балла, за последующий час хранения значение показателя снизилось еще на 2,7 балла, а после 3 часов хранения заморожено-оттаянных эякулятов не было выявлено подвижных спермиев.

В 1 опытной группе выявлено снижение подвижности половых клеток после 1 часа хранения на 1,8 балла, после 2 часов − на 1,2 балла, после 3 часов – еще на 2,0 балла, до 1,1. Полная потеря подвижности была установлена спустя 4 часа хранения эякулятов.

Во 2 опытной группе подвижность снизилась после 1 часа хранения на 1,5 балла, а спустя 4 часа хранения составляла 1,0 балл. Переживаемость половых гамет составила 5 часов.

Сравнивая лучший показатель подвижности спермы при использовании различных БАВ прослеживается незначительное его увеличение при использовании лактоферрина совместно с озонированием разбавителя по сравнению с крезацином – на 0,1-0,3 балла на свежеполученной сперме и на 1 час по показателю полноценности при ее криооконсервировании.

Заключение. 1. Озонирование высокоочищенной воды для растворения AndroMed среды в течение 10 минут с последующим внесением в ее состав 1,5 мг лактоферрина позволило получить более высокие результаты спустя 24 часа хранения разбавленных эякулятов по показателю подвижности половых гамет козлов, снижение показателя которого составило 0,8-1,0 балл, в контрольной – 2,4-2,5 балла.

2. Установлено, что двигательная активность заморожено-оттаянных сперматозоидов козлов-производителей при использовании озонированной среды с добавлением 1,5 мг лактоферрина превышает на 1 час опытную группу эякулятов с использованием крезацина, и на 2 часа контроль.

Литература. *1. Шейко, Е. И. Регуляция спермопродукции у хряков простогландином F2α / Е. И. Шейко, Н. М. Решетникова, А. Н. Шлыгин // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. М.М. Заводовского, пос. Дубровицы, 1-2 окт., 1991. – Москва, 1991. – С. 32–33. 2. Гуськов, А. М. Стимуляция воспроизводительной функции животных препаратами стероидной природы / А. М. Гуськов, Г. И. Пузынина // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тез. докл. Всезоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рожд. акад. М.М. Заводовского, пос. Дубровицы, 1-2 окт., 1991. – Москва, 1991. – С. 65–67. 3. Аппараты «Биоптрон» действие и лечебное применение : сб. ст. / под ред. проф. В.С. Улащика. – Минск, 2001. – 144 с.*

УДК 636.2.082.4:636.2.09-026.656

ВЛИЯНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В СОСТАВЕ КРИОЗАЩИТНЫХ РАСТВОРОВ НА СОХРАННОСТЬ ДЕКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КОРОВ-ДОНОРОВ

Будевич А.И., Кирикович Ю.К., Сапсалев С.А., Жданович В.В., Пайтеров С.Н.
РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

Установлено, что применение липидомодулирующих веществ форсколина в сочетании с криофилактиком 1,4М глицерином и L-карнитина в составе 1,5М раствора этиленгликоля способствуют повышению выхода зародышей, сохранивших свое отличное качество, до 55,2% и 65,5%, увеличению показателя пригодных к трансплантации эмбрионов до 95,2%, из которых доля клеток отличного и хорошего качества составила 87,5 и 83,3% соответственно. ***Ключевые слова****: криозащитная среда, зародыши, глицерин, этиленгликоль, диметилсульфоксид, форсколин, L-карнитин, сохранность*

THE EFFECT OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES IN CRYOPROTECTIVE SOLUTIONS ON THE SAFETY OF DE CONSERVED EMBRYOS OF DONOR COWS

Budevich A.I., Kirykovich Y.K., Sapsaliou S.A., Zhdanovich V.V., Paitserau S.N.
RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding», Zhodino, Republic of Belarus

It was found that the use of lipid-modulating substances forskolin in combination with cryophylactic 1.4M glycerin and L-carnitine in a 1.5M ethylene glycol solution contributes to an increase in the yield of embryos that have retained their excellent quality to 55.2% and 65.5%, an increase in the rate of embryos suitable for transplantation to 95.2%, of which the proportion of cells of excellent and good quality was 87.5 and 83.3%, respectively. ***Keywords****: cryoprotective medium, embryos, glycerin, ethylene glycol, dimethyl sulfoxide, forskolin, L-carnitine, preservation*

