

23 Gilmutdinov, R. Infectious diseases of exotic and wild animals [Text] / R. Gilmutdinov [et al.] // M. Kolos. -2010. -P.666.

24 Denning, D. Invasive aspergillosis [Text] /D. Denning [and etc.] // Clin. Infect. Dis.- 1998. - Vol. 26, No 4. - P. 781-803.

25 Denning, D. Chronic forms of pulmonary aspergillosis [Text] /D. Denning [and etc.] // Clin. Microbiol. Infect. - 2001.No 7 (Suppl. 2). – P. 25-31.

26 Latge, J. Aspergillus fumigatus and aspergillosis [Text] /Latge, J. [and etc.] // Clinical Microbiol. Rev. – 1999. – Vol. 12, No 2. – P. 310-350.

РЕЗЮМЕ

В статье представлены результаты наблюдения клинического проявления и патоморфологического исследования спонтанно заболевших аспергиллезом 4 трупов взрослых беркутов и 8 индюков. Нами было проведено полное патологоанатомическое вскрытие по методу Шора. Диагноз устанавливали комплексно на основании анализа анамнестических данных и результатов патоморфологического исследования. Установлено, что в органах и тканях (в легких, воздухоносных мешках, печени и на серозных оболочках) образуются множественные гранулемы, в центре которых находилось значительное количество серозно-фибринозного экссудата, обильно инфильтрированного гистиоцитами, лимфоцитами, по периферии расположились лимфоциты, псевдоэозинофильные, плазматические клетки и фибробласты. В центре зрелых аспергиллезных гранул развиваются выраженные некротические изменения.

Гистологическое исследование проводилось по общепринятым методикам. Были взяты кусочки органов фиксированных в 10%-ном растворе нейтрального формалина. Большую часть материала заливали в парафин по общепринятой методике. Срезы органов приготовлены на полуавтоматизированном микротоме HEOTIOM ERM 3100 (Австралия) окрашивались гематоксилин-эозином с последующим исследованием под различным увеличением микроскопа и фотографированием с помощью цифровым микроскопом «LEVENHUK D870T». Для выявления грибка гистологические срезы окрашивали реактивом Шиффа.

УДК 619:636.2

DOI 10.52578/2305-9397-2023-3-1-108-117

МРНТИ 68.41.49;68.39.29

Исимов А. М., PhD естественные науки, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0002-0486-0054>
НАО«Актюбинский региональный университет им. К.Жубанова», г.Актобе,
пр. А. Молдагуловой 34, 030000, Казахстан, Aissimov@zhubanov.edu.kz

Баянтасова С. М., кандидат ветеринарных наук, и.о.доцента, <https://orcid.org/0000-0001-6616-0179>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», 090009
улица Жангир хана 51, Уральск., Республика Казахстан, bayantasova@mail.ru

Саржигитова А. Т., магистр естественных наук, <https://orcid.org/0000-0002-0394-4053>

НАО«Актюбинский региональный университет им. К. Жубанова», г.Актобе,
пр. А.Молдагуловой 34, 030000, Казахстан, asilay_94.94@mail.ru

Кемалова Н.К., магистр естественных наук, <https://orcid.org/0000-0002-1507-7241>

НАО«Актюбинский региональный университет им. К.Жубанова», г.Актобе,
пр. А.Молдагуловой 34, 030000, Казахстан, knk@bk.ru

Утарбаева Н. А., PhD, <https://orcid.org/0000-0003-0843-8376>

НАО«Актюбинский региональный университет им. К. Жубанова», г.Актобе,
пр. А. Молдагуловой 34, 030000, Казахстан, asilay_94.94@mail.ru

Кырыкбаева Е. Э., магистр ветеринарных наук, <https://orcid.org/0009-0001-8232-7909>

НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», 090009
улица Жангир хана 51, Уральск., Республика Казахстан, ualhanova_erkejan@mail.ru

Issimov A. M., PhD in Natural Sciences, **the main author**, <https://orcid.org/0000-0002-0486-0054>
NJSC «K. Zhubanov Aktobe Regional University», Aktobe, Ave. A.Moldagulova 34, 030000, Kazakhstan, Aissimov@zhubanov.edu.kz

