

На правах рукописи

**БРИГИДА АРТЁМ ВЛАДИМИРОВИЧ**

**УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ  
ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО  
СКОТА**

06.02.06 – Ветеринарное акушерство и биотехника репродукции  
животных

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата ветеринарных наук

**Саратов - 2020**

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Оренбургский государственный аграрный университет»

**Научный руководитель:** **Сорокин Владимир Ильич**  
кандидат биологических наук, доцент

**Официальные оппоненты:** **Сковородин Евгений Николаевич**  
доктор ветеринарных наук, профессор ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет», заведующий кафедрой морфологии, патологии, фармации и незаразных болезней.

**Баймишев Хамидулла Балтуханович**  
доктор биологических наук, профессор ФГБОУ ВО «Самарский государственный аграрный университет», заведующий кафедрой анатомии, акушерства и хирургии.

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», г. Москва

Защита диссертации состоится 26 февраля 2021 г. в 9-00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ и на сайте [www.sgau.ru](http://www.sgau.ru)

Отзывы на автореферат направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г. Саратов, Театральная площадь, 1. Саратовский ГАУ.  
E-mail: [vetdust@mail.ru](mailto:vetdust@mail.ru)

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2020 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Увеличение продукции животноводства во многом зависит от применяемых методов воспроизводства сельскохозяйственных животных. Мировой опыт свидетельствует о приоритетности репродуктивных биотехнологий, среди которых высоко востребована технология трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. С ее использованием, согласно данным Международного общества по трансплантации эмбрионов (International Embryo Transfer Society, IETS), в 2017 году в мире, включая Российскую Федерацию, было произведено рекордное количество коммерческих эмбрионов крупного рогатого скота, составляющее 1487343 шт., что значительно превысило их суммарное количество, полученное за десять предыдущих лет в период с 2007 по 2016 год (1356594 шт.) (IETS, 2018). Приведенные факты объективно доказывают, что данная биотехнология имеет важное хозяйственное значение для отрасли скотоводства на текущий момент и на перспективу.

В программах по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота экономически важными являются максимально возможные значения результативности указанной биотехнологии, изучение и совершенствование которой длится не одно десятилетие. Основанием для этого является ряд не решенных до сих пор проблем технологического характера. Так, на технологическом этапе по стимуляции полиовуляции яичников у коровы-донора экзогенными гонадотропинами не преодолена проблема, характеризующаяся высокой степенью вариабельности яичникового ответа, составляющего на одну корову-донора от 0 до 50 желтых тел на яичниках (М.М. Rao et al., 2010; A. Liang, et al., T. Bekele et al., 2016). При этом 30% коров-доноров имеют низкое число овуляций – не более двух желтых тел на яичниках, и извлечение эмбрионов становится нецелесообразным, а еще одна треть доноров не реагирует на введенные гонадотропины (S. Wohlrres-Viana, et al., 2019). Вследствие этого только от 40% коров-доноров возможно получить эмбрионы, а у 60 % доноров итоговый результат при применении данной биотехнологии остается нулевым (С.Ümütetal., 2019). Отсутствие надежных методов прогнозирования ответной реакции яичников коровы-донора на вводимые гонадотропины является существенной проблемой при отборе коров в качестве доноров эмбрионов, что приводит к необходимости использования исходного поголовья доноров, превышающего планируемое в 2 – 3 раза (А.В. Лихоман с соавт., 2016). Другими не менее значимыми проблемами рассматриваемой биотехнологии являются: высокий уровень потерь эмбрионов, составляющий 30% и более, при их нехирургическом извлечении из репродуктивных органов донора (K.G. Hubbert, et al., 1984; V. Havlicek, et al., 2005; F. Cruz, et al., 2008; C. Richard, et al., 2015), низкий показатель приживляемости свежеполученных эмбрионов после их пересадки реципиентам, находящийся в пределах 45 – 55%, и еще более низкий уровень приживляемости оттаянных эмбрионов (30 – 45%), трансплантированных после криоконсервации (Б. П. Завертяев, 1989; В.В. Мадисон, В.Л. Мадисон, 2018).

В мировом научном сообществе большое внимание уделяется изучению эффективности рассматриваемой технологии, однако научные исследования были посвящены изучению главным образом отдельных технологических приемов и до настоящего времени не привели к осязаемому ее улучшению.

Вышесказанное определяет необходимость и актуальность темы диссертационного исследования, направленной на рассмотрение не локальных, не точечных вопросов, связанных с применением отдельных технологических приемов биотехнологии, а на выработку целостного, системного подхода к усовершенствованию технологии в целом, опирающегося на современные научные основания, позволяющие решать задачи повышения эффективности технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

**Степень разработанности темы.** Систематизация работ отечественных и зарубежных ученых свидетельствует о повышенном внимании к результативности технологии трансплантации крупного рогатого скота, однако научные исследования проводились в отношении отдельных технологических этапов, составляющих основу данной технологии. Взаимосвязанные и последовательно проводимые технологические этапы, в которых эффективность следующего этапа зависит от успеха предыдущего, представляют собой отбор коров в качестве доноров эмбрионов и реципиентов, проведение стимуляции полиовуляции у коров-доноров с последующим их искусственным осеменением, нехирургическое извлечение эмбрионов и оценка их качества, пересадка эмбрионов реципиентам.

Вопросы изучения эффективности различных протоколов гормональной стимуляции полиовуляции у коров-доноров исследованы в работах зарубежных авторов: R. J. Mapletoft (2015), M. Ochea (2015), F. da Silva (2018), F. Jimenez-Krassel (2018), G. Dell'Eva (2019), а также отечественных – В.Ю. Бабенкова (2010), П.В. Буркова (2012); М.Н. Мамукаева и Б.Т. Хетагуровой (2013).

В научных исследованиях К.Г. Hubbert, S.M. Hopkins (1984) и F. V. Cruz (2008) рассмотрены вопросы, касающиеся потерь эмбрионов, происходящих в процессе манипуляций при их вымывании из репродуктивных органов коровы-донора на технологическом этапе нехирургического извлечения эмбрионов.

Исследованию проблемы низкого уровня приживляемости трансплантированных эмбрионов у коров-реципиентов посвящены работы С. Lamb (2006), J.F. Hasler (2011), L. M. Vieira (2014), N.H. Bok, S. Cho (2014), D. A. Roper (2018).

В Российской Федерации, а также за ее пределами не проводились исследования, направленные на комплексное изучение проблемных вопросов при применении технологии трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота. Изучение отдельных технологических этапов очень важно, однако наравне с такими исследованиями необходимо оценивать эффективность данной репродуктивной биотехнологии в целом. Это связано с тем, что изучение и усовершенствование какого-либо из технологических этапов при нерешенных проблемных вопросах на других технологических этапах должного эффекта не оказывают. Именно поэтому изучение этого вопроса с целью усовершенствования технологии трансплантации эмбрионов в целом представляется необходимым условием для дальнейшего развития мясного и молочного скотоводства в Российской Федерации.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы явилось повышение эмбриопродуктивности у коров-доноров и уровня приживляемости трансплантированных эмбрионов у телок-реципиентов на основе комплексного усовершенствования технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- изучить результативность технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота для установления наиболее значимых проблем на технологических этапах, приводящих к снижению эффективности данной биотехнологии;

- на основании полученных данных разработать комплекс усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений для применения в процессе проведения технологических этапов технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, включая:

- усовершенствовать способ отбора коров в качестве доноров эмбрионов на основе прогнозирования эмбриопродуктивности у коров и выявления особей с положительной полиовуляторной реакцией на экзогенные гонадотропины;

- усовершенствовать способ стимуляции полиовуляции у коров-доноров при введении фолликулостимулирующего гормона, позволяющего повысить полиовуляторный ответ яичников на экзогенные гонадотропины;

- усовершенствовать имеющиеся способы и оборудование для нехирургического извлечения, сбора и пересадки эмбрионов для повышения их эффективности;

- на основании экспериментов, проведенных на коровах и телках, провести сравнительный анализ эффективности усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений и общепринятых способов, и оборудования, применяемых в составе данной биотехнологии, по показателям количества эмбрионов, получаемых от коров-доноров, и по показателям приживляемости эмбрионов, трансплантированных реципиентам;

- дать научно-практическое обоснование преимущества применения усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений в составе технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

**Объект исследования.** Телки, достигшие репродуктивного возраста, и коровы молочного и мясного направления продуктивности, а также эмбрионы, полученные в процессе извлечения у коров-доноров.

**Предмет исследования.** Эффективность отбора коров-доноров, результативность стимуляции полиовуляции яичников у коров-доноров гонадотропными препаратами; морфофункциональные показатели яичников до и после стимуляции полиовуляции; результативность нехирургического извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коровы-донора, количественно-качественный состав получаемых эмбриосборов; эффективность нехирургической пересадки эмбрионов коровам-реципиентам, приживляемость трансплантированных эмбрионов у реципиентов; эффективность оборудования для нехирургического извлечения, сбора и пересадки эмбрионов, применяемого в процессе технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

**Научная новизна.** Научная новизна заключается в том, что впервые проведены комплексное научное исследование и сравнительный анализ ценности методов и конструктивно-технологических решений, составляющих основу технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота на современном уровне ее развития. На основании многоаспектного изучения различных клинических, лабораторных и инструментальных данных показана недостаточная эффективность и фрагментарность имеющихся методов и оборудования, применяемых в процессе проведения технологических этапов данной биотехнологии.

Получены новые данные о взаимосвязи между эмбриопродуктивностью у коров-доноров и морфометрическими показателями их яичников, на основе которых разработаны предикторные критерии, позволяющие прогнозировать полиовуляторный ответ у коров-доноров в период, предшествующий началу стимуляции коров-доноров гонадотропинами (в середине L-фазы животного) (патент РФ на изобретение № 2699318) и выявлять особей с положительной полиовуляторной реакцией на экзогенные гонадотропины на технологическом этапе отбора коров в качестве доноров эмбрионов (патент РФ на изобретение № 2699519).