Введение. Большое количество внутриклеточных цитоплазматических липидных капель служит энергетическим ресурсом, но увеличивает чувствительность ооцитов и зародышей крупного рогатого скота к переохлаждению во время криоконсервации. Одним из способов снижения последствий воздействия охлаждения является дополнительное введение в состав защитных сред различных низкомолекулярных биологически активных соединений, которые, проникая в клетки эмбрионов, способны либо предотвращать развитие негативных метаболических процессов при охлаждении и замораживании, либо стимулировать репаративные процессы в бластомерах после оттаивания. Среди них L-карнитин и форсколин являются потенциальными кандидатами для использования в культуре эмбрионов, так как они продемонстрировали активность, модулирующую липиды, не влияя на развитие эмбрионов и впоследствии улучшая их жизнеспособность после криоконсервации. Добавление в среду для созревания L-карнитина, компонента липидного обмена, снижает уровень липидов в ооцитах свиней, крупного рогатого скота и мышей [1; 2; 3]. Помимо метаболической функции он является мощным антиоксидантом [4], снижающим накопление активных форм кислорода (АФК) и частоты апоптоза в клетках животных [5; 6]. Форсколин – это липолитический агент и мощный активатор аденилатциклазы [7]. Его действие на аденилатциклазу эмбриональных клеток приводит к активации липазы через путь ц-АМФ / протеинкиназы [8; 9] и, следовательно, к потенциальному частичному снижению содержания внутриклеточных липидов в результате стимулированного липолиза. Основная цель липазы - триацилглицерины, которые гидролизуются до жирных кислот и глицерина [10].

Материалы и методы исследований. Исследования проводились в лаборатории воспроизводства, трансплантации эмбрионов и трансгенеза животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» в РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» Смолевичского района Минской области. В процессе замораживания зародыши отличного и хорошего качества насыщались стандартными защитными средами, которые служили контролем: ДМСО – диметилсульфоксид («Sigma», USA), ЭГ – этиленгликоль («IMV Technologies», France) и ГЛ – глицерин («ICPbio Reproduction», USA) и модифицированными (опыт), в состав которых помимо криопротекторов входили липолитические агенты L-карнитин (L-carnitine) и форсколин (forskolin) («Sigma-Aldrich», Germany). Криоконсервирование зародышей проводилось в охлаждающей камере программируемого замораживателя CL-8800i («CryoLogic», Australia). Регенерационная способность деконсервированных эмбрионов оценивалась путем культивирования в термостате MT 35/42 («Minitube», Germany) в среде M-199 в газовой атмосфере, состоящей из 5% CO_2, 5% O_2 и 90% N_2, при температуре 38,5°С в течение 1 часа.

Результаты исследований. В таблице 1 представлены данные эксперимента по сохранности заморожено-оттаянных зародышей коров, криоконсервация которых проводилась с использованием 1,4М глицерина в комплексе с биологически активными веществами L-карнитин и форсколин.

Таблица 1 – Влияние биологически активных веществ в составе криопротектора 1,4М глицерина на качество заморожено-оттаянных зародышей коров

Качество эмбрионов	Контрольная группа		Количество эмбрионов, n/%			
			Опытные группы			
			L-карнитин		Форсколин	
	до заморозки	после оттаивания	До заморозки	после оттаивания	до заморозки	после оттаивания
Всего зародышей	9/100,0	9/100,0	35/100,0	35/100,0	40/100,0	40/100,0
Отличное	6/66,7	3/33,3	24/68,6	13/37,1	29/72,5	16/40,0
Хорошее	3/33,3	4/44,4	11/31,4	13/37,1	11/27,5	19/47,5
Удовлетворительное	0/0,0	1/11,1	0/0,0	6/17,1	0/0,0	3/7,5
Неудовлетворительное	0/0,0	1/11,1	0/0,0	3/8,6	0/0,0	2/5,0
Пригодные к пересадке	9/100,0	8/88,9	35/100,0	32/91,4	40/100,0	38/95,0
Средний балл	4,67±0,17	4,00±0,33	4,69±0,08	4,03±0,16	4,73±0,07	4,23±0,13
Снижение качества после оттаивания, на балл	0,67		0,66		0,5	

Полученные данные свидетельствуют о том, что применение криозащитной среды на основе глицерина в комплексе с делипидирующими агентами L-карнитином и форсколином обеспечивает получение 91,4 и 95,0% пригодных к пересадке качественных зародышей после оттаивания, в то время как использование 1,4М глицерина без добавок привело к получению 88,9% жизнеспособных клеток. В свою очередь в контрольной группе после размораживания долю отличного качества составили 33,3%, хорошего – 44,4%, удовлетворительного и неудовлетворительного – по 11,1% эмбрионов, а в опытной группе с применением L-карнитина сохранили отличное качество 37,1%, хорошее – 37,1%, удовлетворительное – 17,1% и неудовлетворительное – 8,6% клеток; с использованием форсколина, соответственно, 40,0%; 47,5; 7,5 и 5,0% зародышей. Эмбрионы кон-

трольной группы снизили свою жизнеспособность в среднем на 0,67 балла, против 0,66-0,5 балла в опытных группах зародышей.