Bayantassova S. M., candidate of veterinary sciences, Acting Associate Professor, <https://orcid.org/0000-0001-6616-0179>

NJSC "West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan", Uralsk, st Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, bayantasova@mail.ru

Sarzhigitova A. T., Master of Natural Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-0394-4053>

NJSC «K. Zhubanov Aktobe Regional University», Aktobe, Ave. A.Moldagulova 34, 030000, Kazakhstan, asilay_94.94@mail.ru

Kemalova N.K., Master of Natural Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-1507-7241>

NJSC «K. Zhubanov Aktobe Regional University», Aktobe, Ave. A.Moldagulova 34, 030000, Kazakhstan, knk@bk.ru

Utarbayeva N. A., PhD, <https://orcid.org/0000-0003-0843-8376>

NJSC «K. Zhubanov Aktobe Regional University», Aktobe, Ave. A.Moldagulova 34, 030000, Kazakhstan, asilay_94.94@mail.ru

Kyrykbayeva Y. E., Master in Veterinary Science, <https://orcid.org/0009-0001-8232-7909>

NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir Khan», 090009 Zhangir Khan Street 51, Uralsk, Republic of Kazakhstan, ualhanova_erkejan@mail.ru

ЭКСТРАКОРПОРАЛЬНОЕ ОПЛОДОТВОРЕНИЕ У КАЗАХСКОГО БЕЛОГОЛОВОГО СКОТА IN VITRO FERTILIZATION IN KAZAKH WHITE-HEADED CATTLE

Аннотация

Технологии экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) имеют большой потенциал в сохранении исчезающих видов. В настоящем исследовании был проведен эксперимент по ЭКО, чтобы оценить, подходят ли репродуктивные технологии для казахского белоголового скота с целью сохранения этой породы, популяция которой резко сократилась за последние тридцать лет. Репродуктивные характеристики казахских белоголовых коров сравнивались с коровами породы Ангус Аберден. Были проведены сеансы трансвагинального ультразвукового забора яйцеклеток с последующим получением эмбрионов in-vitro, переносом эмбрионов и диагностикой беременности. От пятидесяти животных-доноров казахской белоголовой породы было аспирировано 2585 ооцитов после шести сеансов забора яйцеклеток. Тысяча восемьсот семьдесят шесть (72,5%) ооцитов были отобраны для созревания и в дальнейшем оплодотворены. На четвертый день после оплодотворения количество расщепленных эмбрионов составило 720 (38,3% от оплодотворенных ооцитов). Из этих расщепленных эмбрионов 56 (7,5%) развились до стадии поздней морулы/бластоцисты на седьмой день после оплодотворения, в среднем 1,12 эмбриона на одно животное-донора. Беременность была обнаружена у 12 реципиентов; 4 здоровых. На сегодняшний день родилось 4 здоровых теленка. Результаты нашего исследования показали эффективность репродуктивных технологий в сохранении исчезающего казахского белоголового скота. Результаты данного отчета расширят знания о репродуктивных характеристиках домашних животных, находящихся под угрозой исчезновения, и помогут разработать сложные репродуктивные протоколы для животных с уникальными репродуктивными механизмами.

ANNOTATION

In vitro fertilization (IVF) technologies have great potential in the conservation of endangered species. In the present study, an IVF experiment was conducted to assess whether reproductive technologies are suitable for the Kazakh white-headed cattle to conserve this breed, whose population has declined dramatically over the past thirty years. The reproductive performance of Kazakh white-headed cows was compared with cows of the Angus Aberdeen breed. Sessions of transvaginal ultrasound egg collection followed by in-vitro embryo retrieval, embryo transfer and pregnancy diagnosis were performed. 2585 oocytes were aspirated from fifty donor animals of the Kazakh white-headed breed after six sessions of oocyte collection. One thousand eight hundred and seventy-six

(72.5%) oocytes were selected for maturation and subsequently fertilized. On the fourth day after fertilization, the number of split embryos was 720 (38.3% of fertilized oocytes). Of these split embryos, 56 (7.5%) developed to the late morula/blastocyst stage on the seventh day after fertilization, averaging 1.12 embryos per donor animal. Pregnancy was detected in 12 recipients; 4 healthy calves were born to date. The results of our study demonstrated the effectiveness of reproductive technology in preserving the endangered Kazakh white-headed cattle. The results of this report will expand knowledge of the reproductive characteristics of endangered domestic animals and help develop sophisticated reproductive protocols for animals with unique reproductive mechanisms.

