49,28	48,14	60,07	55,26

Таким образом, результаты производственной апробации технологии производства эмбрионов в условиях ООО «Ираф-Агро» подтвердили показатели научно-исследовательских работ по разработке технологии производства высококачественных эмбрионов для трансплантации.

6. ВЫВОДЫ

1. Производство телят методом трансплантации, основанное на применении гормональных гонадотропных препаратов для эмбриопродукции является необходимым условием для организации трансплантации и производства потомства с более высокими генетическими и продуктивными качествами. Его производственное обоснование имеет важное, как теоретическое, так и практическое значение для повышения рентабельности молочного скотоводства и требует всестороннего изучения, как физиологического обоснования подбора породных и возрастных групп коров-доноров, так и применяемых гонадотропинов.

2. Морфологические показатели крови коров-доноров, являющиеся важнейшими критериями степени адаптации к условиям окружающей среды должны соответствовать следующим критериям физиологических норм:

- содержание эритроцитов должно быть в пределах $6,14-6,68 \cdot 10^{12}$ /л, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах 16,85-19,20 pg, гематокрита 25,72-27,17%, тромбоцита 0,203-0,220% и гемоглобина 103,17-111,28 г/л;

- лейкоцитов $5,6-6,58 \cdot 10^9$ /л, лимфоцитов 60,14-63,09%, моноцитов 3,18-3,92%, общего белка 78,94-84,82 г/л, альбуминов 34,21-35,84 г/л, глобулинов 44,73-49,13 г/л, общего кальция 11,54-12,51 ммоль/л, резервной щелочности 0,48,72-50,73 об%CO₂, каротина 1,76-2,18 ммоль/л.

3. Искусственное осеменение коров-доноров двойной дозой спермиев (≈ 30 млн.) двукратно, по сравнению с однократным осеменением, повышает оплодотворяемость эмбрионов на 3,72%, и 3,99%, выход пригодных эмбрионов на 3,58 и 5,51% эмбрионов отличного качества на 4,21 и 3,54%, хорошего-на 1,39 и 0,27% и снижает производство эмбрионов удовлетворительного качества на 5,60 и 3,62%, соответственно, у айрширских и черно-пестрых доноров. Таким образом, результаты исследований позволяют рекомендовать осеменение коров-доноров для

эмбриопродукции двукратно двойной дозой спермы с интервалом 10-12 часов.

4. Ультразвуковыми исследованиями яичников коров-доноров установлено:

- в контрольной группе доноров при относительно разном диаметре фолликулов при естественном протекании полового цикла, введение гонадотропина ФСГ-супер стимулирует рост фолликулов диаметром до 2 мм на 20,8% у айрширских доноров, на 20,5% у черно-пестрых и, в основном, более интенсивный рост наблюдается фолликулов диаметром 5-8 мм и более 8мм;

- введение гонадотропина фертагил не вызывает изменения в фолликулах и колебания были в пределах 0,7 мм в показателях диаметра 2-5 мм, 1,4-1,3 мм диаметра 5-8 мм и на 0,2-0,7 мм -диаметра более 8 мм соответственно в группах коров-доноров айрширской и черно-пестрой пород;

- применение гормона хорулона вызывает лютеинизацию не только крупных, но и мелких фолликулов в яичниках исследуемых коров-доноров;

- инъекции масляного раствора прогестерона в период, предшествующий стимуляции у доноров обеих пород, приводит к лютеинизации крупных фолликулов, но не блокирует рост мелких.

5. Исследованиями показателей стадий развития и качества эмбрионов при обработке гонадотропинами установлено:

- показатели суперовуляционной реакции были высокие в группе коров-доноров, где подопытных животных обрабатывали прогестероном (100%) и в группах применения фертагила и хорулона (90%), тогда как в контрольной группе колебались в пределах 80-90%;

- выход общего количества эмбрионов был у коров-доноров в группе применения прогестерона в пределах 8,1-9,1, что больше результатов применения фертагила (7,0-8,0 эмбриона), хорулона (7,4-8,3 эмбриона) и контрольных животных (6,0-6,8 эмбриона). По выходу пригодных эмбрионов зарегистрированы аналогичные данные с преимуществом прогестерона (4,6-

6,1 эмбриона) при превосходстве показателей доноров из половозрелых коров черно-пестрой породы;

- анализ качества эмбриопродукции подопытных коров-доноров выявил более высокое количество эмбрионов отличного качества в группе применения прогестерона (55,56-69,64% эмбриона), по сравнению с контролем (53,57-59,46% эмбриона), применением фертагила (55,56-61,38 эмбриона) и хорулона (52,78-59,09 эмбриона). Число эмбрионов хорошего качества было практически на одном уровне, показатели эмбрионов удовлетворительного качества были меньше в группе воздействия прогестероном (7,14-10,04 эмбриона), чем в других группах и контроле(12,50-15,15 эмбриона);

- эмбриопродуктивность была выше при использовании половозрелых коров-доноров, преимущественно черно-пестрой породы, которая адаптирована к предгорным и климатическим условиям РСО-Алания.

6. Установлена зависимость эмбриопродуктивности от породной и возрастной группы коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой пород и применяемого гормонального препарата. Для исследуемых групп предпочтительнее использовать ФСГ-супер чем фоллтродин, применение которого более эффективно отражалось на показателях суперовуляции желтых тел, эмбриопродуктивности, оплодотворяемости и выходу пригодных эмбрионов, синхронной стадийности развития и качестве эмбрионов при превосходстве показателей, как у первотелок, так и у половозрелых коров-доноров черно-пестрой породы.

7. Исследования жизнеспособности и качества эмбрионов до и после криоконсервации показали следующее:

- на отход эмбрионов, не пригодных к трансплантации, дегенеративных и с морфологическими отклонениями, криоконсервация более существенно повлияла на зародыши доноров, айрширской породы всех групп где разница

составила от 3,45 до 1,57%, тогда как аналогичные данные среди подопытных групп черно-пестрой породы были в пределах 1,39-1,27%;

-показатели пригодных эмбрионов после криоконсервации были наиболее высокие у коров-доноров черно-пестрой породы (1,39-1,27%), чем у айрширской (3,45-1,56);

- криоконсервация эмбрионов менее существенно повлияла на эмбрионы отличного качества айрширских доноров, чем черно-пестрых. На эмбриопroduкцию хорошего и удовлетворительного качества - криоконсервация практически оказала равнозначное действие;

- эмбрионы коров-доноров как айрширской, так и черно-пестрой пород после криоконсервации можно успешно использовать в технологии пересадки эмбрионов коровам-реципиентам.

8. Расчеты экономической эффективности использования коров-доноров показали, что себестоимость одного качественного эмбриона составила у животных обработанных фертагилом. из первотелок - 60,07 руб., полновозрастных – 55,26 руб., в среднем - 57,67 руб., ФСГ-супер 49,28 руб., 48,14 руб., и 48,74 руб. Стоимость эмбриона на 1 донора, при применении ФСГ-супер по сравнению с применением фоллтропина была ниже на 13,38руб, (3,72%).

7. ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

Организация производства высококачественных эмбрионов для трансплантации должна базироваться на учете природно-климатических условий, подбора коров-доноров, анатомо-морфологического состояния органов размножения, клинического статуса, морфологических показателей крови и яичников, физиологических данных, и активной реакции на внешние раздражители, в том числе гормональные воздействия.

В молочном животноводстве РСО-Алания при организации биотехники воспроизводства на основе трансплантации эмбрионов, использовать в качестве коров-доноров как первотелок так и коров 2-5 отелов айрширской и черно-пестрой пород с двукратным осеменением двойной дозой, содержащий 30 млн спермиев не ниже по активности 4 баллов, с интервалом 10-12 ч.

Технология производства эмбрионов должна основываться на ультразвуковой диагностике морфологического состояния яичников, фолликулогенеза, позволяющей прогнозировать конечные результаты эмбриопродуктивности коров-доноров.

В качестве лютеинизации гонадотропного гормона рекомендовать применение масляного раствора прогестерона, в качестве стимулятора суперовуляционной реакции коров-доноров, гормональный препарата ФСГ-супер, обеспечивающий производство максимального количества высококачественных эмбрионов для трансплантации.

8. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреев Г. Лебедев А., Войлошков Д. Лазеротерапия в практике животноводства // Молочное и мясное скотоводство.-2001.-№5.- С.28-30
2. Анзоров В.А. Сравнительная характеристика и оценка Жизнеспособности эмбрионов, получаемых от здоровых и проблемных коров-доноров с разным уровнем молочной продуктивности/В.А. анзоров, В.М. Шириев, Н.И. Сергеев, В.А. Титова, Ф.Н. Насибов. Е.У. Байтлесов// Сельскохозяйственная биология.-2005.-№6.-С.37-41.
3. Анзоров В.А. Репродуктивный статус коров в зависимости от паратипических факторов / В.А. Анзоров, С.Н. Хилькевич, Ф.Н. Насибов, Е.У. Байтлесов, В.А. Титова , В.Н. Шириев // Современные технологические и селекционные аспекты развития животноводства России: материалы 3-й междунар. научно-практ. конф.- Дубровицы, Т.2. – 2005.-С.266-269.
4. Антипова Н.С. Использование биотехнологических методов разведения для получения бычков-производителей. Автореф.дис. канд. с.-х. наук: 06.02.01 Лесные поляны, 2001-20с.
5. Бабенков В.Ю. Биотехнологические методы интенсификации воспроизводства молочного и мясного скота: Автореф. дисс. доктор биол. Наук 03.0023. Дубровицы, 2004. - 46с.
6. Бабенков В.Ю. Биотехнология трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в Брестской области.//Животноводство Брестчины/ Информ. Бюллетень Брестского ГПП, 1998, июль, с. 27-31.
7. Бабенков В.Ю. Эффективность использования усовершенствованной технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота/ Автореф. диссерт. кандидат. с.-х. наук// Жодино, БелНИИЖ, 1993, 28 с
8. Баева З.Т. Прием улучшения молочной продуктивности и потребительских свойств молока коров при использовании сорбентов в рационах./ З.Т. Баева, М.Г. И.А. Аришина// Сборник докладов по материалам

конференции «Иновационные технологии в агропромышленном комплексе регионов России». – Майкоп. 2011.-С.6-9.

9. Баймишева Т. Спад мясного подкомплекса и пути вывода его из кризиса на Самаре // Молочное и мясное скотоводство.-2002.-№ 4.-С.21-23.

10. Байтлесов Е.У. Кормление и воспроизводительная способность коров / Е.У. Байтлесов // Материалы международной научно-практической конференции.- Екатеринбург, 2006. – С.34-36.

