Эффективность пересадки эмбрионов у телок-реципиентов с высоким адаптивным потенциалом

Efficacy of embryo transfer in recipient heifers with the high adaptive capacities

Макаров А.В.

г. Красноярск

DOI 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2018-4-8

УДК : 619:618.177-089.888.11

Ключевые слова: реципиент, трансплантация, эструс, эмбрион, приживляемость, стельность.

Key words: recipient, transplantation, estrus, embryo, engraftment, pregnancy.

Резюме. Проведены исследования по определению влияния клинико-физиологических проявлений эструса у телок-реципиентов на приживляемость замороженно-оттаянных эмбрионов при нехирургическом методе пересадки эмбрионов крупного рогатого скота. В процессе исследования всех животных разделили на три группы в зависимости от индекса клинико-физиологических проявлений эструса (КФПЭ) с учетом показателей качества желтого тела на седьмой день полового цикла телки-реципиента. В результате исследований установлено, что возможно достижение 68% приживляемости эмбрионов за счет отбора телок-реципиентов с учетом показателей качества желтого тела (КЖТ) и клинико-физиологических проявлений эструса (индекс КФПЭ).

Summary. Research on influence of clinical and physiological signs of recipient heifers estrus on engraftment of frozen-thawed bovine embryos under nonsurgical transplantation has been carried out. During research steps all animal have been divided in three groups depending on the index of estrus clinical-medical signs (ECMS) with regard to quality of corpus luteum on the seventh day of the estrous cycle. According to research results it is possible to obtain 68% of embryos engraftment by selecting recipient heifers with regard to corpus luteum quality (CLQ) and clinical-medical signs of estrus (ECMS index).

Широко применяемая в репродукции сельскохозяйственных животных технология трансплантации эмбрионов (далее - ТТЭ), востребованность в которой постоянно растет в пределах как одной страны, так и в мировом масштабе, позволила достичь значительных успехов в преодолении низкой плодovitости крупного рогатого скота, при естественном размножении которого корова рождает одного

теленка в год, а в течение всей жизни – в среднем от 8 до 10 телят. Применение технологии трансплантации эмбрионов методами *in vivo* и *in vitro* позволяет от одной коровы-донора получать до 80–140 эмбрионов в год, при пересадке которых у телок-реципиентов рождаются 40–70 телят [1]. Ежегодно в мире проводится более одного миллиона пересадок эмбрионов, полученных от высокопродуктивных генетически ценных коров [6; 11]. Успешное применение технологии трансплантации эмбрионов с использованием нехирургического метода пересадки зародышей открыло огромные возможности в достаточно короткие сроки увеличивать численность поголовья крупного рогатого скота молочно- и мясного направлений продуктивности, интенсивно проводить селекционный процесс в ряде поколений, эффективно сохранять генофонд ценных пород, обмениваться генетическим материалом в виде эмбрионов [3; 4; 7; 8; 10; 12; 13].

Однако, несмотря на отлаженность технологических этапов ТТЭ, имеющей достаточно длительную историю применения и поставленной на промышленный поток в сельскохозяйственном производстве многих стран мира, результативность данной технологии не всегда положительно стабильна. Из производственной практики известно, что приживляемость пересаженных замороженно-оттаянных эмбрионов на сегодняшний день колеблется в пределах 40–50% [2]. Довольно редко встречаются данные о том, что приживляемость эмбрионов достигает 60–70% [5].

Результативность приживляемости эмбрионов зависит от таких факторов, как качество трансплантируемых эмбрионов, генетическая совместимость зародыша с реципиентом, физиологическое состояние реципиента и синхронность стадии развития эмбриона с половым циклом реципиента [9]. Как правило, животное, отобранное в качестве реципиента, оценивают на 7-й день его полового цикла, т.е. в день пересадки эмбриона, только по морфометрическим показателям, характеризующим качество желтого тела (методами ректопальпаторного исследования или эхографической визуализации). Однако оценки качества желтого тела на 7-й день полового цикла реципиента, как показывает достигнутый в мире порог эффективности приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота, недостаточно для реализации технологических возможностей эмбриотрансфера. В связи с этим, нами было проведено исследование влияния показателей клинико-физиологических проявлений эструса у телок-реципиентов на результативность приживляемости замороженно-оттаянных эмбрионов крупного рогатого скота.