Определены взаимосвязь и степень влияния экзогенного фолликулостимулирующего гормона пролонгированного действия на ответную полиовуляторную реакцию яичников у коров-доноров и разработаны способ индукции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов с пролонгированием действия гипофизарных гонадотропинов (патент РФ на изобретение № 2617042) и фармакологическая композиция с пролонгированным действием гонадотропинов для проведения индукции суперовуляции у самок млекопитающих (патент РФ на изобретение № 2633079), позволяющие повысить полиовуляторный ответ яичников на экзогенные гонадотропины.

Впервые экспериментально доказано влияние применяемого оборудования на результативность извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коров-доноров и на приживляемость пересаженных эмбрионов у реципиентов. На основании полученных данных разработаны способы и оборудование для нехирургического извлечения, сбора и пересадки эмбрионов.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы состоит в том, что расширены знания по эффективности применения технологии трансплантации эмбрионов у крупного рогатого скота. Оценено влияние имеющихся методов и конструктивно-технологических решений, реализуемых в составе данной технологии, на эмбриопродуктивность у коров-доноров, а также на уровень приживляемости трансплантированных эмбрионов у реципиентов.

Практическая значимость работы состоит в том, что обоснован и внедрен комплекс усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений, направленный на повышение воспроизводительного потенциала у коров-доноров и улучшение эффективности технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. Использование усовершенствованных способов и оборудования, интегрированных в технологию трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, повышает эффективность данной биотехнологии и выводит ее достоверность на новый уровень.

Основные результаты диссертационной работы используются в учебном процессе и научно-исследовательских работах ФГБОУ ВО Оренбургский ГАУ, ФГБОУ ВО Белгородский ГАУ, ФГБОУ ВО Уральский ГАУ, ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий» (г. Москва), ООО «Научно-производственный центр «Инновационная ветеринария» (г. Оренбург); ОАО «Красноярскагроплем» (село Солонцы, Емельяновский район, Красноярский край).

**Методология и методы исследования.** Исследования проводились в период с 2012 по 2019 год. Методологической основой решения поставленных задач явилось системное и комплексное изучение объектов исследования, анализ и обобщение полученных результатов. Результаты исследований получены с использованием морфологических, биологических, клинических, эхографических, морфометрических и светооптических методов исследований. Полученные экспериментальные данные были биометрически обработаны общепринятыми методами. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016. Для статистического анализа данных использовали метод вариационной статистики (критерий Стьюдента).

#### **Положения, выносимые на защиту:**

- оценка результативности способов и конструктивно-технологических решений, составляющих основу технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота;
- разработка комплекса усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений для применения в процессе проведения технологических этапов технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота;
- оценка эффективности усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений в экспериментах, проведенных на коровах и телках, по показателям количества эмбрионов, получаемых от коров-доноров, и по показателям приживляемости эмбрионов, трансплантированных реципиентам;
- научно-практическое обоснование преимущества применения усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений в составе технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность научных результатов подтверждается комплексностью и большим объемом проведенных исследований. Результаты научных исследований вошли в отчеты по научно-исследовательской работе ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий» (г. Москва) за 2017 – 2019 годы. Основные положения диссертации доложены, обсуждены и получили одобрение на ежегодных конференциях и других научно-практических мероприятиях: международная молодежная научно-практическая конференция «Современные тенденции развития биотехнологической и ветеринарной науки», посвященная памяти д.в.н., профессора Ю.В. Храмова (Оренбург, 2016); V Международная научно-практическая конференция «Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота: биотехнология повышения плодовитости и генетического

потенциала молочных и мясных стад» (Оренбург, 2016); XVIII Всероссийская конференция молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии» посвященная памяти академика РАСХН Г.С. Муромцева (Москва, 2018); VI Международная научно-практическая конференция «Биотехнология: наука и практика (Ялта, 2018); на международной специализированной выставке животноводства и племенного дела «АгроФарм-2016» в номинации «За лучшую научную разработку» за сконструированное и апробированное «Устройство для аппликации эмбрионов» получено Гран-при, а также присуждены стела и диплом (Москва, 2016); на «АгроФарме-2020» в номинации «За лучшую научную разработку» за разработанный «Способ прогнозирования приживляемости эмбриона у коровы-реципиента в процессе проведения технологии трансплантации эмбрионов» получены стела и диплом (Москва, 2020); на XVII Российской агропромышленной выставке «Золотая осень-2015» за разработку «Устройства, обеспечивающего непрерывность циклов циркуляции промывочной жидкости при проведении процедуры вымывания эмбрионов из матки животного с использованием системы для нехирургического извлечения эмбрионов с замкнутым контуром» была присуждена золотая медаль и диплом (Москва, 2015); на XVIII Российской агропромышленной выставке «Золотая осень - 2016» за разработку «Трехканальный катетер, предназначенный для нехирургического извлечения эмбрионов у животных, со спиральным дистальным концом подающего канала», была присуждена бронзовая медаль и диплом (Москва, 2016); на XX Российской агропромышленной выставке «Золотая осень-2018» за разработку «Фармакологическая композиция с пролонгированным действием гонадотропинов для проведения индукции суперовуляции у самок млекопитающих» была присуждена золотая медаль и диплом (Москва, 2018); на XXI Российской агропромышленной выставке «Золотая осень-2019» за разработку «Способ отбора коров-доноров эмбрионов в процессе проведения технологии трансплантации эмбрионов» была присуждена золотая медаль и диплом (Москва, 2019).

**Публикации.** По материалам диссертационной работы опубликовано 18 научных работ, в том числе 10 из них в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ, 1 в изданиях, входящих в перечень Scopus, методические рекомендации и руководства (2011,2014,2017,0219). Получено 12 патентов РФ на изобретения и полезные модели. Общий объем публикаций составляет 7,7 п.л., их них 4,17 п.л. принадлежит лично соискателю.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 209 страницах стандартного компьютерного текста и включает в себя введение, обзор литературы, собственные исследования и заключение. Работа иллюстрирована 13 таблицами, 29 рисунками и 37 приложениями. Список литературы содержит 204 источника, из них 85 отечественных и 119 зарубежных авторов.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Материалы и методы исследования.** Диссертационная работа выполнена на кафедре факультета ветеринарной медицины и биотехнологии ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный аграрный университет» в период с 2012 по 2019 год. Объектом исследований послужили телки, достигшие репродуктивного возраста, и коровы молочного и мясного направления продуктивности, а также эмбрионы на ранних стадиях дробления, полученные в процессе извлечения у коров-доноров. Практические и научные исследования проведены в ТОО «Западно-Казахстанская научно-исследовательская ветеринарная станция» на базе отдела трансплантации эмбрионов – город Уральск, Западно-Казахстанская область; в ТОО «Казахстанский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства» на базе отдела ускоренного воспроизводства крупного рогатого скота – город Алматы, Алматинская область; «Научно-инновационный центр животноводства и ветеринарии» на базе отдела по воспроизводству сельскохозяйственных животных – город Астана, Акмолинская область; ООО «Научно-производственный центр «Инновационная ветеринария» на базе отдела по

воспроизводству крупного рогатого скота – город Оренбург, Оренбургская область; ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивной биотехнологии» на базе отдела экспериментальной трансплантологии – город Москва, Московская область, а также в ряде животноводческих комплексов и хозяйств, разводящих крупный рогатый скот.

Исследования, отраженные в диссертационной работе, по усовершенствованию технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота выполнялись в соответствии со структурно-логической схемой выполненных исследований, представленной на рисунке 1.

На первом этапе исследований был проведен отбор коров в качестве доноров, который был осуществлен на животных в возрасте 4 – 10 лет. В исследовании участвовали животные, таких пород как: молочного направления продуктивности - голштинская черно-пестрая, голштинская красно-пестрая, айрширская, швицкая, алатауская, красная степная, а также мясного направления продуктивности – казахская белоголовая, герефордская, абердин-ангусская, симментальская, отобранных в качестве коров-доноров эмбрионов. Отбирали животных клинически здоровых, без признаков нарушения обмена веществ (ожирение, дистрофия и т. д.), при наличии данных о происхождении не менее чем по трем рядам предков, с крепкой конституцией и оценкой экстерьера не менее 8 баллов, живой массой не ниже стандарта породы, в возрасте 3 – 6 отелов, с подтвержденной достоверностью происхождения, с первыми проявлениями половой охоты в срок до 50 дней после отела, легким отелом и неосложненным течением послеродового периода, индексом осеменения 1,2 – 1,5, нормальным состоянием матки и яичников (по результатам ректогенитального обследования методом эхографической визуализации в режиме реального времени и эндоректальной пальпации репродуктивных органов). Кормление доноров соответствовало общепринятым детализированным нормам, сбалансированным по всем питательным и биологически активным веществам. Все животные прошли обследование на инфекционные заболевания (бруцеллез, туберкулез, вирусные респираторные заболевания, лейкоз, трихомоноз, вибриоз, ящур и другие возбудители заболеваний).

Для определения эффективности прогнозирования потенциальной эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников морфофункциональную оценку яичников коров-доноров эмбрионов проводили в динамике (с учетом полученных данных постпроцессинговой морфометрии яичников) – на десятый день полового цикла до момента введения гонадотропных препаратов, перед осеменением (эструс) при множественных созревших фолликулах и на седьмой день индуцированного полового цикла с полиовуляторной реакцией яичников и наличием множественных желтых тел на поверхности яичников (непосредственно перед извлечением зародышей).