11. Байтлесов Е.У. Этиология и патогенез кист яичников у коров и возможности нормализации овариальной функции/ Е.У. Байтлесов, Ф.Н. Насибов, В.А. Титова, Е.А. Тяпугин// Доклады РАСХН.-2007-№4.-С.41-44.

12. Баранова Н.С. Генетическая оценка многоплодных коров. // Молочное и мясное скотоводство. №3. 2002. с. 24-26.

13. Баранова Н.С. Многоплодие коров – теория и практика.// Молочное и мясное скотоводство, №6, 2001. с. 26-30.

14. Баранова. Н.С. Генетическая оценка многоплодных коров. // Зоотехния, №4, 2012. с. 6-9.

15. Башенко М.І. Селекція молочної худоби у Черкаському регіональному центрі. – К.: Аграрна наука, 1999. – 240с.

16. Бегмуродов М. Биологическая и хозяйственная оценка многоплодия швицезебувидного скота/ Автореф. диссерт. канд. с.-х. наук, Дубровицы, ВИЖ, 1990, 24 с.

17. Биотехнология активизации процессов размножения КРС: (Методические рекомендации)/ А.И. Будевич, Зацепин П.Ф.; М-во с.-х. и продовольствия Респ.Беларусь, Нац. Акад. наук Беларуси, РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».- Жодино, 2010.- 14с.

18. Биотехнология ускоренного воспроизведения высокоценных генотипов крупного рогатого скота : А.И. Будевич, Зацепин П.Ф. и др.; М-во с.-х. и продовольствия Респ.Беларусь, Нац. Акад. наук Беларуси, РУП «Научно-

практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству».- Жодио, 2010.- 16с.

19. Бойко А.Г. Разработка биохимических тестов с целью повышения эффективности отбора коров доноров эмбрионов.// Автореф. диссерт. канд. биолог. Наук, Дубровицы, ВИЖ, 1992. 24 с.

20. Бородин Э., Емкужев М. Пожизненная продуктивность и долголетие коров-дочерей быков черно-пестрой и голштинской пород// Молочное и мясное скотоводство. 2000-№ 3.-с. 21-22

21. Бугров А.Д., Невинный Н.А., Бандура И.А., Савин А.М., Ланченко А.Н. Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота в опытном хозяйстве «Кутузовка» Харьковской области // Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных / Сборник науч. трудов ГСГЦ. Москва, 1988. – С.62-64.

22. Бугров О.Д., Гончар О.Ф. Розвиток і продуктивність двійнят великої рогатої худоби / Молочно-м'ясне скотарство. – Київ: Урожай, 1994.- вып. 85. – С. 79-84.

23. Будевич А.И. Частота встречаемости субклинической формы эндометрита у потенциальных коров доноров эмбрионов/ А.И. Будевич, Д.Н. Воробьев, В.В Кочетков// исследования молодых ученых в решении проблем животноводства: материалы ; междунар. науч.-прак. конф. (19-20 мая 2005г.).- Витебск, 2005.

24. Будевич И. Организация и опыт внедрения метода трансплантации эмбрионов в Белоруссии // Молочное и мясное скотоводство.-1992.-№ 1.- С.22-23.

25. Будевич И.И. Биотехнологические приемы и практические методы повышения эффективности трансплантации эмбрионов в молочном скотоводстве // Диссерт. (в форме научн. докл.) доктора с.-х. наук/ Жодио, БелНИИЖ, 1992. 61с.

26. Будевич И.И. Жук Н.Ф., Жук Е.Н., В.А. Сковородко В.А., Будевич А.И. Воспроизводительная способность и продуктивность реципиентов после

отела двойней // Научные основы развития животноводства в республике Беларусь / Межвед. Сборник , вып. 25, Мн, 1994.с.68-76.

27. Будевич И.И. Практика использования и перспективы трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота /Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. Витебск: 1996.-Т.34.- С200-201.

28. Букаров Н.Г., Еремина М.А. Селекционно-генетические аспекты множественной овуляции и пересадки эмбрионов в молочном скотоводстве //Доклады РАСХН, 2001. №3. -С.31-33

29. Валюшкин К.Д., Медведев Г.Ф. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных: Учеб. издание – Мн.: Ураджай, 1997. – 718с.

30. Гавриков А., Самodelкин А., Дряглов В. Влияние содержания и уровня кормления мясного скота на индуцирование полиовуляции / Молочное и мясное скотоводство, 1997. – №4. – С. 32-35.

31. Гавриков А.М. Технология трансплантации эмбрионов в мясном скотоводстве: Автореф. дис. докт. биол. наук/ ВИЖ. – Дубровицы, 1995- 46 с.

32. Гавриченко Н.В. Выживаемость близнецов и особенности течения послеродового периода у коров со спонтанной двойневой беременностью // Технология получения и выращивания здорового молодняка сельскохозяйственных животных и рыбопосадочного материала, Мн., 1993. с. 11-12.

33. Гавриченко Н.И. Многоплодие и воспроизводительная функция чернопестрых коров / Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства // Матер. Междунар. Научн.-практ. конф., посвященной 70-летию зооинженерного факультета и памяти почетного профессора БГСХА П.И. Шумского (г. Горки, 23-24 июня 2000г.) – Горки, 2000, С. 153-157.

34. Гавриченко Н.И. Физиологические особенности двойневой беременности и послеродового периода у коров./Автореф. диссерт. канд. биолог. наук. Витебск 1997г., 20 с.

35. Гавриченко Н.И. Эффективность гормональной индукции многоплодия у коров// НТИ и Рынок, 1997, № 6, с. 34-37.
36. Газдаров А.А. Эффективность использования препаратов хелатона и эпофена в рационах лактирующих коров // автореферат диссертации к.с-х наук.-Владикавказ 2011.
37. Газетдинов М. Состояние скотоводства и пути выхода его из кризиса в республике Татарстан // Молочное и мясное скотоводство.-2002. -№4.-С.5-7.
38. Генетический паспорт стада крупного рогатого скота племенного завода "Непечино" Коломенского района Московской области /Медведев С.М., Артюхина И.Н., Гриненко А.А. и др., 2001. 19 с.
39. Гончар О.Ф. Досвід роботи спеціалістів лабораторії по трансплантації ембріонів НВО «Прогрес» Черкаської області / Генетико-селекційні та технологічні проблеми відтворення сільськогосподарських тварин// Тез. допов. наук.-практ. конф.19-20 травня 1999р. К. 1994, с. 75.
40. Гончар О.Ф. Порівняльна оцінка двієн, одержаних методом ембріотрансплантації та традиційним способом / Автореф. диссерт. канд. с.-г. наук, Харків, Інститут тваринництва УААН, 1996, 24 с.
41. Горячев, И.И. Влияние разных условий кормления высокопродуктивных коров с индуцированной двойнею стельностью методом трансплантации эмбрионов на течение беременности, родов, послеродового периода и жизнеспособность потомства/И.И. Горячев, Н.Ф. Жук, Д.Н. Воробьев// Вестні ААН РБ.-1992.-№2.-С.65-68.
42. Горячев И.И., Богуш Ф.Ф., Пилюк Н.В. Кормление высокопродуктивных коров. – Мн.: БелНИЦИМ АПК, 1996.- 28с.
43. Грига Э.Н. Причины, пути и методы ликвидации бесплодия коров в Ставропольском крае // Вестник ветеринарии. -2000.-№16. С.57-59.
44. Грушевский И.Ю. Актуальность изучения послеродовых эндометритов у крупного рогатого скота/ И.Ю. Грушевский, А.Г. Морозов, К.В. Леонов// Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Научное

обеспечение инновационного развития отечественного животноводства».- Новочеркасск.-2011.-С.118-121.

45. Грушевский И.Ю. Актуальность проблемы послеродовых эндометритов в молочном скотоводстве/ И.Ю. Грушевский, К.В. Леонов// Материалы Международной научно-практической конференции «Инновации в науке, образовании и бизнесе –основа эффективного развития АПК».- Персиановский.-2011.-т.3.-С.166-168.

46. Грушевский И.Ю. Новый способ лечения коров при эндометритах/ И.Ю. Грушевский// Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Научные проблемы и современные тенденции развития Отечественного животноводства в условиях ВТО».- Новочеркасск.-2013.С.93-97.

47. Грушевский И.Ю. Основные проблемы воспроизводства крупного рогатого скота в Ростовской области и пути их решения/ А.П. Аксенова, А.М. Ермакова, И.Ю. Грушевский// Ветеринарная патология.-2013.№3(41).-С.108-115.

48. Грушевский И.Ю. Эффективный способ лечения послеродовых эндометритов КРС с Применением нового препарата из амидов жирных кислот/ И.Ю. Грушевский, П.В. Грушевский, П.В. Аксенова, А.А. Зубенко, Л.Н. Фетисов, А.Н. Бодряков// Зотехнияю-2013.-№11.С.30-33.

49. Гуляева Т., Сухорукова Н. Крупное производство – фактор эффективности молочного скотоводства // Молочное и мясное скотоводство.- 2002.- №5. С.8-10.

50. Гуськов А.М. Пузына Г.И. Влияние стресс-факторов на репродуктивную функцию животных // Зоотехния.-1994.-№4.-С.22-24.

51. Деряженцев В.И., Бортников А.М. Влияние фоллитропина и АСД Ф-2 на атипичный сперматогенез у быков // Зоотехния. 1998. - №6. С. 28-29.

52. Дуванов А.В. Эффективность пересадки эмбрионов коровам-реципиентам// Использование трансплантации эмбрионов в селекции и

- разведении сельскохозяйственных животных / Матер. междунауч. науч.-практ. конф. (окт. 1997 г., Аскания-Нова). – Киев, Аскания-Нова, 1997. – С. 29-30.
53. Дюльгер Г.П. Частота распространения, факторы риска, ультразвуковая диагностика и исходы многоплодной беременности у коров/ Г.П. Дюльгер// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии.-2012.-№2.- С.43-46.
54. Еремина М.А. Коровы-реципиенты и их использование в эмбриотрансплантации / Современные проблемы селекции и племенного дела в животноводстве // Тезисы докл. междунауч. науч. конф. ВНИИГРЖ, 26-28 сент. 2001г. Санкт-Петербург, 2002. – с.144-146.
55. Жаров А.В., Гончаров В.П., Суаре Мамади. Морфологические изменения в матке коров при послеродовом эндометрите // Ветеринария.-1995.-№9.-С.44-47.
56. Жук Н.Ф. Биотехнологические аспекты получения двоен в молочном скотоводстве на основе метода трансплантации эмбрионов / Автореф. диссерт. канд. с.-х. наук, Жодино, 1993, 24с.
57. Жук Н.Ф. Будевич А.И. Леткевич Л.Л. Ганджа А.И. Жук Е.Н. Воробьев Д.Н. Использование трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в условиях племенных заводов Гомельской области / Зоотехническая наука Беларуси: Сб. научн. работ.- Мн.:Изд. тов. «Хата», -1999.-т.34.- С.49-56.
58. Жук Н. Ф., Воробьев Д.Н. Способы повышения воспроизводительной функции коров Республики Беларусь. Патент №5237 от 21.2002.-5с.
59. 59. 52. Жук Н.Ф., Воробьев Д.Н. Способ повышения жизнеспособности телят-двоен Республика Беларусь. Патент № 5017 от 24.06.2003.-3с.
60. Жекамухов М.Х., Гукежев В.М. Степень достоверности отбора быков по происхождению. // Селекция, кормление, содержание сельскохозяйственных животных и технология производства продуктов животноводства. Сб. тр. ВНИИ плем. М. №9. 1999. – с. 21,23.