Материалы и методы

Практические и научные исследования проводили в ОАО "Красноярскагроплем" на базе отдела по воспроизводству и в ФГБНУ "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивной биотехнологии" на базе отдела экспериментальной трансплантологии. Работы проведены на поголовье крупного рогатого скота в условиях ООО "Ирина" село Майское утро, Идринский район, Красноярский край, с участием специалистов хозяйства.

В качестве телок-реципиентов (n=100) отбирали клинически здоровых животных породы герефорд местной селекции, обладающей высоким адаптивным потенциалом, выражающимся в неприхотливости к кормам, к климатическим условиям и перепадам температур, устойчивостью к инфекционным и гинекологическим заболеваниям. Телок

Авторы / Authors

¹Макаров А.В., кандидат биологических наук, заместитель начальника отдела по воспроизводству, info-ceerb@mail.ru

²Бригида А.В., заведующий отделом экспериментальной трансплантологии

³Сорокин В.И., кандидат биологических наук, доцент

²Скачкова О.А., заведующий научно-организационным отделом

²Ковальчук С.Н., кандидат биологических наук, директор

¹ОАО "Красноярскагроплем", г. Красноярск

²ФГБНУ "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий", г. Москва

³ФГБОУ ВО "Оренбургский государственный аграрный университет", Оренбург

Makarov A.V., Brigida A.V., Sorokin V.I., Skachkova O.A., Kovalchuk S. N.

Таблица 1. Показатели балльной системы оценки клинико-физиологических проявлений признаков эструса у телок-реципиентов

Показатели клинико-физиологических проявлений	Баллы	Наличие признака	
		Да	Нет
Рефлекс неподвижности	30	+	-
Набухание вульвы	10	+	-
Гиперемия слизистой	10	+	-
Наличие слизи (течка)	15	+	-
Попытки садки	20	+	-
Постовульторные кровяные выделения	15	+	-

отбирали в возрасте 16–20 мес., с живой массой 340–400 кг, с крепкой конституцией и заводской упитанностью, с нормальным состоянием матки и яичников, установленным по результату ректогенитального обследования. Все животные прошли обследование на инфекционные заболевания (бруцеллез, туберкулез, вирусные респираторные заболевания, лейкоз, трихомоноз, вибриоз, ящур и др.).

У отобранных телок-реципиентов проводили синхронизацию половых циклов препаратами аналогами ГнРг 5–10 мл в/м и РgF2α по клопростенолу в дозе 500 мкг на голову внутримышечно. Через 48 – 72 ч. индивидуально у каждой телки-реципиента фиксировали клинико-физиологические признаки половой охоты (эструса) и присваивали соответствующие баллы согласно показателям, представленным в таблице 1. По совокупности присвоенных баллов определяли индекс клинико-физиологических проявлений эструса (КФПЭ). Приход животного в эструс считали нулевым днем полового цикла.

Все телки-реципиенты (n=100) были разделены на три группы согласно индексу КФПЭ. В группу I (n=18) вошли животные, получившие 100 баллов, то есть, проявив все вышеперечисленные признаки. В группу II (n=64) вошли животные, получившие 85 баллов, проявив все признаки половой охоты, кроме постовульторных кровяных выделений. В группу III (n=18) вошли животные, получившие менее 80 баллов, то есть помимо постовульторных кровяных выделений, отсутствовали и другие признаки, к примеру, набухание вульвы, рефлекс неподвижности с проявлением вялых попыток садок и др.

На седьмой день полового цикла реципиента, непосредственно перед пересадкой эмбрионов, помимо вычисления индекса КФПЭ была проведена оценка качества желтых тел, расположенных на поверхности яичников. При этом, проводили измерение длины желтого тела при помощи эхографической визуализации и фиксировали полученные показатели согласно следующей классификации качества желтого тела (КЖТ): КЖТ-1 ($\leq 1,2$ см); КЖТ-2 (1,2 – 2,0 см); КЖТ-3 ($\geq 2,0$ см).