Ключевые слова: ЭКО, эмбрион, казахский белоголовый скот

Key words: IVF, embryo, Kazakh white-headed cattle.

Введение. За последние 40 лет производство эмбрионов *in vitro* (IVER) получило значительное развитие, что позволило повысить репродуктивную эффективность животных с превосходными генетическими достоинствами и сохранить популяцию исчезающих видов [1]. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) напрямую влияет на эффективность производства продуктов питания, а также имеет большой потенциал для повышения репродуктивной эффективности крупного рогатого скота с экономической ценностью [2]. В Казахстане технология ЭКО широко используется в последнее десятилетие. Такая тенденция поддерживается правительством в рамках общенациональной программы развития по восстановлению животноводческого сектора, который сильно пострадал после распада Советского Союза [3]. Казахская белоголовая является основной мясной породой в Казахстане и была выведена в середине 1930-х годов, обладая такими ценными признаками, как устойчивость к болезням, 100% отёл без посторонней помощи, тепловая адаптация и приспособленность к жизни на бедных пастбищах. Казахский белоголовый скот был получен путем скрещивания местных казахских и калмыцких коров с герефордскими быками в 1950 году [4].

Эти репродуктивные технологии имеют большое значение для сохранения диких или домашних видов и пород, находящихся под угрозой исчезновения [5]. Применение вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) для восстановления генетически лучших и исчезающих популяций крупного рогатого скота *in situ* и *ex situ* рассматривается уже более тридцати лет [6]. Разведение живых животных под управлением *in situ* имеет большой потенциал в природоохранной биологии. Однако этот метод сохранения имеет недостатки, связанные с малым размером популяции и инбридингом, что может привести к генетическому дрейфу, а также к снижению выхода эмбрионов и ранней эмбриональной гибели у пород, находящихся под угрозой исчезновения [7,8].

Целью данного исследования было изучено пригоднось технологии ЭКО для сохранения и будущего разведения казахской белоголовой породы.

Материалы и методы исследований. Эксперимент проводился в соответствии с национальным и международным законодательством на основе руководящих принципов Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [9]. Протокол был одобрен Комитетом по этике экспериментов на животных Казахского государственного агротехнического университета им. Сакена Сейфуллина (Казахстан). Казахского агротехнического университета имени Сакена Сейфуллина (номер разрешения: 1607/111).

Крупнорогатый скот

Для программы сохранения вида были использованы небеременные, циклические (n=50) казахские белоголовые и абердин-ангусские (n=50) коровы примерно 48-месячного возраста с высокими генетическими достоинствами. Исследование проводилось с июля по октябрь 2020 года. Животные содержались на огороженных травяных пастбищах (*Agropyron cristatum*), минеральные концентраты давались *ad libitum*. Перед началом эксперимента животных обследовали на наличие каких-либо репродуктивных отклонений с помощью ректальной пальпации и ультразвука. Подготовка животных-доноров к процедуре забора яйцеклеток (ЗЯ) проводилась в соответствии с методикой Pontes [10]. Вкратце, содержимое прямой кишки

удаляли, а область промежности тщательно мыли водопроводной водой и 70% этанолом. Животным вводили 4 мл эпидуральной анестезии 2% лидокаина для снижения перистальтики.

Процедура забора яйцеклетки (ПЗЯ). Фолликулярная аспирация проводилась в соответствии с протоколом, описанным [11]. Крупный рогатый скот удерживали в желобе, и сбор ооцитов проводился одним специалистом с помощью портативного ультразвукового сканера в реальном времени с выпуклым датчиком 7 МГц, установленным в пластиковый интравагинальный зонд и направляющую из нержавеющей стали. Видимые фолликулы пунктировали с помощью одноразовой иглы 16 калибра (Supelco Inc, Bellefonte, PA), соединенной с конической пробиркой объемом 50 мл (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) через силиконовую трубку диаметром 2 мм и длиной 120 см, и аспирировали с помощью вакуумной системы, настроенной на скорость 13 - 15 мл воды/мин. После аспирации фолликулярные аспираты доставлялись в лабораторию для дальнейших IVER манипуляций.