61. Завадовский М.М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия сельскохозяйственных животных М: Сельхозиздат, 1963. 671с.
62. Завертяев Б.П., Прохоренко П.Н. Совершенствование системы разведения и селекции молочного скота// Зоотехния, 2000. №8.-с.8-12.
63. Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота. – Л.: Агропромиздат. Ленингр. отд-ние, 1989-255с.
64. Завертяев Б.П.. Повышение многоплодия в скотоводстве. М., Россельхозиздат, 1987, 190 с.
65. Зюбин И.Н. Метриты коров.-М.: Агропромиздат, 1988.-104с.
66. Ибрагимов У.З. Влияние нарушений обмена веществ на показатели гуморального и клеточного иммунитета, клинико-физиологические показатели у коров, полученных от них телят и заболеваемость / У.З. Ибрагимов, Р.Ш. Омаров // I-я Международная научно-практическая конференция 20-22 мая 2010 года «Перспективы развития АПК в современных условиях». – Владикавказ, 2010. – С. 32-35.
67. Ибрагимов Ю. Факторы, влияющие на эффективность гормонального вызывания суперовуляции, качество и приживляемость эмбрионов при трансплантации.// Биотехнологические приемы в технологии трансплантации эмбрионов/ Бюллетень науч. работ ВИЖ, вып. 104, 1991, стр. 31-35.
68. Ибрагимова Ш.А., Насибов М.Н., Успинский А.Н. Нормализация эндомиоцитарных нарушений в системе биотехнических мероприятий. Ветеринария ,2009, 5: 27-30.
69. Каталог быков-производителей / Лазаренко Н.А., Антипова Н.С., Михеенков В.Е. и др., М: ФГУП «Московское» по племенной работе, 2001, 2002. 69с.
70. Каталог быков-производителей / Бошляков В.Н., Лазаренко Н.А., Жуков В.Д. и др. М: ФГУП «Московское» по племенной работе 2004, 2005-75с.

71. Кыса И.С. Ускоренное воспроизводство высокопродуктивных племенных животных в молочном и мясном скотоводстве на основе новых биотехнологических методов. Автореф. дис. доктора биол. наук 03.00.23. - Дубровицы- 2000. -42 с.
72. Квасницкий А.В., Мартыненко Н.А., Близнюченко А.Г. Трансплантация эмбрионов и генетическая инженерия в животноводстве. – К.: Урожай, 1988. – 264с.
73. Кива М.С. Многоплодие коров, его параметры, биологические особенности и хозяйственное значение // Пути увеличения производства и улучшения качества продукции земледелия и животноводства / Республ. Научн.- производств. Конфер., Белая Церковь, 1980, с.98-101.
74. Кинзеев В.Н. Эффективность трансплантации эмбрионов в воспроизводстве мясного скота. Автореф. ... канд. биологических наук / Дубровицы, ВИЖ. 1998. 26с.
75. Козырев С.Г. Физиологические механизмы совершенствования продуктивных качеств голштинизированного скота черно-пестрой породы в условиях центрального предкавказья/ Автореф. диссерт. докт. биол. наук, Москва, 2011.
76. Кононенко С.И. Биолого-продуктивный потенциал лактирующих коров при скармливании антиоксидантов/С.И. Кононенко, А.А. Газдаров// Труды Кубанского государственного аграрного университета.- Краснодар.2011.№5(32).-С.163-165.
77. Кононенко С.И. Влияние антиоксидантов на биолого-продуктивный потенциал лактирующих коров// С.И. Кононенко, Р.Б. Темираев, А.А. Газдаров// Материалы международной научно-практической конференции №Современные проблемы теории и практики инновационного развития АПК».- Нальчик.-2011.
78. Кононенко С.И. Влияние комплексов на хозяйственно-биологические показатели коров/ С.И. Кононенко, Р.Б. Темираев, А.А. Газдаров// Сборник научных трудов международной научно-практической конференции

«Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных».-Краснода.-2010.-С.107-109.

79. Кононенко С.И. Эффективный способ повышения молочной продуктивности коров/ С.И. Кононенко, Р.Б. Темираев, А.А. Гадаров// Эффективное животноводство.- Краснодар.-2011.-№9 (71). – С. 18-19.

80. Конопельцев И.Г. Применение озонированной эмульсии при эндометрите у коров/ И.Г. Конопельцев, Е.С. Муравина, А.Ф. Сапожников// Ветеринария.-2013.№ 8.- С.39-43.

81. Конопельцев И.Г. Фармако-токсикологические свойства и эффективность применения озонированной эмульсии при остром эндометрите у коров/ И.Г. Конопельцев, Е.С. Муравина, А.Ф. Сапожников// Аграрная наука Евро-Северо-Востока.-2013 - №4.-С.58-61.

82. Коронец И.Н. Эффективность гормональных методов повышения многоплодия крупного рогатого скота.// Автореф. диссерт. канд. с.-х. наук, Жодино 1991, 24 с.

83. Кыса И.С. Получение телят-двоен методом трансплантации эмбрионов/ Автореф. диссерт. биолог. наук// Дубровицы, ВИЖ, 1990, с. 24.

84. Левантин Д.Н. О некоторых структурных изменениях в развитиях животноводства отдельных стран// Зоотехния.-1995.-№9.-С.27-31.

85. Лебедев В.И., Белоножкин В.П. Молочная продуктивность коров-трансплантантов при межпородных пересадках эмбрионов // Материалы международного научно-практического семинара, 2005. В.1 1. - С.34-36.

86. Левченкова В.П., Рыкалова С.А., Данилова Л.В., Кочетова Н.П. Многоплодие и молочная продуктивность коров швицкой породы // Селекция молочного скота и промышленные технологии . М: ВАСХНИЛ, 1990, с 107-110.

87. Леткевич Л.Л. Прогнозирование эффективности трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота / Автореф. диссерт. канд. с.-х. наук, БелНИИЖ, Жодино, 1993 – 24 с.

88. Методические рекомендации по отбору и использованию высокопродуктивных коров-доноров эмбрионов./ ВИЖ; сост. В.Л. Мадисон, В.И. Лебедев, А.П. Дронин, В.В. Мадисон, Е.Н. Назаров. – Дубровицы, 1993. – 27с.
89. Мадисон В.В., Мадисон В.Л.. Трансплантация эмбрионов в практике разведения молочного скота. Москва, ВО «Агропромиздат» 1988. с 128.
90. Мадисон В.Л. Опыт организации трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота // Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных / Сборник науч. трудов ГСГЦ. Москва, 1988. – С.9-14.
91. Мамукаев М.Н., Хетагурова Б.Т. Обработка коров-доноров гормональными препаратами фертагил, хорулон и прогестерон/ Известие ГГАУ, 2013 Т.№50 Ч4, С.132-138.
92. Мамукаев М.Н., Хетагурова Б.Т. Оценка качества пригодных эмбрионов/Известие ГГАУ, 2013 Т.№50 Ч4, С.128-132.
93. Медведев Г.Ф., Гавриченко Н.И. Физиология послеродового периода у одно- и многоплодных коров / Матер. респ. науч-практ. конф. по животноводству и ветер. медицине (21-22 сентября 1994г.), Витебск, 1994, с. 51.
94. Медведев Г.Ф., Гавриченко Н.И. Особенности восстановления половой цикличности у многоплодных коров после отела // Проблемы производства молока и говядины / Матер. Междунар. Конференции 19-20 июня 1996 года, Жодино, 1996 , с.80.
95. Методические рекомендации по отбору и использованию высокопродуктивных коров-доноров эмбрионов./ ВИЖ; сост. В.Л. Мадисон, В.И. Лебедев, А.П. Дронин, В.В. Мадисон, Е.Н. Назаров. – Дубровицы, 1993. – 27с.
96. Мовсаров Х.Д. Использование местных природных агроруд РСО-Алания для коррекции минерального обмена у сельскохозяйственных животных./Х.Д. Мовсаров//Вестник ветеринарии.-2006.-№39.-С.62-64.

97. Мовсаров Х.Д. Корекция обмена веществ у коров с применением бентонитовой глины «Ирлит-7»/Х.Д. Мовсаров// Ветеринарный врач.-2007.- №3.-С.35-37.
98. Мовсаров Х.Д. Уртаев А.Л. Мониторинг при хронической недостаточности микроэлементов и пути ее устранения у крупного рогатого скота/Х.Д. Мовсаров, А.Л. Уртаев// Известие государственного аграрного университета. - Владикавказ, 2008. Т.45, Ч.1.-С.95-98.
99. Мороз Т.А., Блохин С.М. Реакция суперовуляции у коров костромской породы при применении высокоочищенного препарата ФСГ и суперфана / Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения // Сборник трудов ВНИИплем. – М., 1991. – С. 32-37.
100. Мороз Т.А., Блохин С.М. Эмбриодуктивность коров при использовании гормональных препаратов отечественного производства // Использование трансплантации эмбрионов в селекции и разведении сельскохозяйственных животных / Матер. междун. науч.-практ. конф. (октябрь 1997 г., Аскания-Нова). – Киев, Аскания-Нова, 1997. – С. 57-58.
101. Муравина Е.С. Разработка нового способа лечения коров при остром эндометрите / Е.С. Муравина // Вклад молодых ученых в инновационное развитие АПК России: Сб. матер. Всеросс. Научно-практ. конф. – пенза, 2012 – С.57-59.
102. Муравина Е.С. Экспериментально-клиническое обоснование применения озонированной эмульсии при остром эндометрите у коров/Е.С. Муравина, И.Г. конопельцев// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии-2013№1.- С.87-91.
103. Мысик А.Т. развитие животноводства в странах мира // Зоотехния. - 2003.-№1.-С.2-9.
104. Нежданов А.Г., Скрипицын Ю.А., Терновых С.В., Эффективность гормональной индукции полиовуляции у коров// Ветеринария. 2002.№ 10.- с.35-38.