В таблице 2 отражены результаты исследований по изучению выживаемости эмбрионов генетически ценных животных после их криоконсервации в 1,5 М растворе этиленгликоля в сочетании с делипидирующими агентами L-карнитином и форсколином.

Таблица 2 – Влияние делипидирующих агентов в составе криозащитной среды 1,5М этиленгликоля на морфологический состав дефростированного биоматериала животных

Качество эмбрионов	Контрольная группа		Количество эмбрионов, n/%			
			Опытные группы			
			L-карнитин		Форсколин	
	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	после оттаивания
Всего зародышей	11/100,0	11/100,0	42/100,0	42/100,0	39/100,0	39/100,0
Отличное	5/45,5	3/27,3	29/69,0	19/45,2	28/71,8	15/38,5
Хорошее	6/54,5	6/54,5	13/31,0	16/38,1	11/28,2	17/43,6
Удовлетворительное	-	1/9,1	-	5/11,9	-	4/10,3
Неудовлетворительное	-	1/9,1	-	2/4,8	-	3/7,7
Пригодные к пересадке	11/100,0	10/90,9	42/100,0	40/95,2	39/100,0	36/92,3
Средний балл	4,45±0,16	4,0±0,27	4,69±0,072	4,24±0,13	4,72±0,07	4,13±0,14
Снижение качества после оттаивания, на балл	0,45		0,45		0,59	

Данные таблицы 2 свидетельствуют о высоком качестве оттаиваемых зародышей, для консервации которых был использован этиленгликоль. Так, в контрольной группе полностью сохранили свое первоначальное отличное качество 60,0% эмбрионов (3 из 5), в опыте с форсколином – 53,6% (15 из 28), а с L-карнитином – 65,5% (19 из 29). Из общего числа размороженных клеток оценку «отличные» получили 27,3; 38,5 и 45,2%, хорошую – 54,5; 43,6 и 38,1%, удовлетворительную – 9,1; 10,3 и 11,9%, неудовлетворительную – 9,1; 7,7 и 4,8% эмбрионов в контроле и опыте с форсколином и L-карнитином соответственно. Глубокое замораживание отличных и хороших клеток привело к незначительному снижению их качества после оттаивания и составило в опытной группе в среднем 0,55 и в контроле – 0,45 балла.

Таблица 3 – Влияние L-карнитина и форсколина в составе защитной среды 1,5М диметилсульфоксида на сохранность оттаянных эмбрионов

Качество эмбрионов	Контрольная группа		Количество эмбрионов, n/%			
			Опытные группы			
			L-карнитин		Форсколин	
	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	После оттаивания
Всего зародышей	10/100,0	10/100,0	37/100,0	37/100,0	31/100,0	31/100,0
Отличное	7/70,0	3/30,0	28/75,7	12/32,4	21/67,7	9/29,0
Хорошее	3/30,0	4/40,0	9/24,3	14/37,8	10/32,3	13/41,9
Удовлетворительное	-	1/10,0	-	5/13,5	-	4/12,9
Неудовлетворительное	-	2/20,0	-	6/16,2	-	5/16,1

Продолжение таблицы 3

Качество эмбрионов	Контрольная группа		Количество эмбрионов, n/%			
			Опытные группы			
			L-карнитин		Форсколин	
	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	после оттаивания	до заморозки	После оттаивания
Пригодные к пересадке	10/100,0	8/80,0	37/100,0	31/83,8	31/100,0	26/83,9
Средний балл	4,7±0,15	3,8±0,36	4,76±0,072	3,86±0,17	4,68±0,085	3,84±0,19
Снижение качества после оттаивания, на балл	0,9		0,9		0,84	

В таблице 3 показаны результаты эксперимента по жизнеспособности заморожено-оттаянных эмбрионов после их криоконсервации в комплексной защитной среде на основе 1,5М диметилсульфоксида и липолитических агентов L-карнитина и форсколина.

Анализ представленных в таблице 3 результатов исследований показывает, что применение криофилактика ДМСО в комплексе с липолитическими агентами при замораживании зародышей позволяет получить 83,9% жизнеспособных зародышей, пригодных для трансплантации реципиентам, в опытных и 80,0% в контрольной группах. После морфологической оценки заморожено-оттаянных зародышей доля эмбрионов отличного и хорошего качества, а также выход эмбрионов, сохранивших свое первоначальное отличное качество во всех исследуемых группах, было одинаково и составило 71,0 и 42,9% соответственно. Средний балл качества в контрольной группе зародышей составил 4,7 до и 3,8 после заморозки, в опытной – 4,76 и 3,86 при использовании L-карнитина и 4,68 и 3,84 при применении форсколина. Снижение качества зародышей во всех группах было примерно одинаковым и находилось на одном уровне 0,84-0,9 баллов.