Для эндоректальной эхографической визуализации яичников коров-доноров использовали УЗИ-сканеры: TringaLinear («ESA OTES p.A», Италия), EASI SCAN E4 («BCF Technology», Великобритания) и Kaixin KX5200 («Xuzhou Kaixin Electronic Instrument Co., Ltd», Китай) с линейными датчиками (рабочая частота – 7,5 МГц); фиксировали черно-белые эхографические изображения репродуктивных органов. При постпроцессинговой морфометрии эхографические изображения обрабатывали с использованием графического редактора ImageJ (National Institute of Health, США). Определяли длину, ширину и площадь яичников и желтых тел как параметры функциональной активности. Показатели рассчитывали с учетом длины прямого отрезка, ломаной линии, длины окружности неправильной формы, площади геометрической фигуры, угла проекции двух отрезков. Схематично отображали проекции структур на эхограмме. Площадь яичника и желтого тела определяли по формуле для эллипсоида:  $S=\pi Rr$ , где R и r – соответственно большая и малая полуоси.

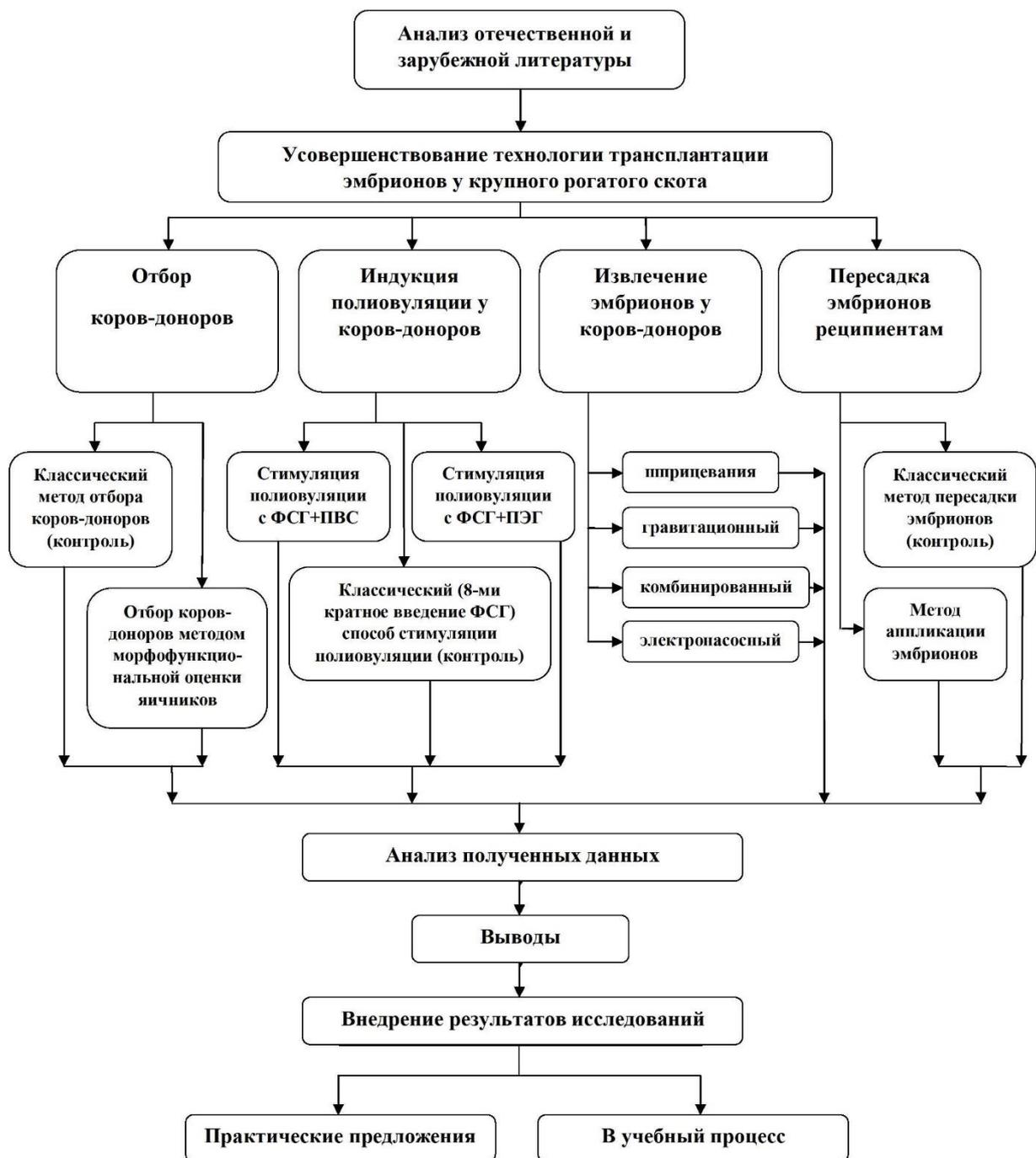


Рисунок 1 – Схема выполненных исследований

На основании полученных данных морфометрии яичников определяли оптимальные критерии предварительного прогнозирования потенциальной полиовуляторной реакции яичников и количественного состава зародышей.

Индукцию полиовуляции у коров, отобранных в качестве доноров-эмбрионов, на первом этапе исследования проводили согласно протоколу восьмикратного введения препарата «Плюсет» с интервалом 12 ч. (утро – вечер) на 9 – 12-й день полового цикла в убывающих дозах (50 АЕ, 3; 3; 2,5; 2,5; 2; 2; 1,5; 1,5 мл/гол).

Выявление признаков половой охоты у коров и телок проводили согласно Приложениям 1 и 2 к Приказу Министерства сельского хозяйства РФ от 18 марта 2016 года N 102 «Об утверждении условий применения биотехнологических методов искусственного осеменения племенных коров и телок».

Для осеменения коров-доноров использовали семя выдающихся быков-производителей. Спермадозы соответствовали ГОСТу 26030-2015 (основные показатели: доля сперматозоидов с прямолинейно-поступательным движением – не менее 40 %, их

число в одной дозе – 15 млн; объем дозы для осеменения – не менее 0,2 см<sup>3</sup>; жизнеспособность сперматозоидов при 380С – не менее 5 ч.). Подбор производителей и коров-доноров вели в соответствии с планом селекционно-племенной работы в хозяйстве.

Для осеменения коров-доноров эмбрионов применяли ректо-цервикальный метод введения спермы. При осеменении животных руководствовались «Инструкцией по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота» (1987). Всех коров-доноров осеменяли трижды с промежутком в 12 часов с использованием 5 штук спермадоз (2; 2; 1).

Извлечение эмбрионов проводили методом шприцевания на седьмой день индуцированного полового цикла животного.

На втором этапе исследований отбор коров-доноров проводили на основании эхографической визуализации репродуктивных органов животных. Индуцирование полиовуляторной реакции яичников коров-доноров эмбрионов (n = 256) проводили с использованием препарата «Плюсет» (Испания) в дозе 1000 ИЕ (50 Арморовских единиц) на голову. Для вызывания множественного роста фолликулов использовали три схемы обработок животных. В группе I (n = 96) проводили восьмикратное введение препарата с интервалом 12 ч. (утро – вечер) на 9 – 12-й день полового цикла в убывающих дозах (50 АЕ, 3; 3; 2,5; 2,5; 2; 2; 1,5; 1,5 мл/гол). В группе II (n = 73) препарат, содержащий фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), вводили в композиции с поливиниловым спиртом молекулярной массой 15000 Да в количестве от 0,7 до 1,1 грамма на голову, однократно, на десятый день полового цикла, подкожно, в область лопатки. В группе III (n = 87) препарат, содержащий фолликулостимулирующий гормон (ФСГ), вводили в композиции с полиэтиленгликолем молекулярной массой 6000 Да из расчета 3 грамма на голову, однократно, на десятый день полового цикла, подкожно, в область лопатки.

Композицию веществ, содержащих ФСГ сочетанно с пролонгаторами поливиниловый спирт и полиэтиленгликоль готовили, непосредственно перед введением в организм животного.

Осеменение коров-доноров проводили согласно вышеописанной методике.

Непосредственно перед извлечением зародышей у коров-доноров эмбрионов был проведен подсчет желтых тел на поверхности яичников ректопальпаторным методом и/или методом эхографической визуализации. При этом количество желтых тел (число овуляций) было принято равнозначным количеству созревших и овулировавших фолликулов. Провели градацию животных в каждой группе согласно лимиту числа овуляций: животные с 3 – 5 желтыми телами, с 6 – 10, с 11 – 20 и с более 20 желтыми телами на яичнике.

На данном этапе исследований извлечение эмбрионов у коров-доноров, проявивших реакционный ответ яичников, проводили гравитационным способом.

Морфологическую оценку эмбрионов проводили под бинокулярными микроскопами: Nikon SMZ1270, SMZ745, а также Nikon Bio Station IMQ с CO<sub>2</sub> («Nikon Corporation», Япония). Определение морфологического состояния зародышей проводили с увеличением 32 – 60 раз и более. При морфологической оценке эмбрионов учитывали соответствие стадиям развития, форму зоны пеллюцида и ее целостность, равномерность дробления blastomerov и общее состояние цитоплазмы. Особое внимание обращали на прозрачность перивителлинового пространства и полигональную связь между blastomeraми (ГОСТ 28424-2014 (2015)).

Подготовку эмбрионов к криоконсервации проводили согласно «Инструкции по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота» (1987), с использованием в качестве криопротектора этиленгликоль соответствующего ГОСТу-19710-83 (2006). Для криоконсервации эмбрионов использовали программные замораживатели «FreezeControlCL-3300» и «CryocontrollerVet-9500». Работа с азотом проводилась согласно ГОСТу-9293-74 (1985). Хранение эмбрионов проводилось в сосудах Дьюара СДС-35 и СДС-35М.

На третьем этапе исследований была проведена подготовка коров-доноров согласно протоколу восьмикратного введения препарата «Плюсет» и искусственного осеменения коров-доноров.

Вымывание эмбрионов из репродуктивных органов у коров-доноров проводили четырьмя способами: гравитационный (самотека), шприцевания (порционный), комбинированный (смешанный), электронасосный, при этом каждый из перечисленных способов был применен в двух вариантах исполнения. Извлечения эмбрионов проводили нехирургическим способом на седьмой день индуцированного полового цикла.