104. Ф.Н. Насибов, Л.Э. Вердиева Б.Т. Хетагурова, А.В. Панкратова/ Особенности фармакокинетики и параметров безопасности нового комплексного препарата «эндотил-форте» для терапии и профилактики эндометритов у коров// Молодые ученые в решении актуальных проблем, Материалы V международно-практической конференции Владикавказ 2014, с.291-295.
105. Насибов З.Н., Хетагурова Б.Т./ организационно-экономические факторы эффективного использования производственного потенциала животноводства// Молодые ученые в решении актуальных проблем, Материалы V международно-практической конференции Владикавказ 2014, 296-298.
106. Насибов Ф.Н. Жизнеспособность эмбрионов в зависимости от физиологического статуса коров-доноров / Ф.Н. Насибов, Е.У. Байтлесов, Е.А. Тяпугин, В.А. Титова // Вестник ветеринарии.-2007.№3. – С. 36-45.
107. Насибов Ф.Н. Воспроизводительная активность стада при различных условиях эксплуатации коров/ Ф.Н. Насибов, Е.А. Тяпугин, Е.У. Байтлесов, В.А. Титова// Ветеринарная патология.-2008.-№3.-С.67-70.
108. Насибов Ф.Н. исследование некоторых факторов, влияющих на образование кист яичников/ Ф.Н. Насибов, Е.У. Байтлесов, Е.А. Тяпугин, В.А. Титова// Ветеринарная патология.-2008.№3.-С.70-72.
109. Нормы и рационы кормления с/х животных/Калашников А.П., Фисинин В.И., Щеглов В.В. и др. М: 2003.-с. 101-110.
110. Осташко Ф.И., Исаченко В.В., Кирьянчук А.А. Эффективное использование спермы при осеменении суперовулировавших коров и телок // Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных / Сборник науч. трудов ГСГЦ. Москва, 1988. – С.42-45.
111. Овсепян А.А., Кривохарченко А.С., Серобян Г.А. Суперовуляция и получение доимплантационных эмбрионов от коров-доноров локальной красной горбатовской породы // Проблеми індивідуального розвитку

- сільськогосподарських тварин. Збірн. науков. праць міжнар. конф., присвяченої 90-річчю від дня народження К.Б. Свечина / Київ, 1997. – С. 114.
112. Пабат В.А., Винничук Д.Т. Теоретические и практические аспекты молочной продуктивности коров. – Киев, 1999, 184с.
113. Панкратова А.В., Насибов Ф.Н., Вердиев Л.Э., Хетагурова Б.Т./ Биотехнологический метод коррекции депрессии репродуктивной активности коров// Молодые ученые в решении актуальных проблем, Материалы V международно-практической конференции Владикавказ 2014, 302-303.
114. Панкратова А.В., Хетагурова Б.Т., Вердиев Л.Э., Насибов Ф.Н./ Новый препарат эндотил-форте в терапии эндометриальных нарушений у коров// Молодые ученые в решении актуальных проблем, Материалы V международно-практической конференции Владикавказ 2014, 304-307.
115. Патент на изобретение UI «Способ стимуляции репродуктивной функции животных» / В.С. Авдеенко, Е.У. Байтлесов, А.С. Рыхлов, М.Н. Насибов, А.П. Креницкий, Р.М. Бисенгалиев. - №2316958; заявка №2006125567. Зарегистрировано в Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 20.02.2008г.
116. Патент на изобретение UI «Способ лечения и профилактики неспецифических воспалительных заболеваний половых органов животных» / В.С. Авдеенко, Е.У. Байтлесов, А.С. Рыхлов, М.Н. Насибов, А.П. Кренский.- №2345802; заявка № 2007105180. Зарегистрировано в Государственном реестре полезных моделей Российской Федерации 10.02.2009.
117. Проблема интенсификации воспроизводства в племенном скотоводстве / Н.М. Решетникова, Т.А. Мороз, А.М. Малиновский и др. // Современные аспекты селекции, биотехнологии, информатизации в племенном животноводстве. Сборник ВНИИплем, М. – 1997. – С. 121-130.
118. Попов Н.А., Еремина М.А. Селекционные и генетические аспекты эмбриотрансплантации, Дубровицы, 2005. 64 с.
119. Попов Н.А., Ескин Г.В. Аллелофонд пород крупного рогатого скота по ЕАВ-локусу. М:2000. - С. 101, 149.

120. Программа сохранения и рационального использования генофонда красно горбатовской породы крупного рогатого скота /Катков Л.А., Саморуков Ю.В., Чубарь Н.М. и др. Дубровицы 2001. 56 с.
121. Полянцев Н.И. Биотехнический контроль воспроизводства в скотоводстве//Зоотехния.1997.-№4.-С.25-27.
122. Полянцев Н.И. Подберезный В.В Системы ветеринарных мероприятий при воспроизводстве крупного рогатого скота. Ветеринария, 2004, 5: 33-35.
123. Полянцев Н.И. Полянцев Ю.Н. Метрогель при подостром и хроническом эндометрите у коров. Ветеринария, 2000, 10: 36-38.
124. Полянцев Н.И., Подберезный В.В., Системы ветеринарных мероприятий при воспроизводстве крупного рогатого скота. Ветеринария, 2004, 5: 33-35.
125. Решетникова Н.М. Эмбриональное развитие крупного рогатого скота при концентратном типе кормления / С.-х. биология, 1991, № 2, с. 49-60.
126. Решетникова Н.М. Малиновский А.М., Мороз Т.А. Современные!! тенденции воспроизводства стада //Труды ВИЖа, 2004. В.62. - Т.3. - С. 3944.
127. Решетникова Н.М. Фолликулогенез крупного рогатого скота при гормональной регуляции и различных формах нарушения воспроизводительной функции // Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения с.-х. животных / Сборник трудов ВНИИплем. – М., 1988. – С.73-83.
128. Седлецкая Е.С. Клиническая и ультразвуковая оценка терапевтической эффективности овулина при фолликулярных кистах яичников у коров/ Е.С. Седлецкая, Г.П. Дюльгер// Главный зоотехник. -2011.№2.-С.49-57.
129. Седлецкая Е.С. Клиническая и ультрозвуковая оценка терапевтической эффективности фолигона при гипофункции яичников у коров/ Г.П. Дюльгер, Е.С. Седлецкая, В.В. Храмцов// Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию профессора Г.А. Черемисинова и 50-летию создания Воронежской школы: «Современные

проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизводства животных». – Воронеж, 2012. – С.177-182.

130. Седлецкая Е.С. Частота распространения, факторы риска, ультразвуковая диагностика и исходы многоплодной беременности у коров/ Г.П. Дюльгер, Е.С. Седлецкая// Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2012.-С.43-46.

131. Седлецкая Е.С., автореферат Клинико-эхографическая диагностика и оценка эффективности гормонотерапии коров при гипофункции и кистах яичника, Воронеж, 2013.

132. Сергеев Н.И., Сукачева Л.П. Факторы влияющие на эффективность нехирургической пересадки эмбрионов крупного рогатого скота //Биотехнологические методы в селекции. –М., 2004 – С.35-40.

133. Середин В.А. Биотехнология воспроизводства в скотоводстве: Учебное пособие – Нальчик: Изд. центр «Эль-Фа», 2004. – 472 с.

134. Семенович Т.В., изменение некоторых показателей минерального обмена в организме коров при применении седимина/Т.В. Семенович// Молодые ученые в решении актуальных проблем науки.: Материалы международной научно-практической конференции молодых специалистов.: сб.науч. тр.-Троицк: УГАВМ.- 2012.-С.69-72.

135. Ситниченко Н.В. Совершенствование способов отбора коров для извлечения эмбрионов Автореф. диссерт. канд. с.-х.. наук / Лесные поляны, ВНИИплем, 1994, 18с.

136. Слесарев И.К., Пилюк Н.В. Значение макро- и микроэлементов в питании животных. В кн. Минеральные источники Беларуси для животноводства., Мн., 1995, 176 с. (5-18 стр.).

137. Смирнов В.Н. Наследственные особенности предрасположенности к многоплодию красной горбатовской породы // Новое в разведении сельскохозяйственных животных / Сборн. трудов . М. 1990. с 39-40.

138. Смирнова Е.А. Поведенческие реакции глубококостельных коров и проявление послеродовых заболеваний/ Е.В. Смирнова, А.Г. Нежданов, Н.Т.

- Климов, В.И. Михалев// Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные.- 2013.- №1.- С.13-15.
139. Смирнова Е.В. Воспроизводительная функция у коров разных типов этологической активности/ Е.В. Смирнова, А.Г. Нежданов, Н.Т. Климов и др.// Ветеринария.-2013.-№5.-С.33-37.
140. Смирнова Е.В. Прогнозирование послеродовых осложнений у молочных коров на основании оценки поведенческих реакций/ Е.В. Смирнова// Инновационные решения актуальных проблем в АПК: Мат. Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых и специалистов.- Екатеринбург, 2013.-С.178-183.
141. Смирнова Е.В. Эффективность фармакопрофилактики родовых и послеродовых заболеваний у коров в зависимости от их экологической индивидуальности/Е.В. Смирнова// Актуальные проблемы ветеринарного акушерства и репродукции животных: Мат.Междун. научно-практической конф., посвященной 75-летию со дня рождения и 50 летию научно-практической деятельности доктора вет. Наук.Г.Ф. Медведева.- Горки: БГСХА, 2013.-С.252-257.
142. Советкин С.В., Прокофьева Е.С., Назаров Е.А., Долгохацкий А.И. Стимуляция суперовуляции у коров-доноров / Зоотехния, 1989. - №4. – С. 64-65.
143. Солдатов А.П., Арзуманян Е.А. Пути совершенствования племенных и продуктивных качеств пород крупного рогатого скота // Известия ТСХА, вып. 5, 1990. с. 178-187.
144. Способ лечения эндометрита у коров/И.Г. Конопельцев, Е.С. Муравина Патент на изобретение №2475253МПК С1.- Оpubл.20.20.2013.- Бюл.№5.-4с.
145. Стрекозов Н.И. Научные основы повышения эффективности молочного скотоводства // Зоотехния.-2002.№1.-С.2-5.
146. Стрекозов Н.И., Погодаев С.Ф., Иванов В.А. и др. Прогрессивные технологии в скотоводстве // Зоотехния.- 2002.-№2.-С.2-8.