Заключение. Установлена положительная тенденция по влиянию биологически активных веществ на сохранность криоконсервируемых клеток в составе проникающих защитных сред. Применение липидомодулирующих веществ форсколина в сочетании с криофилактиком 1,4М глицерином и L-карнитина в составе 1,5М раствора этиленгликоля позволяют повысить выход зародышей, сохранивших свое отличное качество, до 55,2 и 65,5%, увеличить показатель пригодных к трансплантации эмбрионов до 95,2%, из которых доля клеток отличного и хорошего качества составила 87,5 и 83,3% соответственно.

Литература. *1. Enhancement of lipid metabolism with L-carnitine during in vitro maturation improves nuclear maturation and cleavage ability of follicular porcine oocytes / T. Somfai [et al.] // Reprod. Fertil. Dev. – 2011. – Vol. 23. – P. 912–920. 2. Yamada, T. Beneficial effects of acetyl-Lcarnitine treatment during IVM on post-fertilization development of bovine oocytes in vitro / T. Yamada, H. Imai, M. Yamada // Reprod. Fertil. Dev. – 2006. – Vol. 18. – P. 280–281. 3. Beta-oxidation is essential for mouse oocyte developmental competence and early embryo development / K. R. Dunning [et al.] // Biol. Reprod. – 2010. – Vol. 83. – P. 909–918. 4. Gülçin, I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine / I. Gülçin // Life Sci. – 2006. – Vol. 78. – P. 803–811. 5. Pillich, R. T Reduction of apoptosis through the mitochondrial pathway by the administration of acetyl-Lcarnitine to mouse fibroblasts in culture / R. T. Pillich, G. Scarsella, G. Risuleo // Exp. Cell Res. – 2005. – Vol. 306. – P. 1–8. 6. L-carnitine attenuates oxidant injury in*

HK-2 cells via ROS–mitochondria pathway / J. Ye [et al.] // Regul. Pept. – 2010. – Vol. 161. – P. 58–66. 7. Seamon, K. B. Forskol: unique diterque activator of adenylate cyclase in membranes in intact cells / K. B. Seamon, W. Padgett, J. W. Daly // Proc. Natl. Acad. Sci. – 1981. – Vol. 78. – P. 3363–7. 8. Honnor, R. C. cAMP-dependent protein kinase and lipolysis in rat adipocytes. II. Definition of steadystate relationship with lipolytic and antilipolytic modulators / R. C. Honnor, G. S. Dhillon, C. Londos // J. Biol. Chem. – 1985. – Vol. 260. – P. 15130–8. 9. Stralfors, P. Phosphorylation of hormone-sensitive lipase by cyclic AMP-dependent protein kinase / P. Stralfors, P. Belfrage // J. Biol. Chem. – 1983. – Vol. 258. – P. 15146–52. 10. Kraemer, F. B. Hormone-sensitive lipase: control of intracellular tri-(di-) acylglycerol and cholesteryl ester hydrolysis / F. B. Kraemer, W. J. Shen // J. Lipid. Res. – 2002. – Vol. 43. – P. 1585–93.

УДК 636.2.082.451

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОГЕСТАГЕННЫХ ИМПЛАНТАТОВ В СХЕМЕ СИНХРОНИЗАЦИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

Будевич А.И., Сапсалёв С.А., Кирикович Ю.К., Мацулевич А.А.
РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

Синхронизация эструса коров-доноров при вызывании суперовуляции используя прогестагенных препараты является одним из способов удешевления себестоимости эмбрионов за счет использования в течение рабочего дня большего количества доноров и реципиентов. В данном исследовании, на коров воздействовали имплантами «CIDR» при синхронизации индукции множественной овуляции. Спустя 4 дня воздействия гестагенов начиналась восьмикратная обработка гонадотропинами. Установлено, что эмбриопродуктивность обработанных согласно указанной схемы животных достигла в среднем более 5 пригодных эмбрионов на одного донора, из них не менее 70% отличного качества и последующей приживляемостью на уровне 50%. ***Ключевые слова****: донор, эмбрион, прогестагены, суперовуляция, приживляемость*

THE USE OF PROGESTOGENIC IMPLANTS IN THE SYNCHRONIZATION SCHEME OF SUPEROVULATION IN HIGHLY PRODUCTIVE COWS

Budevich A.I., Sapsaliou S.A., Kirykovich Y.K., Matsulevich A.A.
RUE «Scientific and Practical Center of the National Academy of Sciences of Belarus for Animal Breeding», Zhodino, Republic of Belarus

Synchronization of the estrus of donor cows when inducing superovulation using progestogens is one of the ways to reduce the cost of embryos due to the use of a larger number of donors and recipients during the working day. In this study, cows were treated with CIDR implants while synchronizing multiple ovulation induction. After 4 days of exposure to gestagens, an eight-fold treatment with gonadotropins began. It was established that the embryonic productivity of the animals treated according to the indicated scheme reached an average of more than 5 suitable embryos per donor, of