Всех коров-доноров эмбрионов ( $n = 833$ ), проявивших реакционный ответ яичников на введенные гонадотропные препараты, разделили на восемь групп в зависимости от способа извлечения зародышей. В группе I ( $n = 126$ ) использовали гравитационный (самотека) способ с двухканальным катетером Фолея. В группе II ( $n=83$ ) – гравитационный (самотека) способ с трехканальным катетером Фолея. В группе III ( $n = 174$ ) – способ шприцевания с двухканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл, при котором выполняют одним и тем же шприцем однократную подачу порции промывочной жидкости через катетер Фолея в матку животного с незамедлительным однократным отсосом этой промывочной жидкости вместе с эмбрионами, после этого шприц отсоединяют от катетера Фолея и сразу подсоединяют другой шприц с новой порцией промывочной жидкости, которую вводят также однократно и также незамедлительно этим же шприцем осуществляют однократный отсос промывочной жидкости вместе с эмбрионами. Описанную процедуру осуществляют 5 – 8 раз с заменой шприца для подачи новой порции промывочной жидкости. В группе IV ( $n = 54$ ) – использовали способ шприцевания с двухканальным катетером Фолея и одним шприцем Люэра объемом 60 мл, при котором к двухканальному катетеру Фолея подсоединяют один шприц Люэра и выполняют при помощи него подачу и отсос одной и той же порции промывочной жидкости, повторяя процедуру «подача – отсос» 5 – 8 раз без отсоединения этого шприца. В группе V ( $n = 112$ ) – комбинированный способ с двухканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл. В группе VI ( $n = 85$ ) – комбинированный способ с трехканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл. В группе VII ( $n = 63$ ) – электронасосный способ с двухканальным катетером Фолея (электронасосный описан в патенте РФ на полезную модель № 156768). В группе VIII ( $n = 136$ ) – использовали электронасосный способ с трехканальным катетером Фолея (электронасосный описан в патенте РФ на полезную модель № 156768).

Для извлечения зародышей использовали в качестве вспомогательного оборудования гибкие двухканальные и трехканальные катетеры для извлечения эмбрионов с наконечником Фолея производства фирмы «Minitube» (Германия).

Для фильтрации промывочной жидкости и сбора эмбрионов использовали фильтры для сбора эмбрионов (производства Франции). В качестве промывочной жидкости применяли сбалансированный солевой буферный раствор Дюльбекко с добавлением 10%-ной сыворотки крови, в общем объеме от 100 до 500 мл на один рог матки в зависимости от способа вымывания и полиовуляторной реакции яичников коров-доноров эмбрионов.

На четвертом этапе исследований в качестве реципиентов отбирали клинически здоровых животных, не имеющих генетической ценности, и беспородный скот, 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.

Синхронизация половых циклов у реципиентов проводили препаратами-аналогами ГнРг – 5 – 10 мл в/м и Pgf2a клопростенол в дозе 500 мкг в расчете на одного животного. При ректогенитальном обследовании реципиентов непосредственно перед пересадкой эмбрионов учитывали размеры желтого тела полового цикла. Для трансплантации использовали нативные и замороженно-оттаянные эмбрионы, полученные методом *in vivo*, отличного качества на стадии развития – бластоциста.

Нехирургическую пересадку эмбрионов проводили на седьмой день полового цикла реципиента, при этом пересаживали по одному эмбриону каждому реципиенту в рог матки ипсилатерально желтому телу на яичнике (длина желтого тела – 1,5 и более см).

Непосредственно перед введением катетера для пересадки эмбрионов проводили эпидуральную анестезию телкам-реципиентам.

Пересадку эмбрионов проводили двумя способами: телкам из группы I пересадку нативных (n=126) и замороженно-оттаянных (n=198) эмбрионов проводили в среднюю треть рога матки с использованием жесткого шприца-катетера модификации Кассу, изготовленного под стандартные соломинки-пайеты объемом 0,25 или 0,5 мл. В краниальную часть рога матки пересадку эмбрионов не проводили по причине конструктивных особенностей катетера. Животным из группы II (n=217) процедуру пересадки эмбрионов проводили с использованием авторского устройства для аппликации эмбрионов крупного рогатого скота (патент РФ на полезную модель № 154919).

Пересадку проводили в среднюю треть рога матки (51 нативный и 42 замороженно-оттаянных эмбрионов) и в верхнюю треть рога матки (55 нативных и 69 замороженно-оттаянных эмбрионов). Диагностику стельности проводили на 30-й и 60-й день методом эхографической визуализации.

На каждом из проведенных этапов исследований осуществлялся расчет экономической эффективности применения способов и оборудования, а также по итогу работы был сделан подсчет себестоимости одного полученного качественного эмбриона от коровы-донора и подтвержденной стельности у реципиента.

Полученные экспериментальные данные были биометрически обработаны общепринятыми методами. Статистическая обработка полученных результатов выполнена с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2016. Достоверность различий сравниваемых показателей оценивали по t-критерию Стьюдента, считая их статистически значимыми при  $P \leq 0,01$ .

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### *Прогнозирование потенциальной эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников*

Проведено исследование на 30 коровах-донорах эмбрионов. Всех животных разделили на три группы (n = 10) в зависимости от длины желтого тела (I, II и III — соответственно от 2,5; 1,5-2,5 и менее 1,5 см). Определение у яичников и желтых тел показателей длины и ширины, позволили нам определить площадь и соотношение размера желтого тела к размеру яичника (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительная оценка соотношения площадей желтых тел к яичнику и влияние на полиовуляцию и эмбриопродуктивность

Группа	Площадь желтого тела от площади к яичника, %	Число	
		желтых тел	эмбрионов
I	57,13±3,01	11,6±1,26	9,3±1,23
II	42,13±2,95*	5,7±1,24*	4,6±1,01*
III	30,16±2,56*(*)	1,8±0,18*(*)	0,5±0,02*(*)

*Примечание: \* при  $P \leq 0,01$  (между I, II и III); (\*) при  $P \leq 0,01$  (между II и III).*

Результаты, полученные при ультразвуковом сканировании и постпроцессинговой обработке эхограмм, подтвержденные ректопальпаторными исследованиями яичников, позволяют сделать вывод, что результативность стимуляции множественного роста фолликулов на яичниках и эффективность оплодотворения яйцеклеток зависят от морфометрических показателей желтого тела в период, предшествующий началу стимуляции коров-доноров гонадотропинами – в середине L-фазы животного.

После оценке полиовуляторной реакции яичников и извлечения эмбрионов у коров-доноров, находящихся в группах I и II, была зафиксирована разница по таким показателям, как число желтых тел и количество полученных эмбрионов. Так, каждый из упомянутых показателей в группе I, превышал аналогичные показатели в группе II

более чем в два раза, а в группе III — многократно (в 6 и 18 раз). Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что у коров, имеющих соотношение площади желтого тела и площади яичника более 50%, возможно получение реакционного ответа яичников в среднем  $11,6 \pm 1,26$  желтого тела и  $9,3 \pm 1,23$  эмбрионов из расчета на одного донора.

### **Сравнительная оценка эффективности индукции полиовуляции у коров-доноров эмбрионов препаратом «ФСГ-супер» при различных схемах его введения**

Следующий этап нашей работы был посвящен изучению эффективности индукции полиовуляции у коров-доноров эмбрионов препаратом «ФСГ-супер» при различных схемах его введения, в том числе с использованием веществ, способных пролонгировать в организме животного действие экзогенного ФСГ гипофизарного происхождения. Для проведения исследования из коров-доноров ( $n=256$ ), участвующих в опыте, нами было сформировано три группы, одна из которых была контрольная и две опытные. В группе I ( $n = 96$ ), которая являлась контрольной, у коров-доноров на 9 – 12-й день полового цикла применяли протокол, основанный на восьмикратном внутримышечном введении препарата «ФСГ-супер» с интервалом 12 ч. (утро – вечер) в убывающих дозах (50 АЕ, 3; 3; 2,5; 2,5; 2; 2; 1,5; 1,5 мл/гол.). В группах II и III, которые являлись опытными, применяли однократное введение «ФСГ-супер» в композиции с веществом – пролонгатором действия ФСГ. В группе II ( $n = 73$ ) каждой корове-донору на десятый день полового цикла вводили однократно, подкожно, в область лопатки, смесь, состоящую из «ФСГ-супер» (ФСГ в полном объеме – 50 АЕ), пролонгатора – поливинилового спирта (ПВС) с молекулярной массой 15000 Да. В группе III ( $n = 87$ ) каждой корове-донору на десятый день полового цикла вводили однократно, подкожно, в область лопатки, смесь, состоящую из «ФСГ-супер» (ФСГ в полном объеме – 50 АЕ), пролонгатора – полиэтиленгликоля (ПЭГ) с молекулярной массой 6000 Да.

При рассмотрении показателя «количество доноров, распределенных согласно лимитам числа овуляций» выявлена следующая тенденция: в группе II и в группе III в сравнении с контрольной группой I отмечено достоверное ( $P \leq 0,01$ ) увеличение количества животных с повышенным числом желтых тел на яичниках. Такая же тенденция по увеличению количества животных наблюдалась при рассмотрении показателей эмбриосборов, полученных от коров-доноров в процессе вымывания (таблица 2).

Таблица 2 – Количественные показатели результатов индукции полиовуляции и показателей эмбриосборов ( $X \pm Sx$ )

Группа, количество животных подвергшихся индукции полиовуляции, n	Доноры, прореагировавшие на индукцию полиовуляции, n / %	Желтые тела, n		Показатели эмбриосборов (качественные, дегенерированные эмбрионы, неоплодотворенные яйцеклетки), n	
		всего	на донора	всего	на донора
I (n = 96)	91 / 94,8	956	$10,5 \pm 0,62$	782	$8,6 \pm 0,55$
II (n = 73)	70 / 95,9	979	$14,0 \pm 0,79^*$	834	$11,9 \pm 0,77^*$
III (n=87)	83 / 95,4	1262	$15,0 \pm 0,80^*$	1065	$12,8 \pm 0,71^*$

Примечание: \* при  $P \leq 0,01$  (между I, II и III).