147. Тарадайник Т.Е. Факторы, влияющие на выживаемость эмбрионов крупного рогатого скота при нехирургической пересадке/ Автореф. диссерт. канд. биол. наук / п. Дубровицы, Московской области, 1992, 22с.
148. Тарасенко Н.В., Шевченко В.В. Оценка фолликулостимулирующих гормонов для вызывания суперовуляции у коров // Использование трансплантации эмбрионов в селекции и разведении сельскохозяйственных животных / Матер. междуна. науч.-практ. конф. (октябрь 1997 г., Аскания-Нова). – Киев, Аскания-Нова, 1997. – С. 81-82.
149. Тедтова В.В. Использование антиоксидантных препаратов для повышения качества молока./ В.В. Тедтова, Н.Г. Тер-Терьян, И.А. Аришина// Материалы международной научно-практической конференции «Инновационные пути развития животноводства».- КЧР. пос. Нижний Архыз.-2009.-С.271-273.
150. Тедтова В.В. Повышение физико-химических и технологических качеств молока./ Тедтова В.В., Баева З.Т., Темираев В.Х./ Молочная промышленность.- 2009.-№10.С. 48-51.
151. Тезиев Т.К. Использование адаптивных систем для повышения продуктивности коров / Т.К. Тезиев, С.Г. Козырев, З.Б. Хадарцева// Рекомендации производству. Владикавказ, 2008.
152. Темираев Р.Б. Влияние хелатных соединений на морфологические и биохимические показатели крови коров/ Р.Б. Темираев, З.Т. Баева, Н.Г. Тер-Терьян, А.В. Музаева, И.А. Аришина// Труды Кубанского ГАУ.- Краснодар. 2009.№6(21).-С.140-144.
153. Темираев Р.Б. Как обезопасить молочные продукты от загрязнения тяжелыми металлами/ Темираев Р.Б., Баева З.Т., Тезиев У.И., Газдаров А.А.// Молочная промышленность.-2009.-№5.-С.73.
154. Темираев Р.Б. Технологические приемы снижения тяжелых металлов в молоке/ Темираев Р.Б., Кадалаева З.Т., Созаев В.Г., Тезиев У.И.// Материалы 1 международного форума молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы современной науки».-Самара.-2005.-С.47-49.

155. Троаре Абу, Карлос Нделан Секума, Колягин А. Репродуктивные и воспроизводительные функции мясных коров при отеле двойней и одиночком./ молочное и мясное скотоводство 1999, № 2, с. 24-27.
156. Тяпугин Е.А., Гавриков А.М., Агалакова Т.В., Перминова Л.В., Калягин А.А. Методы улучшения приживляемости эмбрионов// Зоотехния. 2008, №5.- С.27-28.
157. Фенченко Н.Г., Шактров Ф.Б., Ахатова И.А. и др. Производство молока // Система ведения агропромышленного производства в республике Башкортостан. –Уфа , -С.273-284.
158. Федорова М.П., Решетникова Н.М. Оптимизация воспроизводительных процессов у коров и жизнеспособность новорожденных телят в связи с профилактическими мероприятиями в сухостойный период / Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения // Сборник трудов ВНИИплем. – М., 1991. – С. 32-37.
159. Хетагурова Б.Т., Мамукаев М.Н., Показатели суперовуляции коров-доноров при использовании фертагила, хорулона и прогестерона/ ГГАУ, 2014, Известие №51 Т.2, С. 76-81.
160. Хетагурова Б.Т., Панкратова А.В., Насибов Ф.Н., Вердиев Л.Э./ Некоторые факторы развития фолликулов у лактирующих коров// Молодые ученые в решении актуальных проблем, Материалы V международно-практической конференции Владикавказ 2014, 325-327.
161. Хетагурова Б.Т., Мамукаев М.Н., Торчеков Т.Т., Воробьев Д.Н., Живая масса новорожденных телят-двоен в зависимости ее от продолжительности внутриутробного развития/ ГГАУ, 2014, Известие №51 Т.2, С.71-76.
162. Хохрин С.Н. Кормление крупного рогатого скота: Справочное пособие. – Спб.: ПрофиКС, 2003.- 452с.
163. Цалиев Б.З. Хозяйственные и биологические особенности животных в условиях круглогодичного горного содержания / Автореф. доктора с-х. наук. Владикавказ, 1999.

164. Черкасова В.И., Сноз Г.В., Шабанов А.М. Клиническое исследование животных. Методические указания М., 2004.
165. Шевелуха В.С. Сельскохозяйственная биотехнология: Учеб. пособие / В.С. Шевелуха, Е.А. Калашников, Е.С. Воронин и др.; Под ред. В.С. Шевелухи – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Высш. шк., 2003. – 469 с.
166. Шеремета В.І., Лакатош В.М., Опанасенко В.О. Зв'язок морфологічної оцінки жовтого тіпа та деяких імунобіохімічних показників крові з рівнем суперовуляції та якістю отриманих ембріонів у корів-донорів./ Розведення і генетика тварин.// Наук. збір. УААН, Київ.: Аграрна наука. 1996, вип. 28, с. 132-135.
167. Шеремета В.І., Лакатош В.М., Опанасенко В.О. Рівень суперовуляції у корів-донорів залежно від імунобіохімічних показників крові./ Розведення і генетика тварин, 1996, вип. 28, с. 136-140.
168. Шитиков В.В. Имуностимуляция коров и неспецифическая резистентность потомства /В.В. Шитиков // Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы XI Сибирской ветеринарной конференции – Новосибирск, 2011.- С. 182-183.
169. Шириев В.М., Мишуковская Г.С. Применение биосана при лечении эндометритов крупного рогатого скота// Проблемы зоотехнии и ветеринарной медицины. –Уфа, 2012. –С.132-135.
170. Шириев В.М., Мишуковская Г.С. Биотехнология воспроизводства крупного рогатого скота// Основные направления системы ведения агропромышленного производства в Республике Башкортостан. –Уфа,1996.- С.37-39.
171. Шубин А.А., Писакова Н.М., Шубина Л.А. и др., Интенсивная технология воспроизводства стада// Зоотехния. -1993.-№3.-С.21-24.
172. Эрнст Л. К., Сергеев Н. И. Трансплантация эмбрионов сельскохозяйственных животных. – М.: ВО Агропромиздат, 1989. – 284с.
173. Эрнст Л.К. Животноводство России 2001-2010 // Зоотехния. -2001.-№ 10.-С.2-8.

174. Эрнст Л.К. Проблемы крупномасштабной селекции в скотоводстве // Повышение генетического потенциала молочного скота. М.: Агропромиздат, 1985. 225 с. (С.3-8).
175. Эфендиев Б.Ш. Зональные особенности кормления молочного скота на Северном Кавказе. К.Р./ Бодяко, Б.Ш. Эфендиев // Тр. Кубанского государственного аграрного университета.-2009. № 6(21). –С.146-148.
176. Эфендиев Б.Ш. Влияние рациона, обогащенного недостающим количеством макро- и микроэлементов, на молочную продуктивность коров/ Бодяко, Б.Ш. Эфендиев // Тр. Кубанского государственного аграрного университета.-2011. № 2(29). –С. 140-143
177. Эфендиев Б.Ш. Зональные особенности минерального питания молочного скота в условиях центрального предкавказья/ Автореф. диссерт. доктора с-х. наук, Нальчик, 2012.
178. Эфендиев Б.Ш. Эффективность обогащения летних рационов минеральными веществами/ К.Р. Бодяко, Б.Ш. Эфендиев // Тр. Кубанского государственного аграрного университета.-2009. № 6(29). –С. 140-143.
179. Яблонский В.А. Трансплантация эмбрионов с.-х. животных. М.: ВО «Агропромиздат», 1988. 320с.
180. Яромц А.В. Повышение физико-химических и технологических свойств молока и продуктов его переработки./А.В. тедтова, С.И. Кононенко, И.А. Аришина, А.А. Газдаров// Вестник Майкопского государственного технологического университета. – Майкоп.-2011.-№3.С.56-59.
181. Berezovski C.J., Stich K.L., Wendt K.M., Vest D.J. Clinical comparison of 3 products available to hasten ovulation in cycle mares// J.Equine Vet. Sci. 2004. Vol.24.p.231-233.
182. Bonett B., Martin S., Meek A. Association of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. Prev. Vet. Med., 1993, 15: 205-220.
183. Butler W. Effect of protein nutrition and uterine physiology in dairy cattle//J. Dairy Sci.-1998.-V.-81.-P.2533-2539.

184. 180. Celeghini E.C. et.al.// *Animal Reproduction Science*,2008. T.104.P.119-131.
185. Chupin D., Combarous Y., Procureur R. Different effect of LH on FSH-induced superovulation in two breeds of cattle / *Teriogenology*. – 1985. – V.23. – P. 184.
186. Crtmill J., El-Zarkouny S., Hensley B. et.al., Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattler after three timed breeding protocols// *J. Dairy Sci.*- 2001.V.84.-P.1051-1059/
187. Devkota B. et.al. Relationships among age, body weight, scrotal circumference, semen guality and peripheral testosterone and estradiol concentrations in pubertal and postpubertal Holstein bulls. 2008. 70. (1) P.119-121.
188. Donaldson D.E., Ward D.N. Effect of luteinizing hormone on embryo production in superovulated cows // *J. Vet. Rec.* – 1986. – V. 119. – P. 625-626.
189. Drost M., Ambrose J., Thatcner M.at.al. Conception rates after 1999-V.52 p.1161-1167.
190. Echternkamp S.E., Gregory K.E., Discerson G.E. Twinning in cattle: II Genetic and environmetal effects on ovulation rate in puberal heifers and postpartum cows and effects of ovulation rate on embrionic survival // *J. of Anim. Sci.*, 1990, v. 68., № 7, p. 1877-1888.
191. Esslemont D., Kossaibati M. The cost poor fertility and disease in UK dairy herds. Intervet. UK Ltd., Milton, 2002/
192. Fleury J., Fleury P., Sousa F.A.,Gilley R/ Prelinary evaluation of a BioRelease delivery system for the controlled release of deslorelin for advancing ovulation in the mare effects of dose // *Rev Bras Reprod Anim.*2003 Vol.27. p.501.502.
193. Foote R. The research for reproduction physiology of dairy cattle and manadment the lust success and the future prognosis// *J. Dairy.Sci.*-1996-N 79. P.980-990.