После осуществления классификации желтых тел на седьмой день полового цикла реципиентам проводили пересадки по одному эмбриону на голову, в рог матки ипсилатерально желтому телу. Процедура трансплантации эмбрионов осуществляли с использованием жесткого шприца-катетера модификации Кассу, изготовленного под стандартные соломинки-пайеты объемом 0,25 или 0,5 мл. Для трансплантаций использовали замороженно-оттаянные семидневные эмбрионы, полученные методом *in vivo*, отличного и хорошего качества на стадии развития морула и бластоциста, страна производитель Канада. Порода донаров эмбрионов – герефорд. Диагностику стельности проводили на 30-й день после проявления признаков половой охоты. Для эхографической визуализации плода использо-

вали УЗИ - сканер "Kaixin - KX5200" с линейным датчиком. В качестве рабочей частоты использовали 7,5 МГц. Все эхографические изображения репродуктивных органов фиксировали в черно-белом цвете.

Результаты и обсуждения исследований

Результаты проведенных исследований представлены в таблице 2. Из представленных в таблице данных видно, что у реципиентов группы I, продемонстрировавших все клинико-физиологические проявления признаков эструса (индекс КФПЭ – 100), из 18 животных стельность была диагностирована только у 4 голов, что составило 22,2%. При этом, у все животных, имеющих стельность, желтые тела были классифицированы как КЖТ-1, а у животных, имеющих желтые тела, классифицированные как КЖТ-2, приживляемость пересаженных эмбрионов отсутствовала.

Полученные результаты в группе II (индекс КФПЭ – 85 баллов) показывают, что при пересадке эмбрионов 64 реципиентам, стельность диагностирована у 38 животных, что составляет 59,4%. При этом, наибольший процент приживляемости эмбрионов в группе II был зафиксирован у животных с желтыми телами, классифицированными как КЖТ-2, и составил – 68,0%, т.е. из 25-ти пересаженных эмбрионов прижились 17 зародышей. Животные группы II с желтыми телами, классифицированными как КЖТ-1, имели схожие процентные показатели приживляемости с животными, имеющими желтые тела, классифицированные как КЖТ-2 (66,7% и 68,0% соответственно). Наименьший результат приживляемости пересаженных эмбрионов был зафиксирован у животных с желтыми телами, классифицированными как КЖТ-3 (42,9%).

В группе III из 18 пересаженных эмбрионов стельность была диагностирована у 5 реципиентов и составила 27,8%. Отмечено, что у животных с желтыми телами, классифицированными как КЖТ-1 и КЖТ-2, результат приживляемости был схожим и составил 30,0% и 28,6% соответственно. У единственного животного группы III, у которого желтое тело было классифицировано как КЖТ-3, развитие пересаженного эмбриона не наблюдалось.

Таким образом, наиболее высокая приживляемость пересаженных эмбрионов отмечена в группе II, где диапазон приживляемости варьировал в пределах от 42,9 до 68,0%. В данной группе в процессе выявления животных с признаками половой охоты были отмечены клинико-физиологические проявления признаков эструса и зафиксированы: рефлекс неподвижности, набухание вульвы, гиперемия слизистой, наличие слизи (течка), попытки садки (индекс КФПЭ – 85 баллов). А в группе I, где были отмечены все клинико-физиологические проявления признаков эструса (индекс КФПЭ – 100 баллов), приживляемость эмбрионов была самой низкой (22,2%). В группе III, где индекс КФПЭ был 80 и менее, результат приживляемости был незначительно выше, чем в группе I и составил 27,8%.

Результаты проведенных исследований показывают, что в практике применения эмбриотрансфера возможно достижение не менее 68% приживляемости замороженно-оттаянных эмбрионов за счет отбора телок-реципиентов с учетом показателей качества желтого тела (КЖТ) и клинико-физиологических проявлений эструса (индекс КФПЭ) при нехирургическом методе пересадки эмбрионов крупного рогатого скота.