При оценке показателей полученных эмбриосборов, в которых был проведен подсчет количества найденных при микроскопическом исследовании качественных эмбрионов, дегенерированных эмбрионов и неоплодотворенных яйцеклеток, установлено, что в группе III было получено качественных эмбрионов на 9,6 % больше ( $P \leq 0,05$ ), чем в группе II, и на 15,6 % больше ( $P \leq 0,01$ ), чем в группе I, а в группе II было получено качественных эмбрионов на 6,0 % больше ( $P \leq 0,01$ ), чем в группе I. Также в группе III было получено дегенерированных эмбрионов на 15,0% меньше ( $P \leq 0,01$ ),

чем в группе I, и в группе II тот же показатель был на 12,5% меньше ( $P \leq 0,05$ ), чем в группе I. Необходимо отметить, что имеющаяся разница показателей полученных дегенерированных эмбрионов в группе III, превышающая на 2,5% аналогичный показатель в группе II, не имеет достоверных отличий. При подсчете неоплодотворенных яйцеклеток данный показатель составил: в группе I – 18,5%, в группе II – 25,9% и в группе III – 17,8%. При этом в группе II по отношению к группе I наблюдалось достоверное ( $P \leq 0,01$ ) увеличение числа неоплодотворенных яйцеклеток. Однако при сравнении данного показателя группы III с данными групп I и II достоверных отличий отмечено не было (таблица 3).

Таблица 3 – Количественные показатели эмбриосборов и оплодотворяемости яйцеклеток у полиовулировавших коров-доноров ( $X \pm Sx$ )

Группа	Показатели эмбриосборов					
	качественные эмбрионы		дегенерированные эмбрионы		неоплодотворенные яйцеклетки	
	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n
I	422/54,5	4,6±0,35	210/27,0	2,3±0,19	150/18,5	1,7±0,24
II	500/60,5	7,1±0,60*	120/14,5	1,7±0,23**	214/25,9	3,1±0,34*
III	751/70,5	9,1±0,59*(**)	128/12,0	1,5±0,16*	186/17,8	2,3±0,31

*Примечание: \* при  $P \leq 0,01$ ; \*\* при  $P \leq 0,05$  (между I, II и III);*

*(\*\*) при  $P \leq 0,05$  (между II и III).*

Таким образом, при применении однократного введения ФСГ совместно с пролонгаторами поливиниловым спиртом в группе II и полиэтиленгликолем в группе III наблюдается уменьшение количества дегенерированных эмбрионов у животных. Это в сравнении с многократным введением ФСГ в группе I свидетельствует о более равномерном росте и созревании фолликулов с образованием качественных яйцеклеток, способных к оплодотворению с последующим формированием полноценных эмбрионов на ранних стадиях развития.

В рамках настоящего исследования при изучении эмбриосборов также провели градацию качественных эмбрионов с применением шкалы оценки качества (эмбрионы отличные, хорошие, удовлетворительные, условно годные, непригодные), при этом все дегенерированные эмбрионы были признаны непригодными и подлежали выбраковке. Изучение результатов дифференцировки качественных эмбрионов в эмбриосборах в соответствии со шкалой оценки качества было необходимо в связи с тем, что для пересадки свежеполученных эмбрионов пригодны все качественные эмбрионы, а для цели сохранения эмбрионов с применением метода криоконсервации могут быть использованы эмбрионы только отличного и хорошего качества (таблица 4).

Как видно по таблице 4, количество эмбрионов отличного качества, подсчитанное в среднем по группе III (46,2%), достоверно ( $P \leq 0,01$ ) превышало общее количество таких эмбрионов в группе II (38,2%) – на 8,0%, а в группе I (23,2%) – на 23,0%, а в группе II количество таких эмбрионов было достоверно ( $P \leq 0,01$ ) больше, чем в группе I – на 15,0%. При подсчете эмбрионов хорошего качества отмечалось достоверно ( $P \leq 0,01$ ) уменьшение числа таких эмбрионов в группе III – на 9,4% и достоверное ( $P \leq 0,05$ ) меньшее количество, чем в группе II – на 3,5% в сравнении с группой I. Кроме того, при подсчете эмбрионов, пригодных к криоконсервации (отличного и хорошего качества), в группе III также отмечено достоверное ( $P \leq 0,01$ ) превышение количества таких эмбрионов, в сумме оно составило 89,9% от общего количества качественных, в сравнении с группой I (76,3%) – на 13,6%. Между группами II и III достоверных отличий зафиксировано не было.

Таблица 4 – Показатели количества качественных эмбрионов, распределенных в соответствии со шкалой оценки качества ( $X \pm Sx$ )

Группа	Качественные эмбрионы, оцененные по шкале оценки качества							
	отличные		хорошие		удовлетворительные		условно годные	
	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n
I	98/23,2	1,1±0,15	224/53,1	2,5±0,22	64/15,2	0,7±0,11	36/8,5	0,4±0,08
II	191/38,2	2,7±0,29*	248/49,6	3,5±0,38**	40/8,0	0,6±0,13	21/4,2	0,3±0,09
III	347/46,2	4,2±0,35* (*)	328/43,7	4,0±0,37*	64/8,5	0,8±0,14	12/1,6	0,2±0,05**

Примечание: \* при  $P \leq 0,01$ ; \*\* при  $P \leq 0,05$  (между I, II и III);

(\*) при  $P \leq 0,01$  (между II и III).

Таким образом, в группе III, где применяли однократное введение ФСГ совместно с пролонгатором ПЭГ, было получено наибольшее количество качественных эмбрионов, классифицированных как отличные и хорошие по сравнению с группой II, где применяли однократное введение ФСГ совместно с пролонгатором ПВС, а также с группой I, где применяли восьмикратное введение ФСГ.

Учитывая тот факт, что наиболее благоприятными стадиями развития эмбрионов с точки зрения приживляемости пересаженного эмбриона у реципиента являются поздняя морула, ранняя бластоциста и экспандированная бластоциста, был проведен подсчет их суммарного количества и сравнительная оценка этих результатов во всех трех группах. Подсчитанное в среднем по группе III (93,3 %) суммарное количество эмбрионов, находящихся на указанных стадиях, достоверно ( $P \leq 0,01$ ) превышало среднее количество таких эмбрионов в контрольной группе I (73,9) – на 19,4%.

Полученные результаты свидетельствуют о более хорошей синхронизации стадий развития эмбрионов в группе III, где применяли однократное введение ФСГ совместно с пролонгатором ПЭГ в сравнении с группой II, где применяли однократное введение ФСГ совместно с пролонгатором ПВС, а также с контрольной группой I, где применяли восьмикратное введение ФСГ.

Таким образом, в результате вышеизложенного анализа, проведенного во всех трех экспериментальных группах по показателям суммарного количества эмбрионов, находящихся на стадиях поздней морулы, ранней бластоцисты и экспандированной бластоцисты, установлено, что в группе III наблюдается наибольшее синхронное развитие эмбрионов, находящихся на указанных стадиях развития.

#### **Оценка результативности вымывания эмбрионов в зависимости от способа извлечения эмбрионов у коров-доноров**

Процедура извлечения эмбрионов является значимым технологическим этапом, так как важно без потерь вымыть из репродуктивных органов коровы-донора все эмбрионы, полученные в результате проведенных у нее стимуляции полиовуляции яичников и осеменения. Число эмбрионов, потерянных в процессе извлечения, прямо указывает на то, что их утрата и недобор обусловлены техническим исполнением процедуры вымывания, а также конструктивными особенностями и техническими характеристиками применяемого оборудования.

В настоящем исследовании впервые проведен анализ эффективности по показателям количества извлеченных эмбрионов, оцениваемой у коров-доноров при применении наиболее распространенных в ветеринарной практике вариантов исполнения общепринятых способов и оборудования для извлечения эмбрионов в сравнении с новыми разработками аналогичного назначения.

Для проведения данного исследования были отобраны коровы-доноры (n=833) с положительной полиовуляторной реакцией на введенные гонадотропины.

В ходе эксперимента были использованы стандартные двух- и трехканальный катетеры Фолея. Также в рамках эксперимента были использованы известные способы извлечения эмбрионов у коров-доноров: гравитационный (самотека), шприцевания (порционный), комбинированный (смешанный). Кроме того, был применен новый способ – электронасосный. При этом каждый из перечисленных способов был применен в двух вариантах исполнения.

В восьми сформированных группах у коров-доноров применяли оборудование и способы для извлечения эмбрионов в следующих вариантах исполнения.

В группе I (n = 126) использовали гравитационный (самотека) способ с двухканальным катетером Фолея. В группе II (n = 83) – гравитационный (самотека) способ с трехканальным катетером Фолея. В группе III (n = 174) использовали способ шприцевания с двухканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл, при котором выполняют одним и тем же шприцем однократную подачу порции промывочной жидкости через катетер Фолея в матку животного с незамедлительным однократным отсосом этой промывочной жидкости вместе с эмбрионами, после этого шприц отсоединяют от катетера Фолея и сразу подсоединяют другой шприц с новой порцией промывочной жидкости, которую вводят также однократно, и также незамедлительно этим же шприцем осуществляют однократный отсос промывочной жидкости вместе с эмбрионами. Описанную процедуру осуществляют 5 – 8 раз с заменой шприца для подачи новой порции промывочной жидкости. В группе IV (n = 54) использовали способ шприцевания с двухканальным катетером Фолея и одним шприцем Люэра объемом 60 мл, при котором к двухканальному катетеру Фолея подсоединяют один шприц Люэра и выполняют при помощи него подачу и отсос одной и той же порции промывочной жидкости, повторяя процедуру «подача – отсос» 5 – 8 раз без отсоединения этого шприца. В группе V (n = 112) использовали комбинированный способ с двухканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл. В группе VI (n = 85) – комбинированный способ с трехканальным катетером Фолея и несколькими шприцами Люэра (5 – 8 шт.) объемом 60 мл. В группе VII (n = 63) использовали электронасосный способ с двухканальным катетером Фолея (электронасосный описан в патенте РФ на полезную модель № 156768). В группе VIII (n = 136) – электронасосный способ с трехканальным катетером Фолея (электронасосный описан в патенте РФ на полезную модель № 156768).