194. Grandke R., Herrman M., Beuing R. Der Einfluss von ausgewählten Leistungsparametern auf das Spulergebnis von MOET// Dt. Tierarztl. Wschr. 1990 – V. 97. – №9. P. 346-348.
195. Gregory K.E., Echternkamp S.E., Discerson G.E. et. al. Twinning in cattle: 1. Foundation animals and genetic and environmental effects on twinning rate./ J. of Anim. Sci., 1990, v. 68., № 7, p. 1867-1876.
196. Hallap T. et.al., // Journal of Andrology 2004. 27 (3).P.166-171.
197. Herrier A., Elsaesser F., Parvizi N., Niemann H. Superovulation of dairy cows with purified FSH supplemented with defined amounts of LH // Theriogenol. – 1991. – V. 35. №3. – P. 633-643.
198. Januskauskas A., Johannisson A., Rodrigues-Martinez H. // Theriogenology. 2003. T. 60. P. 743 -758.
199. Landsverk K., Karlberg K. Ovarialpalpation hos storfe. Diagnosens sikkerheit og praktiske Verdi// Nor Veterinaertidsskr.- 1988. V.100. – N 3. S. 207-212.
200. Lukoseviciute K. Zilinskas H., // Reprod. Dom. Anim. 2005. Vol.40 (2). P. 100-107.
201. Mc Parland S., Kearney F., Rath M., Berry D.P. // Journal of Dairy Science. 2007. 90 (9). P. 4411 – 4419.
202. McCue P.M., Magee C., Gee E. K. Comparison of compounded Deslorelin and hCG for induction of ovulation in mares // J. Equine Vet Sci. 2007. Vol. 27. P.58-61.
203. Morris C.A. Day A.M. Genetic and physiology studies of cows in a twin breeding experiment // J. of Animal Breeding and Genetic. 1990. Vol.107. № 1. P. 2-6.
204. Morris C.A., Foulley J.L. A comparison of genetic data from New Zealand and France on twin calving in cattle // Genetics, Selection, Evolution. 1991. Vol. 23. № 4. P. 349-359.

205. Mulvehill P., Sreenan J.M. Improvement Of Fertility in post-partum beef cows by treatment with PMSG and progestagen. // J. Reprod. Fert. 1997. – Vol. 50. – P. 323-325.
206. Neilen M., Schukken Y.H., Scholl D.I. (e.a.) Twinning in dairy cattle: a study of risk factors and effects // Theriogenology, 1989. 32. 5 p. 845-862.
207. Neumann C., Neumann K., Stolzenburg Jrs., Zelfel P. Aufzuchtergebnis und Verkaufserlose aus Zwillingsgeburten // Tierzucht. – 1988/ - V. 2. -№ 8. – P. 383-386.
208. Pancarci S., Jordan E., Risco C. et.al., Use of estradiol cypionate in a presynchronized timed artificial insemination program for lactating dairy cattle// J.Dairy Sci.- 2002.-V. 85. H. 122-131.
209. Peres K.R., Fernandes C.B., Siqueira-Pyle E.S.C. et al. Ovarian response of mares in transitional phase treated with equine FSH// Proc. 6th internal Symp. on Equine embryo transfer// Havemeyer Foundation Monograph Series.2005.№ 14.p.77-79.
210. Pugh P.A., Thompson J.G., McGowan L.T., McMillan W.H., Tervit H.R. In vitro production of cattle embryos: Use in beef twinning programmes // Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 1994. 54. p. 351-352.
211. Renard J.P., Heyman Y., du Mesnil Du Buisson F. Unilateral and bilateral cervical transfer of bovine embryos at the blastocyst stage // Theriogenology. – 1977. – Vol. 7. – P. 189-194.
212. Riha J. a kol. Nechirurgicky prenos embry inseminovanim prijemkynim pri produkci dvojcat u skotu./ Zivos. vyroba, 1986 31, № 2, 107-116.
213. Sedlakova L. Metabolismus dusiku a energie u vysokobrezich krav s jednim a dvema plody. Zivoc. Vyroba, 30, 1985 (4): 331-339.
214. Sheldon J., Rycroft A., Zhou C. The association of postpartum pyrexia with uterine bacterial infection in dairy cattle. Vet. Rec., 2004, 154^ 289-293.
215. Smeaton D.C., Bown M.D., Clayton J.B., McMillan W.N. Estimated pasture intake and cow output of single and twin calving beef breeding cows // Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 1995. 55. p. 161-164.

216. Smeaton D.C., Bown M.D., Clayton J.B., McMillan W.N. Estimated pasture intake and cow output of single and twin calving beef breeding cows // Proc. N. Z. Soc. Anim. Prod. 1995. 55. p. 161-164.
217. Smith M., Stevenson J. Fate of the dominant follicle, embryonal survival, and pregnancy rates in dairy cattle treated with prostadlandin F2 alpha and prodestins in the absence or presence of a functional corpus luteum// J. Anim. Sci.-1995.-V.-73.- P.3743-3751.
218. Squires E., McCue P.M., Hundson J. Advances in equine superovulation/ Proc. 6th Internal Symposium on Equine embryo transfer// Havemeyer Foundation Monograf Series.2005.№ 14.p.71-74
219. Verberckmoes S. et. //Theriogenology. 2002. T. 58. P. 1027 -1037
220. Warnick W. Early embryonih (EED) posted on AABP-L, 10 December 1999. Mulvehill P., Sreenan J.M. Improvement Of Fertility in post-partum beef cows by treatment with PMSG and progestagen. // J. Reprod. Fert. 1997. – Vol. 50. – P. 323-325.
221. Zuge R.M. et al. Correlation between bovine sperm membrane integrity and mitochondrial activity in Bos Taurus bulls. Proceedings of 16th international Congress on Animal Reproduction, July 13-17 2008. – Budapest, 3. P. 172 (abstract).

Приложение 1
Утверждаю:
Директор племхоза «Осетия»
_____ Хапсаев И.М.
« 2 » мая 2011 год

Производственная апробация результатов
НИР по теме: «Сравнительная оценка
гормональной индукции полиовуляции
коров-доноров черно-пестрой породы».

Акт

Мы нижеподписавшиеся комиссия в составе проректора по научной работе Горского государственного аграрного университета профессора Кудзаева А.Б. профессора Мамукаева М.Н. (руководитель темы), профессора Хилькевича С.Н., ведущего специалиста научно-исследовательского центра по животноводству национальной академии наук Республики Беларусь Воробьева Д.Н., аспиранта кафедры инфекционных и инвазионных болезней Горского ГАУ Хетагуровой Б.Т., при участии главного зоотехника племхоза «Осетия» Албегова Т.К., заведующего МПФ племхоза «Осетия» Езеева П.Е., зоотехника-селекционера Галазовой О.У. проведена научно-исследовательская работа по разработке метода гормонального вызывания множественной овуляции у коров-доноров на основе изучения динамики фолликулогенеза и его регуляции с целью изучения эффективности гормональной регуляции роста фолликулов в яичниках коров-доноров перед вызыванием суперовуляции и получения максимального количества высококачественных эмбрионов с целью дальнейшего использования в технологии эмбриотрансплантации.

Для изучения эффективности получения эмбрионов у коров-доноров методом суперовуляции был проведен сравнительный анализ использования гипофизарных препаратов с различным соотношением ФСГ и ЛГ: фоллтропина (Канада) и ФСГ-супер (Российская Федерация). В качестве доноров использовались клинически здоровые первотелки и половозрастные коровы черно-пестрой породы в возрасте 3-8 лет, (живой массой 500-560 кг, с удоем по наивысшей стандартной лактации 50,-5,2 тыс. кг молока, жирностью 3,6%). Гормональные обработки доноров (по 10 голов – фоллтропином и ФСГ-супер) проводили, начиная с 10-11 дня естественного или синхронизированного синтетическим аналогом простагландина $F_2\alpha$ –(эстрофан, Чехия) полового цикла при наличии в яичниках хорошо выраженного желтого тела, по классической четырехдневной схеме (табл. 1.). Непосредственно перед введением

индивидуальные дозы препаратов (400 мг для фоллтропина и 1000 ИЕ для ФСГ-супер) растворяли соответственно в 20 мл физиологического раствора и 10 мл среды Дюльбекко. Одновременно с 5 и 6-ой инъекциями гонадотропинов вводили простагландин F_{2α} в дозах 500 и 250 мкг соответственно.

Таблица 1 Схема гормональной обработки и подготовки коров-доноров

День полового цикла	Фоллтропин (400 мг)		ФСГ-супер (1000 ИЕ)	
	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.
0-й	Половая охота у донора		Половая охота у донора	
10-11-й	70 мг	70 мг	160 ИЕ	160 ИЕ
11-12-й	60 мг	60 мг	140 ИЕ	140 ИЕ
12-13-й	40 мг эстрофан 500 мкг	40 мг эстрофан 250 мкг	120 ИЕ эстрофан 500 мкг	120 ИЕ эстрофан 250 мкг
13-14-й	30 мг	30 мг	80 ИЕ	80 ИЕ
14-15-й или 0-й день цикла (охота)	-	Осеменение	-	Осеменение
1-й день цикла	Осеменение	-	Осеменение	-
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов			

Искусственное осеменение доноров осуществляли при выраженности половой охоты замороженно-оттаянной спермой ректоцервикальным способом дважды с интервалом 10-12 часов, используя двойную дозу спермы (~30 млн. спермиев) с оценкой активности не ниже 4 баллов. Использовалась сперма быков-производителей в соответствии с селекционной программой подбора породных групп.

Перед извлечением эмбрионов (на 7-ой день после первого осеменения) у коров-доноров ректальным методом определяли наличие и количество желтых тел и неовулировавших фолликулов на яичниках. Нехирургическое извлечение эмбрионов у суперовулировавших доноров проводили с помощью закрытой системы трубок согласно методическим рекомендациям ВИЖ. В качестве жидкости для извлечения эмбрионов использовали среду Дюльбекко с добавлением фетальной сыворотки (10 мл/л) или бычьего сывороточного альбумина (0,05г/л) и антибиотиков (ампициллин, 100 ИЕ/мл и гентамицин, 12 мкг/мл).

На извлечение эмбрионов из рогов матки донора затрачивали 800-900мл среды. После проведения процедуры извлечения эмбрионов в полость матки коров-доноров вводили смесь антибиотиков (ампициллин, 500 тыс. ЕД + гентамицин, 20 мг) в 30-50 мл среды Дюльбекко, а внутримышечно – 500 мкг простагландина F_{2α}.

По результатам вызывания суперовуляции и извлечения эмбрионов установили число реагирующих на введение гонадотропинов и положительных по извлечению коров в каждой из групп, рассчитали реакцию суперовуляции и выход пригодных и непригодных зародышей, оплодотворяемость яйцеклеток и вариабельность числа овуляций.

Исследования показали (табл. 2.), что коровы-первотелки частично снижают показатели суперовуляции и существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата, коровы после обработок фоллтропином в 80-90% случаев, ФСГ-супер реагировали суперовуляцией в 90 и 100% случаев, а реакция суперовуляции в среднем составила 9,3 и 12,7% желтых тел. Характерной особенностью введения ФСГ-супер коровам-донорам было отсутствие неовулировавших фолликулов к 7 дню после осеменения. После введения фоллтропина количество их достигло в среднем 0,3-0,1 на донора. Введение ФСГ-супер позволило получить более стабильные результаты суперовуляторного ответа по сравнению с фоллтропином.