Литература

- Воронин, Е.С. Иммунология. /Е.С. Воронина, А.М. Петров, М.М. Серых, Д.А. Девришов. - М.: Колос-Пресс, 2002. - С-340-359.
- Косовский, Г.Ю. Сравнительная оценка результатов трансплан-

Таблица 2 . Результативность приживляемости заморожено-оттаянных эмбрионов крупного рогатого скота в зависимости от клинико-физиологических проявлений эструса у телок-реципиентов

Показатель качества желтого тела на 7-й день полового цикла	Группа I (индекс КФПЭ – 100), (n = 18)		Группа II, (индекс КФПЭ – 85), (n = 64)		Группа III, (индекс КФПЭ – 80 и менее) (n = 18)	
	Пересажено эмбрионов, n	Прижито эмбрионов, n/%	Пересажено эмбрионов, n	Прижито эмбрионов, n/%	Пересажено эмбрионов, n	Прижито эмбрионов, n/%
КЖТ-1	13	4/30,8	18	12/66,7	10	3/30,0
КЖТ-2	5	0/0,0	25	17/68,0	7	2/28,6
КЖТ-3	--	--	21	9/42,9	1	0/0,0
Всего	18	4/22,2	64	38/59,4	18	5/27,8

- тации эмбрионов крупного рогатого скота в зависимости от места их локализации в роге матки реципиента /Г.Ю. Косовский, Д.В. Попов, А.В. Бригида. // Ветеринария Кубани, 2016. - №3. - С. - 9-11.
3. Alberto, M.L.V. Development of bovine embryos derived from reproductive techniques / M.L.V. Alberto, F.V. Meirelles, F. Perecin, et al. // Reproduction fertility and development, 2013. - Vol. 25. № 6. - P. 907-917.
4. Amiridis, G.S. Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants /G.S. Amiridis, S. Cseh// Animal reproduction science., 2013. - Vol. 130. №3-4. -P. 152-161.
5. Kizil, S.H. Transfer of in vivo Embryos Frozen by Direct Transfer Method with Ethylene Glycol in Cattle /S.H. Kizil, N. Akyol, T. Karasahin, et al.// Kafkaz universitesi veteriner facutesidergisi, 2011. -Vol. 17. № 5. - P. 721-724.
6. Mapletoft, R.J. History and perspectives on bovine embryo transfer /R.J. Mapletoft // Animal Reproduction, 2013. . -Vol. 10. № 3. - P. 168-173.
7. Misra, A. Embryo transfer technology (ETT) in cattle and buffalo in India: A review./ A. Misra, S. Pragsad, V. Taneja.// Indian Journal of animals sciences. - 2005. Vol. 75. №7. - P. 842-857.
8. Misra, A.K. In vivo embryo production in buffalo: present and perspectives./ A.K. Misra, S. Tyagi.// Italian Journal of animal science. - 2007. Vol. 6. №1. - P. 74-91.
9. Hasler, J.F. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminisces/ J.F. Hasler, // Theriogenology. - 2014. Vol. 81. №1. - P. 152-169.
10. Purohit, G.N. Reproductive biotechnologies for improvement of buffalo: The current status /G.N. Purohit, G.P. Duggal, D. Dadarwal, et al.// Asian-Australasian Journal of animal sciences. - 2003. Vol. 16. №7. - P. 1071-1086.
11. Thibier, M. Challenges and prospects of the embryo transfer industry a European standpoint / M. Thibier // Thai Journal of veterinary medicine, 2016. -Vol. 46. № 4. - P. 531-539.
12. Urrego, R. Epigenetic disorders and altered gene expression after use of Assisted Reproductive Technologies in domestic cattle /R. Urrego, N. Rodriguez-Osorio, H. Niemann.// Epigenetics. - 2014. - Vol. 9. №6. - P. 803-815.
13. Wu, B. Enhance Beef Cattle improvement by Embryo Biotechnologies /B. Wu, L. Zan.// Reproduction in domestic animals., 2012. - Vol. 47. №5. - P. 865-871.