После проведения количественного анализа полученных эмбриосборов в исследуемых группах I – VIII было установлено, что наибольшее количество извлеченных эмбрионов зафиксировано в группе VIII, в которой для проведения процедуры извлечения эмбрионов был применен новый электронасосный способ и стандартный трехканальный катетер Фолея. В данной группе показатель количества извлеченных эмбрионов составил 9,2 шт. (88,8%) из расчета на одного донора. В группах I – VII наблюдалась следующая тенденция к снижению количества извлеченных эмбрионов по сравнению с группой VIII.

Как видно по таблице 1, количество извлеченных эмбрионов из расчета на одного донора, которое было определено в группе I, было достоверно ( $P \leq 0,01$ ) ниже – на 2,4 шт. (19,8%) по сравнению с группой VIII, при этом на равнозначную величину количество эмбрионов, потерянных в процессе извлечения, было выше. Очевидно, что к снижению показателя количества извлекаемых эмбрионов в группе I в сравнении с группой VIII приводило применение гравитационного способа извлечения эмбрионов и двухканального катетера Фолея.

Схожий результат ( $P \leq 0,01$ ), демонстрирующий снижение количества извлеченных эмбрионов (на 2,5 шт., или 19,6%) отмечался в группе II, где применялись гравитационный способ извлечения эмбрионов и трехканальный катетер Фолея, что в

сравнении с группой VIII также не оказало положительного влияния на результативность вымывания эмбрионов.

В группах III и IV в сравнении с группой VIII количество извлеченных эмбрионов снижалось ( $P \leq 0,01$ ) из расчета на одного донора на 2,5 шт. (16,0%) и на 2,8 шт. (20,0%) соответственно (таблица 5).

Таблица 5 – Сводная таблица сравнительной эффективности результативности вымывания эмбрионов в зависимости от метода извлечения и суперовуляторной реакции яичников коров–доноров эмбрионов ( $X \pm Sx$ )

Группа	Кол-во доноров, n	Общее число овуляций		Получено зародышей		Средняя потеря зародышей	
		всего, n	на донора, n	всего, n/%	на донора, n	всего, n/%	на донора, n
I	126	1243	9,9±0,524	858/69,0	6,8±0,411**	385/31,0	3,1±0,313
II	83	802	9,7±0,594	555/69,2	6,7±0,454**	247/30,8	3,0±0,291
III	174	1607	9,3±0,452	1170/72,8	6,7±0,344**	437/27,2	2,5±0,251
IV	54	500	9,3±0,756	344/68,8	6,4±0,52**	56/31,2	3,0±0,333
V	112	1049	9,4±0,532	780/74,4	7,0±0,449**	269/25,6	2,4±0,255
VI	85	857	10,1±0,618	644/75,1	7,6±0,512*	213/24,9	2,5±0,366
VII	63	673	10,5±0,809	546/81,1	8,5±0,691	127/18,9	2,0±0,331
VIII	131	1407	10,2±0,534	1249/88,8	9,2±0,502	158/11,2	1,2±0,112

Примечание: – \* при  $P \leq 0,05$ ; \*\* при  $P \leq 0,01$  (по отношению к группе VIII).

Кроме того, как видно по таблице 1, в группе IV отмечен самый низкий результат по количеству извлеченных эмбрионов – 6,4 шт. (68,8%) на одного донора среди всех экспериментальных групп I – VIII, что одновременно свидетельствует о наибольшем проценте потерь эмбрионов (31,2%) среди этих групп.

Применительно к комбинированному способу, исполненному в группах V и VI с использованием катетеров Фолея (двухканальный – группа V, трехканальный – группа VI), количество извлеченных эмбрионов из расчета на одного донора в группе V было ниже ( $P \leq 0,01$ ) на 2,2 шт. (14,4%), а в группе VI – на 1,6 шт. (13,7%) в сравнении с группой VIII (таблица 1). В свою очередь, на аналогичные величины в данных группах было отмечено увеличение количества потерянных эмбрионов в сравнении с группой VIII. Следовательно, по эффективности, оцениваемой в отношении показателя количества извлеченных эмбрионов, комбинированный способ уступает электронасосному способу, примененному в группе VIII.

В группе VII, где был применен электронасосный способ и двухканальный катетер Фолея, из расчета на одного донора количество извлеченных эмбрионов было ниже на 0,7 шт. (7,7%) в сравнении с группой VIII (таблица 1), в которой был также применен электронасосный способ, но в сочетании с трехканальным катетером. Однако, несмотря на полученные показатели количества извлеченных эмбрионов в группе VIII в сравнении с группой VII, достоверных отличий отмечено не было.

Таким образом, сравнительная оценка эффективности способов, применяемых для извлечения эмбрионов у коров-доноров, показала значительное преимущество электронасосного способа перед общепринятыми способами (гравитационный, шприцевания и комбинированный), предназначенными для извлечения эмбрионов из репродуктивных органов коровы-донора. Так, количество извлеченных эмбрионов при применении электронасосного способа составило 85,0% (в среднем в группах VII и VIII), что выше на 15,9% в сравнении с гравитационным способом, при использовании которого количество извлеченных эмбрионов составило 69,1% (в среднем в группах I и II). Рассматриваемый показатель количества извлеченных эмбрионов при применении

электронасосного способа (в среднем – 85,0% в группах VII и VIII) был выше на 14,2% в сравнении с применением способа шприцевания, при котором количество извлеченных эмбрионов составило 70,8% (в среднем, в группах III и IV). Вышеупомянутый показатель среднего значения эффективности электронасосного способа (85,0%) был выше на 12,2% в сравнении с использованием комбинированного способа, при котором количество извлеченных эмбрионов составило 74,8% (в среднем в группах V и VI).

Сравнительная оценка эффективности работы двухканального и трехканального катетеров Фолея, каждый из которых был применен в экспериментальных группах в сочетании с новым электронасосным способом (в группах VII и VIII), а также в сочетании с общепринятыми способами извлечения эмбрионов у коров-доноров (гравитационный – в группах I и II, комбинированный – в группах V и IV), показала достоверное отсутствие различий по показателям количества извлеченных эмбрионов, и, соответственно, по показателям количества потерянных эмбрионов в процессе их извлечения. Таким образом, в отношении разных модификаций катетеров Фолея (двухканальный и трехканальный) можно констатировать, что, несмотря на конструктивные различия, эти катетеры имели схожую эффективность работы.

### **Оценка применения устройства для аппликации эмбрионов крупного рогатого скота при эмбриотрансфере**

Проведено исследование по определению эффективности применения устройств для пересадки в репродуктивные органы телок-реципиентов нативных или замороженно-оттаянных эмбрионов.

В группе I (n=232) трансплантацию 126 нативных эмбрионов проводили в среднюю треть рога матки с использованием катетера модификации Кассу. В верхнюю треть рога матки пересадку эмбрионов не проводили по причине конструктивных особенностей катетера. Из 126 пересадок нативных эмбрионов реципиентам стельность диагностировали у 58 (46,0%) голов, при этом на 30-й день после процедуры пересадки, стельность при повторной проверке на 60-й день сохранилась у 55 (43,7%) реципиентов. В этой группе также провели пересадку 51 нативного эмбриона с использованием устройства для аппликации эмбрионов в среднюю треть рога матки. Необходимо отметить, что на 30-й день стельность была диагностирована у 24 (47,1%) реципиентов. При повторном обследовании на 60-й день стельность отмечалась у 22 (43,1%) животных. Устройством для аппликации эмбрионов также была проведена процедура пересадки телкам-реципиентам 55 нативных эмбрионов в верхнюю треть рога матки. На 30-й день стельность была диагностирована у 38 (69,1%) реципиентов, а на 60-й день при повторном обследовании стельность была подтверждена только у 35 (63,6%) животных (таблица 6).

Таблица 6 – Сравнительная оценка эффективности различных методов трансплантации нативных эмбрионов в группе I

Группа	Тип инструмента	Место локализации эмбриона в роге матки	Показатели		
			кол-во гол. – пересадок, n	стельных голов на 30-й день, %	стельных голов на 60-й день, %
1	Катетер модификации Кассу	Средняя треть	126	46,03±4,48	43,65±4,45
2	Устройство для аппликации эмбрионов	Средняя треть	51	47,06±7,13	43,14±7,07
3	Устройство для аппликации эмбрионов	Верхняя треть	55	69,09±6,35 *(*)	63,64±6,61*(*)

Примечание: \* при  $P \leq 0,01$  – между I и III; (\*)  $P \leq 0,05$  – между II и III.

В группе II (n=309) при использовании стандартного катетера модификации Кассу провели трансплантацию 198 замороженно-оттаянных эмбрионов в среднюю треть рога матки. Из 198 проведенных пересадок эмбрионов реципиентам показатель стельности на 30-й день составил 37,9%. При повторной диагностике на 60-й день стельность была зафиксирована у 71 (35,9%) реципиента. В этой же группе при использовании устройства для аппликации эмбрионов было проведено 42 процедуры трансплантации замороженно-оттаянных эмбрионов в среднюю треть рога матки. На 30-й день стельность установлена у 16 (38,1%) реципиентов, а при повторной процедуре на 60-й день - только лишь у 14 (33,3%) голов. При использовании устройства для аппликации эмбрионов процедура трансплантации замороженно-оттаянных эмбрионов была проведена 69 реципиентам в верхнюю треть рога матки. При этом наступление стельности на 30-й день было зарегистрировано у 42 (60,9%) реципиентов и на 60-й день подтверждено у 40 (58,0%) голов (таблица 7).