Таблица 2 Показатели суперовуляции коров-доноров черно-пестрой породы коров-доноров

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер	
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Положительных по суперовуляции: n. %	8	9	9	10
	80	90	90	100
Реакция суперовуляции желтых тел, n.	10,1±0,10	11,2±0,05	9,3±0,08	12,7±0,06
Неовулировавших фолликулов: n	0,3±0,02	0,1±0,01	-	-
Извлечено эмбрионов: всего ,n	9,11±	9,41±	9,38±0,7	9,64±1,1
в том числе пригодных, n	7,16±1,0	7,24±0,8	7,26±0,9	7,44±
Непригодных, n	2,11±0,	2,17±	2,32±	2,20±
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии, n	0,7±	0,7±	0,9±	0,9±0,02
неоплодотворенных, n	1,41±	1,47±	1,42±	1,30
Оплодотворяемость, %	84,52	84,38	84,86	86,51
Выход пригодных эмбрионов, n %	56	65	65	74
	70,00	72,22	72,60	74,00

По выходу пригодных эмбрионов у первотелок лучшие результаты установлены после инъекций ФСГ-супер – в среднем на 77,4% (7,26 из 9,38), в то время как при введении фоллтропина этот показатель составил 76,8%

(7,16 из 9,11). При обработке фоллтропином, по сравнению с ФСГ-супер, получено на 0,34% меньше неоплодотворенных яйцеклеток ввиду более высокого уровня оплодотворяемости как у первотелок (84,86 против 84,52%) так и в группе половозрелых коров-доноров более высокий показатель оплодотворяемости эмбрионов, был получен после введения ФСГ-супер 1,65% (86,51 против 84,86%) (табл. 3.).

Таблица 3 Характеристика эмбрионов коров-доноров черно-пестрой породы

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер	
	первотелки	половозрелые	первотелки	половозрелые
Стадии развития пригодных эмбрионов				
Морула поздняя: n	30	35	36	43
%	53,57	53,85	55,38	58,11
Бластоциста ранняя: n	20	23	24	27
%	35,71	35,38	36,92	36,49
Бластоциста поздняя: n	6	7	5	4
%	10,71	10,80	7,69	5,40
Всего:	56,	65	65	74
Качественная характеристика эмбрионов				
Отличные: n	33	39	38	45
%	58,93	60,00	58,46	60,81
Хорошие: n	18	22	25	26
%	32,14	33,85	38,46	35,14
Удовлетворительные:	5	4	2	3
n				
%	8,93	6,15	3,08	4,05
Всего эмбрионов: n	56	65	65	74
%	70,00	72,22	2,60	74,00

Морфологической оценкой эмбриопродукции коров-доноров установлено, что независимо от применяемых гонадотропинов признанные пригодными эмбрионы были представлены поздними морулами которые составили 53,57-53,85% (фоллтропин) и 55,38-58,11% (ФСГ-супер) и ранними бластоцистами, на долю которых от общего количества эмбрионов в группах приходилось от 35,71 до 35,38% (фоллтропин) и от 36,92 до 36,49% (ФСГ-супер). Обратная закономерность установлена по эмбрионам в стадии развития поздней бластоцисты, что характерно периоду их извлечения (7-ые сутки после осеменения). Поздняя, которых было больше относительно стадий морулы поздней и бластоцисты ранней и составили 10,71-10,80 % при применении фоллтропина и 7,69-5,40% в группе коров-доноров, которых обрабатывали ФСГ-супер.

По качественному составу эмбрионов между группами существенных различий не наблюдалось по показателям эмбрионов отличного и хорошего качества, которые в группе первотелок составили при применении

фоллтропина и ФСГ-супер 89,28% и 92,30% у полновозрастных коров-доноров соответственно 89,23% и 94,60%.

Эмбрионы удовлетворительного качества колебались в группе применения фоллтропина в пределах 6,15-8,93%, ФСГ-супер - 3,08-4,05%. У доноров обеих групп наблюдалась высокая вариабельность выхода качественных эмбрионов, которая обусловлена индивидуальными особенностями животных к индуцированию суперовуляции.

Показатели экономической эффективности производства эмбрионов приведены в таблице 4, установлено, что себестоимость одного качественного эмбриона составила у коров-доноров при применении ФСГ-супер у первотелок 47,14 руб., полновозрастных 46,20 руб., в среднем 46,67 руб., фоллтропином 57,50 руб. и 55,97 руб., в среднем 38,74руб. соответственно.

Стоимость эмбрионов при применении гормонального препарата ФСГ-супер была ниже в среднем на 21,58%, стоимость эмбрионов от полновозрастных коров-доноров по сравнению с первотелками на 2,41%.

Исследования показали, что при применении гонадотропина ФСГ-супер по сравнению с эффективностью вызывания суперовуляции фоллтропином из расчета на одного донора получено качественных эмбрионов больше на 14,88% при снижении общих затрат в расчете на одного донора в среднем 62,19 руб., (18,23%).

Таблица 4. Показатели экономической эффективности производства эмбрионов у коров-доноров черно-пестрой породы

Показатели	Гормональный препарат			
	ФСГ-супер		Фоллтропин	
	первотелки	полновозр	первотелки	полновозр
1	2	3	4	5
Положительных по суперовуляции, n	9	10	8	9
Реакция желтых тел, n	9,3±0,5	12,7±0,07	10,1±0,11	11,2±0,9
Неовулировавших фолликулов, n	0,0	0,0	0,3±0,02	0,1±0,01
Извлечено эмбрионов всего: n	84	96	73	85
на донора, n	9,38±0,62	9,64±0,51	9,11±0,11	9,41±0,48
в т.ч.: пригодных: n	7,36±0,27	7,44±0,12	7,08±0,15	7,24±0,18
%	77,40	77,18	77,72	76,24
непригодных к использованию: n	2,32±0,09	2,20±0,07	2,11±0,04	2,17±0,05
в т.ч. дегенерированных, отставших в развитии неоплодотворенных, n	0,9±0,01	0,9±0,02	0,7±0,04	0,7±0,05
неоплодотворенных, n	1,42±0,04	1,30±0,08	1,41±0,06	1,47±0,09
Оплодотворяемость, %	84,86	86,51	84,52	84,38
Получено качественных эмбрионов, всего, n	65	74	56	65
Затраты на вызывание	996	996	1082	1082

суперовуляции и искусственное осеменение, руб.				
Затраты на извлечение, поиск и оценку эмбрионов у одного суперовулировавшего донора, руб.	684	684	684	684
Прочие затраты, руб.	1384	1739	1454	1872
Итого затрат всего, руб. на 1 донора, руб.	3064	3419	3220	3638
	340,44	341,90	402,50	404,22
Себестоимость одного качественного эмбриона, руб.	47,14	46,20	57,50	55,97

Таким образом, результаты производственной апробации технологии производства эмбрионов в условиях племхоза «Осетия» подтвердили показатели научно-исследовательских работ по разработке технологии производства высококачественных эмбрионов для трансплантации.

Подписи:

Проректор НР
Профессор
Профессор Руководитель темы
Ведущий специалист
Н Ц по
животноводству национальной
академии наук Республики Беларусь
Аспирантка
Зав.МПФ племхоза «Осетия»
Главный зоотехник
Зоотехник-селекционер

Кудзаева А.Б
Хилькевич С.Н.
Мамукаев М.Н.

Воробьев Д.Н.
Хетагурова Б.Т.
Езеев П.Е.
Албегов Т.К.
Галазова О.У.

Приложение 2
Утверждаю:
Директор ООО «Ираф-Агро»
_____ Гетоев Р.Г.
« 12 » мая 2013 год

Производственная апробация результатов
НИР по теме: «Сравнительная оценка
гормональной индукции полиовуляции
коров-доноров айрширской породы».

Акт

Мы нижеподписавшиеся комиссия, в составе проректора по научной работе Горского государственного аграрного университета профессора Кудзаева А.Б. профессора Мамукаева М.Н., (руководитель темы), профессора Хилькевича С.Н., ведущего специалиста научно-исследовательского центра по животноводству национальной академии наук Республики Беларусь Воробьева Д.Н., аспиранта кафедры инфекционных и инвазионных болезней Горского ГАУ Хетагуровой Б.Т., при участии главного ветеринарного врача ООО «Ираф-Агро» Гетоева И.М., главного зоотехника-селекционера Дедегкаевой Д.Г., техника-осеменатора Ереминой Л.М. проведена научно-исследовательская работа по разработке технологии производства эмбрионов методом гормонального вызывания множественной овуляции у коров-доноров на основе изучения динамики фолликулогенеза ультразвуковыми исследованиями и его регуляции с целью изучения эффективности гормональной регуляции роста фолликулов в яичниках коров-доноров перед вызыванием суперовуляции и получения максимального количества высококачественных эмбрионов с целью дальнейшего использования в технологии трансплантации эмбрионов.

В целях изучения эффективности производство эмбрионов у коров-доноров методом суперовуляции был проведен сравнительный анализ использования гипофизарных препаратов с различным соотношением ФСГ и ЛГ: фоллтропина (Канада) и ФСГ-супер (Российская Федерация). В качестве доноров использовались клинически здоровые первотелки и половозрелые коровы айрширской породы в возрасте 5-8 лет, (живой массой 500-560 кг, с удоем по наивысшей стандартной лактации 5,0-5,2 тыс. кг молока, жирностью более 3,6%). Гормональные обработки доноров (по 10 голов – фоллтропином и ФСГ-супер) проводили, начиная с 10-11 дня естественного или синхронизированного синтетическим аналогом простагландина $F_2\alpha$ –(эстрофан, Чехия) полового цикла при наличии в

яичниках хорошо выраженного желтого тела, по классической четырехдневной схеме (табл. 1).

Перед введением индивидуальные дозы препаратов (400 мг для фоллтропина и 1000 ИЕ для ФСГ-супер) растворяли соответственно в 20 мл физиологического раствора и 10 мл среды Дюльбекко. Одновременно с 5 и 6-ой инъекциями гонадотропинов вводили простагландин F_{2α} в дозах 500 и 250 мкг соответственно.

Таблица 1 Схема гормональной обработки и подготовки коров-доноров

День полового цикла	фоллтропин (400 мг)		ФСГ-супер (1000 ИЕ)	
	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.	8 ⁰⁰ ч.	20 ⁰⁰ ч.
0-й	Половая охота у донора		Половая охота у донора	
10-11-й	70 мг	70 мг	160 ИЕ	160 ИЕ
11-12-й	60 мг	60 мг	140 ИЕ	140 ИЕ
12-13-й	40 мг эстрофан 500 мкг	40 мг эстрофан 250 мкг	120 ИЕ эстрофан 500 мкг	120 ИЕ эстрофан 250 мкг
13-14-й	30 мг	30 мг	80 ИЕ	80 ИЕ
14-15-й или 0-й день цикла (охота)	-	Осеменение	-	Осеменение
1-й день цикла	Осеменение	-	Осеменение	-
7-й день цикла	Извлечение эмбрионов			

Искусственное осеменение коров-доноров осуществляли при выраженности половой охоты заморожено-оттаянной спермой ректоцервикальным способом дважды с интервалом 10-12 часов, используя двойную дозу спермы (~30 млн. спермиев) с оценкой активности не ниже 4 баллов. Использовалась сперма быков-производителей в соответствии с селекционной программой подбора породных групп.