Таблица 7 – Сравнительная оценка эффективности различных методов трансплантации замороженно-оттаянных эмбрионов группы II

Группа	Тип инструмента	Место локализации эмбриона в роге матки	Показатели		
			кол-во гол. –пересадок, n	стельных голов на 30-й день, %	стельных голов на 60-й день, %
1	Катетер модификации Кассу	Средняя треть	198	37,37±3,46	35,86±3,43
2	Устройство для аппликации эмбрионов	Средняя треть	42	38,10±7,68	33,33±7,45
3	Устройство для аппликации эмбрионов	Верхняя треть	69	60,87±5,96* (* )	57,97±6,03 *(* )

Примечание: \*при  $P \leq 0,01$  – между I и III; (\* )  $P \leq 0,05$  – между II и III.

На основании полученных данных установлено, что результаты по трансплантации эмбрионов с использованием катетеров модификации Кассу и устройства для аппликации эмбрионов, перенесенных в среднюю треть рога матки, достоверных отличий не имели. При этом, показатели стельности, установленные на 30-й день при трансплантации нативных и замороженно-оттаянных эмбрионов катетером модификации Кассу и для аппликации эмбрионов, составили ( $P \leq 0,05$ ) 46,0% и 47,1% и ( $P \leq 0,05$ ) 37,4 и 38,1% соответственно.

Полученные данные также свидетельствуют о том, что при трансплантации нативных эмбрионов в верхнюю треть рога матки реципиента показатель стельности, диагностированной на 30-й день, достоверно ( $P \leq 0,05$ ) возрастает до 69,1% по сравнению с пересадкой в среднюю треть рога матки катетерами модификации Кассу (47,1%). Схожая закономерность наблюдалась и при пересадке замороженно-оттаянных эмбрионов, где показатели составили 60,9% против 37,4% ( $P \leq 0,05$ ) соответственно.

В процессе проведенных исследований, в период с 30-го по 60-й день, у реципиентов были отмечены незначительные потери стельностей. Эмбриональная гибель зафиксирована во всех группах реципиентов и не зависела от применяемых методов пересадки, а также места позиционирования эмбриона в роге матки. При этом самый высокий уровень стельности у реципиентов отмечен в группе II, где при использовании устройства для аппликации эмбрионов пересадку нативных эмбрионов проводили в верхнюю треть рога матки. Таким образом, разработанное устройство для аппликации эмбрионов позволяет осуществить адресную доставку эмбриона с уровнем приживляемости на 30-й день после пересадки нативных и замороженно-оттаянных эмбрионов 69,1 и 60,9% соответственно.

## **Экономическая эффективность внедрения комплекса усовершенствованных способов и конструктивно-технологических решений, применяемых в процессе технологических этапов трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота**

Проведенный экономический анализ по определению эффективности внедрения усовершенствованных способов и оборудования применяемых в технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, позволяет определить понесенные затраты на проводимые мероприятия, рассчитать себестоимость получаемого качественного эмбриона, стельности и как следствие, теленка-трансплантанта. В процессе настоящего исследования нами был проведен расчет экономической эффективности получения от коровы-донора одного качественного эмбриона и стоимости подтвержденной стельности у реципиента, полученных по классической технологии трансплантации эмбрионов и проведенной технологии с внедренными в нее усовершенствованными способами и оборудованием, предложенными нами в процессе исследования. Результаты исследований показали, что при использовании предлагаемых нами инноваций себестоимость качественного эмбриона составила 2795,36 рубля, а себестоимость подтвержденной стельности при пересадке нативного эмбриона – 3998,80 рубля и замороженно-оттаянного – 4237,37 рубля, а при использовании классической технологии аналогичные показатели были равны – 5425,15 рубля, 7030,74 рубля и 7438,90 рубля соответственно. Полученные результаты наглядно демонстрируют, что экономическая эффективность предлагаемых авторских разработок позволяет снизить себестоимость получения одного качественного эмбриона и в последующем стельности в 1,8 – 2 раза.

### **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Полученные результаты проведенных исследований позволяют сделать следующие выводы:

1. Разработанный способ отбора коров-доноров с постпроцессинговой морфометрией эхограмм репродуктивных органов позволяет до момента введения экзогенных гонадотропинов объективно оценить функциональное состояние яичников коров и прогнозировать эмбриопродуктивность у животных, отбираемых в качестве доноров эмбрионов;

2. Усовершенствованный способ индукции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов при однократном введении препарата ФСГ с пролонгатором полиэтиленгликоль позволяет оптимизировать процедуру стимуляции полиовуляции, индуцировать положительный полиовуляторный ответ яичников у 95,4% обрабатываемых животных, увеличить в расчете на одного донора: число желтых тел – до 15,0 шт.; число зародышей в получаемых эмбриосборах – до 12,8 шт.; выход качественных эмбрионов – до 70,5 %; суммарное число эмбрионов на таких стадиях, как поздняя морула, ранняя бластоциста и экспандированная бластоциста, – до 93,3%;

3. Разработанная установка для нехирургического извлечения эмбрионов у животных в сочетании с трехканальным катетером, используемые в процессе проведения процедуры электронасосным способом, позволяет извлекать из репродуктивных органов коров-доноров до 88,8% имеющихся в матке зародышей ( $P \leq 0,01$ );

4. Разработанное устройство для аппликации эмбрионов позволяет осуществлять адресную доставку эмбриона с уровнем приживляемости, подтвержденной на 30-й день после пересадки, интактных эмбрионов  $69,09 \pm 6,35$  и замороженно-оттаянных эмбрионов –  $60,87 \pm 5,96$  ( $P \leq 0,01$ ).

5. Проведенный расчет экономической эффективности показал, что при интеграции на технологических этапах трансплантации эмбрионов предлагаемых нами инноваций себестоимость качественного эмбриона составит 2795,36 рубля, себестоимость подтвержденной стельности при пересадке нативного эмбриона – 3998,80 рубля и замороженно-оттаянного – 4237,37 рубля, что в 1,8 – 2 раза ниже себестоимости получения аналогичных показателей при применении в процессе технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота классических способов и оборудования.

## РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ

1. Отбор животных в качестве доноров с высокой эмбриопродуктивностью рекомендуется проводить с использованием способа отбора коров-доноров с постпроцессинговой морфометрией эхограмм репродуктивных органов;
2. Повышение числа положительно отреагировавших на индукции полиовуляции коров, отобранных в качестве доноров, и получения от них максимального количества качественных эмбрионов рекомендуется осуществлять с использованием способа индукции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов при однократном введении препарата ФСГ с пролонгатором полиэтиленгликоль;
3. Извлечение из репродуктивных органов коров-доноров максимального числа эмбрионов рекомендуется реализовывать с использованием установки для нехирургического извлечения эмбрионов у животных совместно с трехканальным катетером со спиральным дистальным концом подающего канала;
4. Повышение уровня приживляемости эмбрионов за счет адресной доставки в верхнюю треть рога матки рекомендуется применять устройство для аппликации эмбрионов;
5. Для повышения экономической целесообразности применения технологии трансплантации эмбрионов рекомендуется использовать усовершенствованные способы и оборудование, предлагаемые в нашем исследовании.

### ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В результате проведенных исследований стало возможным сравнение эффективности различных способов и оборудования, применяемых в классической технологии трансплантации эмбрионов с усовершенствованными способами и оборудованием, предложенными нами на таких технологических этапах, как отбор коров-доноров, индукция полиовуляции, извлечение эмбрионов у коров-доноров и пересадка эмбрионов телкам-реципиентам.

Интеграция данных методов и конструктивно-технологических решений в состав технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, является экономически обоснованной, что нашло свое подтверждение в полученных результатах диссертационной работы.

Вышесказанное создает перспективу дальнейших исследований применения биотехнологических методов ускоренного воспроизводства крупного рогатого скота, а также создает предпосылки для усовершенствования применяемых способов и оборудования на технологических этапах трансплантации эмбрионов у других видов сельскохозяйственных животных.

### СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Статьи в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ:*

1. **Бригада, А.В.** Влияние факторов технического характера на результат приживляемости трансплантированных эмбрионов крупного рогатого скота / А.В. Бригада, О.А. Скачкова // Ветеринария и кормление, 2020. – № 5. – С. 4 – 6.
2. **Бригада, А.В.** Оценка применения устройства для аппликации эмбрионов крупного рогатого скота при эмбриотрансфере / А.В. Бригада, В.И. Сорокин, С.Н. Ковальчук // Ветеринария и кормление, 2018. – № 3. – С. 27 – 29.
3. **Бригада, А.В.** Результативность извлечения эмбрионов у коров-доноров в зависимости от модификации трехканальных катетеров / А.В. Бригада // Ветеринария и кормление, 2018. – № 5. – С. 18 – 20.
4. **Бригада, А.В.** Факторы, влияющие на реакционный ответ яичников коров-доноров эмбрионов при введении экзогенных гонадотропинов (ОБЗОР) / А.В. Бригада, С.А. Бурсаков, О.А. Скачкова, В.И. Сорокин, С.Н. Ковальчук // Достижения науки и техники АПК, 2018. – Т 36. – № 6. – С. 56 – 63.
5. Глазко, Т.Т. Взаимосвязь геномной нестабильности и эмбриопродуктивности у коров-доноров эмбрионов / Т.Т. Глазко, Г.Ю. Косовский, Д.В. Попов, **А.В. Бригада** // Ветеринария Кубани, 2015. – № 6. – С. 9 – 11.

6. Ковальчук, С.Н. Достижения ФГБНУ ЦЭЭРБ в области ветеринарной медицины и репродуктивных биотехнологий / С.Н. Ковальчук, О.А. Скачкова, **А.В. Бригида** // Ветеринария и кормление, 2020. – № 2. – С. 25 – 28.

7. Ковальчук, С.Н. Усовершенствование технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота в ФГБНУ «Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий» / С.Н. Ковальчук, О.А. Скачкова, **А.В. Бригида** // Ветеринария и кормление, 2018. – № 2. – С. 51 – 54.

8. Макаров, А.В. Эффективность пересадки эмбрионов у телок-реципиентов с высоким адаптивным потенциалом / А.В. Макаров, **А.В. Бригида**, В.И. Сорокин, О.А. Скачкова, С.Н. Ковальчук // Ветеринария и кормление, 2018. – № 4. – С. 25 – 27.

9. Скачкова, О.А. Проблемные вопросы результативности технологии трансплантации эмбрионов при применении у крупного рогатого скота / О.А. Скачкова, **А.В. Бригида**, С.Н. Ковальчук // Ветеринария и кормление, 2020. – № 3. – С. 46 – 49.

10. Сорокин, В.И. Результативность вымывания эмбрионов при индукции суперовуляции у коров-доноров / В.И. Сорокин, **А.В. Бригида** // Ветеринария и кормление, 2018. – № 4. – С. 30 – 32.

*В изданиях, включенных в базы Scopus:*

11. **Бригида, А.В.** Прогнозирование эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников // А.В. Бригида, В.И. Сорокин, С.Н. Ковальчук, К.С. Пантюх, И.В. Рукин, К.А. Рожин // Сельскохозяйственная биология, 2018. – Т. 53. – № 4. – С. 753 – 761.

*Перечень патентов на изобретения и полезные модели:*

12. Способ индукции суперовуляции у коров-доноров эмбрионов с пролонгированием действия гипофизарных гонадотропинов: патент РФ на изобретение № 2617042, Рос. Федерация: МПК А61D7/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — №2617042, опубл. от 21 июня 2017г.

13. Трехканальный катетер для нехирургического извлечения эмбрионов у животных: пат. 160216 Рос. Федерация: МПК А61D19/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015138768/13; заявл. 11.09.15; опубл. 10.03.16, Бюл. № 7. — 2 с.: ил.

14. Трехканальный катетер, предназначенный для нехирургического извлечения эмбрионов у животных, со спиральным дистальным концом подающего канала: пат. 160215 Рос. Федерация, МПК А61D19/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015138769/13; заявл. 11.09.15; опубл. 10.03.16, Бюл. №7. — 2 с.: ил.

15. Установка для нехирургического извлечения эмбрионов у животных: пат. 156767 Рос. Федерация: МПК А61D9/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015131973/13; заявл. 31.07.15; опубл. 20.11.15, Бюл. № 32. — 2 с.: ил.

16. Устройство для аппликации эмбрионов крупного рогатого скота: пат. 154919 Рос. Федерация, МПК А61D19/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015113305/13; заявл. 10.04.15; опубл. 20.03.16, Бюл. № 08. — 2 с.: ил.

17. Устройство, обеспечивающее непрерывность циклов циркуляции промывочной жидкости при проведении процедуры вымывания эмбрионов из матки животного с использованием системы для нехирургического извлечения эмбрионов с замкнутым контуром: пат. 156768 Рос. Федерация: МПК А61D19/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015131972/13; заявл. 31.07.15; опубл. 20.11.15, Бюл. № 32. — 2 с.: ил.

18. Устройство для сбора эмбрионов животных: пат. 153867 Рос. Федерация: МПК А61D19/02/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2015116725/13; заявл. 30.04.15; опубл. 10.08.15, Бюл. № 22. — 2 с.: ил.

19. Фармацевтическая композиция с пролонгированным действием гонадотропинов для проведения индукции суперовуляции у самок млекопитающих: патент РФ на изобретение № 2633079 Рос. Федерация: МПК А61D7/00/ Косовский Г. Ю., Попов Д.В., **Бригида А.В.**; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2633079, опубл. от 21 июня 2017г.

20. Способ прогнозирования ответной реакции яичников коров-доноров эмбрионов на стимуляцию полиовуляции экзогенными гонадотропинами: патент РФ на изобретение № 2699318 Рос. Федерация: МПК А01К 67/02 (2006.01) **Бригида А. В.**, Скачкова О.А., Ковальчук С.Н., Сорокин В.И., Рожин К.А.; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2018146101, опубл. от 25 декабря 2018 г.

21. Способ отбора коров-доноров эмбрионов в процессе проведения технологии трансплантации эмбрионов: патент РФ на изобретение № 2699519 Рос. Федерация: МПК А01К 67/02 (2006.01) **Бригида А.В.**, Скачкова О.А., Ковальчук С.Н., Сорокин В.И., Рожин К.А.; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2018146103, опубл. от 25 декабря 2018 г.

22. Способ прогнозирования приживляемости эмбриона у коровы-реципиента в процессе проведения технологии трансплантации эмбрионов: патент РФ на изобретение № 2703104 Рос. Федерация: МПК А61D 19/04 (2006.01) **Бригида А.В.**, Скачкова О.А., Ковальчук С.Н., Васильев А.А., Егунова А.В., Сорокин В. И., Макаров А.В.; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2019110073, опубл. от 05 апреля 2019 г.

23. Способ отбора коров-реципиентов в процессе проведения технологии трансплантации эмбрионов: патент РФ на изобретение № 2703943 Рос. Федерация: МПК А61D 19/04 (2006.01) **Бригида А.В.**, Скачкова О.А., Ковальчук С.Н., Васильев А.А., Егунова А.В., Сорокин В.И., Макаров А.В.; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий" (ФГБНУ ЦЭЭРБ). — № 2019110074, опубл. от 05 апреля 2019 г.

*Статьи в других изданиях:*

24. **Бригида, А.В.** Приживляемость эмбрионов у крупного рогатого скота в зависимости от иммунологической реакции реципиента / А.В. Бригида, А.Ж. Асанов, А.Ю. Мальчевский // Материалы международной научно-практической конференции «Животноводство и кормопроизводство: теория, практика и инновация» Том 1, Алматы 6-7 июня 2013. – С. 132 – 135.

25. **Бригида, А.В.** Прогнозирование эмбриопродуктивности у потенциальных коров-доноров эмбрионов / А.В. Бригида // «Биотехнология в растениеводстве,

животноводстве и ветеринарии»: 18-я Всероссийская конференция молодых учёных (Москва, 19-20 апреля 2018 г., ФГБНУ ВНИИСБ), сборник тезисов. – С. 214 – 215.

26. **Бригада, А.В.** Сравнительная оценка эмбриопродуктивности коров-доноров мясного направления, в зависимости от породы крупного рогатого скота / А.В. Бригада, С.Г. Канатбаев, У.Ж. Жумагалиева, А.К. Джубаниязова // Материалы международной научно-практической конференции Современные интеграционные приоритеты науки: от исследований до инновации», посвященной 50-летию Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана Том 1. Уральск 2013. – С. 218 – 219.

27. **Бригада, А.В.** Эффективность элюирования зародышей у коров-доноров / А.В. Бригада // Актуальная биотехнология., 2018. – №3 (26) – С. 56.

28. **Бригада, А.В.** Структурные особенности эмбрионов крупного рогатого скота в зависимости от направления продуктивности коров-доноров / А.В. Бригада, В.И. Сорокин, С.Г. Канатбаев // В сборнике: Актуальные проблемы незаразной патологии животных Сборник материалов международной научно-практической конференции, 2014. – С. 38 – 43.

29. Нурманалиева С.А. Қазақтың ақ бас тұқымды сиыр-доноларының суперовуляция көрсекіштеріне әртүрлі факторлардың әсері небайланысты эмбриондарды алу / С.А. Нурманалиева, **А.В. Бригада**, А.Б. Ахметалиева // Материалы международной научно-практической конференции Современные интеграционные приоритеты науки: от исследований до инновации», посвященной 50-летию Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана Том 1. Уральск 2013. – С. 90 – 93.

30. **Brigida A.** Comparative evaluation of the efficiency of poliovulation induction in donor cows using “FSH-super” drug with various injection schemes / A. Brigida, O. Skachkova, O. Vykova, V. Sorokin // Atlantis Press, 2019. – P. 491 – 497.

*Методические руководства и рекомендации:*

31. Зинуллин, А.З. Рекомендации по трансплантации эмбрионов молочного скота / А.З. Зинуллин, С.Г. Канатбаев, **А.В. Бригада**. – Уральск: РГКП «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», 2011. – 22 с.

32. Бозымов, К.К. Методические рекомендации по внедрению биотехнологических методов при совершенствовании воспроизводства мясного скота в условиях Западно-Казахстанской области / К.К. Бозымов, Е.Г. Насамбаев, А.Н. Баяхов, А.Б. Букенбаев, Р.С. Садыков, А.Б. Ахметалиева, А.К. Султанова, Е.А. Батыргалиев, **А.В. Бригада**, Д.А. Дуимбаев // РГКП ЗКАТУ им. Жангир хана. Уральск, 2014. – 50 с.

33. Бозымов, К.К. Атлас ультразвуковой анатомии органов воспроизводства коров и телок казахской белоголовой породы скота / К.К. Бозымов, Е.Г. Насамбаев, А.Н. Баяхов, А.К. Султанова, Е.А. Батыргалиев, **А.В. Бригада** // РГКП ЗКАТУ им. Жангир хана. Уральск, 2014. С. – 40 с.

34. Попов Д.В., **Бригада А.В.**, Косовский Г.Ю. Руководство по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – М.: КлубПринт, 2017. – 55 с.

35. Сорокин, В.И. Руководство по внедрению репродуктивных технологий в воспроизводство крупного рогатого скота: практические рекомендации / В.И. Сорокин, **А.В. Бригада**, Д.А. Сюсюра, О.А. Скачкова, А.П. Жуков, О.В. Симонова - Оренбург: Издательский центр ОГАУ, 2019. – 112 с.