На 7-ой день после первого осеменения у коров-доноров перед извлечением эмбрионов ультразвуковыми исследованиями Scanner 200 PИE определяли наличие и количество желтых тел и неовулировавших фолликулов на яичниках. Нехирургическое извлечение эмбрионов у суперовулировавших доноров проводили с помощью закрытой системы трубок согласно методическим рекомендациям ВИЖ. В качестве жидкости для извлечения эмбрионов использовали среду Дюльбекко с добавлением бычьего сывороточного альбумина (0,05г/л) и антибиотиков (ампициллин, 100 ИЕ/мл и гентамицин, 12 мкг/мл).

При извлечении эмбрионов из рогов матки донора затрачивали 800-900мл среды. После проведения процедуры извлечения эмбрионов в полость матки коров-доноров вводили смесь антибиотиков (ампициллин, 500 тыс. ЕД + гентамицин, 20 мг) в 30-50 мл среды Дюльбекко, а внутримышечно – 500 мкг простагландина F_{2α}.

По результатам вызывания суперовуляции и извлечения эмбрионов посредством микровизора «mVizo-101» при 56 кратном увеличении установили число реагирующих на введение гонадотропинов и положительных по извлечению коров в каждой из групп, рассчитали реакцию суперовуляции и выход пригодных и непригодных зародышей, оплодотворяемость яйцеклеток и вариабельность числа овуляций и качественные показатели эмбрионов.

Исследования показали (табл. 2), что коровы-первотелки частично снижают показатели суперовуляции и существует зависимость эмбриопродуктивности от применяемого гонадотропного препарата. Айрширские коровы после обработок фоллтропином в 80-100% случаев, ФСГ-супер реагировали суперовуляцией в 90% и 100% случаев, а реакция суперовуляции в среднем составила 7,5-7,6 и 8,4-8,8 желтых тел. Характерной особенностью введения ФСГ-супер коровам-донорам было отсутствие неовулировавших фолликулов к 7 дню после осеменения. После введения фоллтропина количество их достигло в среднем 0,4-0,1 на донора. Введение ФСГ-супер позволило получить более стабильные результаты суперовуляторного ответа (9,33-9,74 гол.) по сравнению с фоллтропином (7,5-7,6 гол.).

Таблица 2 Показатели суперовуляции коров-доноров айрширской породы

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер	
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
Положительных по суперовуляции: гол. %	8	10	9	9
	80	100	90	90
Реакция суперовуляции желтых тел: гол.	7,6±0,09	7,5±0,10	8,4±0,11*	8,8±0,08*
Неовулировавших фолликулов, гол.	0,01±0,01	0,4±0,03	-	-
Извлечено эмбрионов всего: ,п	8,71±	8,90±	9,33±	9,74±
в том числе: пригодных, п	6,26	6,52	7,19	7,52±
непригодных, п	2,45±0,03	2,38±0,08	2,14±0,07	2,32±0,7
в том числе: дегенерированных, отставших в развитии, п	1,1±0,01	1,2±0,02	0,87±0,04	1,03±0,05
неоплодотворенных, п	1,35±	1,78±	1,27±	1,19
Оплодотворяемость, %	84,50	80,00	86,39	87,78
Выход пригодных эмбрионов,п %	50	65	65	68
	71,87	73,26	77,06	77,21

По выходу пригодных эмбрионов у первотелок лучшие результаты установлены после инъекций ФСГ-супер – в среднем на 77,1% (7,26 из 9,33), в то время как при введении фоллтропина этот показатель составил 77,06% (7,19 из 9,74). При обработке фоллтропином по сравнению с ФСГ-супер, получено меньше неоплодотворенных яйцеклеток ввиду более высокого

уровня оплодотворяемости как у первотелок 1,89% (86,39 против 84,50%) так и у половозрелых коров-доноров 7,78% (87,78 против 80,00%), в группе половозрелых коров-доноров более высокий показатель оплодотворяемости эмбрионов, был получен после введения ФСГ-супер (1,75%) (табл. 3).

Таблица 3 Характеристика эмбрионов коров-доноров айрширской породы

Показатели	Фоллтропин		ФСГ-супер	
	первотелки	половозрелые	первотелки	половозрелые
Стадии развития пригодных эмбрионов				
Морула поздняя: n	26	34	33	37
%	52,00	52,31	50,77	54,41
Бластоциста ранняя: n	17	22	23	24
%	34,00	33,85	35,38	35,29
Бластоциста поздняя: n	7	9	9	7
%	14,00	13,84	13,84	10,29
Всего:	50	65	65	68
Качественная характеристика эмбрионов				
Отличные: n	28	38	39	41
%	56,00	58,46	60,00	60,29
Хорошие: n	17	22	21	23
%	34,00	33,85	32,31	33,82
Удовлетворительные: n	5	5	5	4
%	10,00	7,69	7,69	5,89
Всего эмбрионов: n	50	65	65	68
%	71,87	73,26	77,06	77,21

Морфологической оценкой эмбриопродукции коров-доноров установлено, что независимо от применяемых гонадотропинов, признанные пригодными эмбрионы были представлены поздними морулами которые составили 52,00-52,31% (фоллтропин) и 50,77-54,11% (ФСГ-супер) и ранними бластоцистами, на долю которых от общего количества эмбрионов в группах приходилось от 34,00 до 33,85% (фоллтропин) и от 35,38 до 35,29% (ФСГ-супер).

Обратная закономерность установлена по эмбрионам в стадии развития бластоцисты ранней, что характерно периоду их извлечения (7-ые сутки после осеменения), которых было больше относительно стадий поздней бластоцисты на 10,00-7,69% при применении фоллтропина и 7,69-5,40% в группе коров-доноров, обработанных ФСГ-супер.

Исследованиями качественного состава эмбрионов установлено, что в основном эмбрионы соответствовали требованиям отличного качества и наиболее высокие показатели были среди доноров-первотелок, обработанных ФСГ-супер (58,46- 60,29%), чем у коров-доноров, обработанных фоллтропином (56,00-60,00%). Менее существенны были различия в группах

коров-доноров показатели эмбрионов хорошего качества, которые колебались в пределах 32,31-34,00%. Различия эмбрионов удовлетворительного качества были в группе коров-доноров, обработанных фоллтропином и составили у первотелок 2,31%, у полновозрастных 1,80% в пользу коров-доноров после обработки гонадотропином ФСГ-супер.

Производственная апробация результатов научно-исследовательской работы (табл. 4) установили существенные различия себестоимости качественных эмбрионов у коров-доноров, как при применении фоллтропина, так и ФСГ-супер. При воздействии гонадотропином ФСГ-супер у первотелок стоимость одного качественного эмбриона составила 49,28 руб., полновозрастных доноров 48,14 руб., а средняя стоимость по группе - 48,71 руб. Аналогичные показатели при применении фоллтропина для гормональной стимуляции составили 60,07 руб., и 55,28 руб., при средней себестоимости 57,67 руб. Более высокая стоимость эмбрионов в группе применения фоллтропина составила 18,39%, (55,96 против 48,71 руб.).

Таблица 4 Показатели экономической эффективности производства эмбрионов у коров-доноров айрширской породы, n=10

Показатели	Гормональный препарат			
	ФСГ-супер		Фоллтропин	
	первотелки	полновозр.	первотелки	полновозр.
1	2	3	4	5
Положительных по суперовуляции: гол	9	9	9	10
	90	90	90	100
Реакция желтых тел, n	8,4±0,3	8,8±0,05	7,6±0,08	7,5±0,6
Неовулировавших фолликулов, n	0,0	0,0	0,4±0,02	1,1±0,02
Извлечено эмбрионов: всего, n	70	88	78	89
	на донора, n	9,33±0,4	9,74±0,31	8,71±0,21
в т.ч. пригодных: n	7,19±0,47	7,52±0,36	6,44±0,36	6,52±0,28
	%	77,06	77,21	71,87
непригодных к использованию: n	2,14±0,09	2,22±0,07	2,27±0,03	2,38±0,06
	0,87±0,01	1,03±0,05	0,96±0,02	1,21±0,02
	в т.ч. дегенерированных, отставших в развитии неоплодотворенных, n	1,27±0,07	1,19±0,03	1,35±0,08
Оплодотворяемость, %	86,39	87,78	84,50	80,00
Получено качественных эмбрионов: всего, n	65	68	58	65
	%	72,22	77,00	73,94
Затраты на вызывание суперовуляции и искусственное осеменение, руб.	996	996	1082	1082

1	2	3	4	5
Затраты на извлечение, поиск и оценку эмбрионов у одного суперовулировавшего донора, руб.	684	684	684	684
Прочие затраты, руб.	1523	1593	11856	1726
Итого затрат: всего, руб.	3203	3273	3498	3592
на 1 донора, руб.	355,89	363,67	378,11	359,19
Себестоимость одного качественного эмбриона, руб.	49,28	48,14	60,31	55,26

Различия стоимости эмбрионов от первотелок и полновозрастных коров-доноров в группе применения фоллтропина составили 8,70% и 2,36% при воздействии ФСГ-супер в пользу полновозрастных коров-доноров. Общие затраты на одного донора составили при применении ФСГ-супер 359,78руб, у коров-доноров при применении фоллтропина затраты для обработке одного донора были больше на 13,38 руб. или на 3,72 раз.

В итоге при применении гонадотропина ФСГ-супер по сравнению с показателями суперовуляции фоллтропином у первотелок и полновозрастных коров-доноров из расчета на одного донора получено качественных эмбрионов больше на 8,13% при снижении общих затрат на 13,38 рублей.

Таким образом, результаты производственной апробации технологии производства эмбрионов в условиях ООО «Ираф-Агро» подтвердили показатели научно-исследовательских работ по разработке технологии производства высококачественных эмбрионов для трансплантации.

Подписи:

Проректор НР
 Профессор
 Профессор, руководитель темы
 Ведущий специалист Н Ц по
 животноводству национальной
 академии наук Республики Беларусь
 Аспирантка
 Зав. ООО«Ираф-Агро»
 Техник осеменатор
 Зоотехник-селекционер

Кудзаева А.Б
 Хилькевич С.Н.
 Мамукаев М.Н.

Воробьев Д.Н.
 Хетагурова Б.Т.
 Гетоев Р.Г.
 Еремина Л.М.
 Дедегкаева Л.М.