Производство эмбрионов *in vitro* (IVER). Перед созреванием *in vitro* (IVM) комплексы кумулюс-ооцит (ККО) были морфологически классифицированы с помощью инвертированного стереомикроскопа в соответствии с протоколом, основанным на Leibfried и First [12]. Ооциты, имеющие хотя бы один слой кумулюсных клеток, считались жизнеспособными и использовались для ЭКО, а клетки с признаками атрезии или деградации отбраковывались. Приблизительно Примерно 300 жизнеспособных КОК отмывали в среде для созревания культуры ткани (TCM107 199- HEPES, Thermo Fisher Scientific, MA, США), дополненной 10% фетальной телячьей сывороткой в присутствии антибиотиков гентамицина 50 мкг/мл, пирувата натрия 22 мг/мл и амикацина 83,4 мг/мл. Затем группы из 30 отмытых КОК культивировали в течение 24 часов при 5% CO₂ в 100 мкл капель среды IVM, покрытой минеральным маслом Sigma-Aldrich, St. Louis. Эксперимент проводили в шести повторах и рассчитывали средние значения.

После ЭКО созревшие КОС промывали в PBS и переносили в раствор для экстракорпорального оплодотворения тироде-лактат-пируват ЭКО-TALP (Sigma-Aldrich, St. Louis), дополненный пируватом натрия 22 мг/мл, амикацином 83,4 мг/мл, бычьим сывороточным альбумином без жирных кислот 6 мг/мл и 70 мкл раствора PHE 0,5 мкМ пенициллина, 0,25 мкМ гипотаурина и 25 мкМ эпинефрина. Свежая сперма, полученная от казахских белоголовых коров (n=2), была очищена в 90-45% градиенте изолята разведена в среде Тирода, дополненной гепарином 10 мг/мл, центрифугировали при 200g в течение 30 минут и затем исследовали с помощью программного обеспечения AndroVision® 119 на подвижность и конкордацию сперматозоидов. Эякулят с конечной концентрацией 2×10⁶ живых сперматозоидов на мл и уровнем подвижности не менее 90% использовали для ЭКО. Зрелые ооциты оплодотворяли в покрытых маслом микрокаплях объемом 100 мкл в группах до 25 штук.

После ЭКО у предполагаемых зигот удаляли кумулюсные клетки путем промывания в культуральной среде TCM124 199 HEPES. Затем группы из 9-12 презумптивных зигот переносили в синтетическую жидкость яйцевода - бычий эмбрион 2 SOF-BE2 в объеме 100 мкл микрокапель и покрывали минеральным маслом с последующей инкубацией при 39°C в присутствии 5% CO₂ в воздухе. Предположительные зиготы регулярно наблюдали на наличие развития эмбрионов. Классификация стадий развития эмбрионов проводилась в соответствии с критериями Международного общества по трансплантации эмбрионов [13].

Перенос эмбрионов и диагностика беременности. В качестве суррогатных животных в эксперименте использовались коровы казахской красной степной породы (n=27) и абердин-ангусской породы (n=12). Всего 81 эмбрион, развившийся до стадии поздней морулы/бластоцисты, был перенесен в животных-реципиентов. Подготовка животных-реципиентов проводилась в соответствии с протоколом переноса эмбрионов с фиксированным временем (FTET), описанным Pontes [10], который показан на рисунке 1. Эксперимент проводился в трех экземплярах. Девять казахских коров красной степной породы и четыре коровы абердин-ангусской породы были использованы в каждой реплике. Для синхронизации эструса в день каждой корове вводили интравагинально прогестерон (CIDR, Pfizer, Новая

Зеландия) и 2 мг бензоата эстрадиола. Все коровы получили 300 МЕ хорионического гонадотропина лошади (ЭХГ), 150 мкг d-клопростенола и 1 мг ципионата эстрадиола (Pfizer, США) на 8-й день сразу после удаления прогестеронового имплантата. Свежие эмбрионы были пересажены на 17 день после начала протокола синхронизации эструса. Каждое животное-реципиент получало два эмбриона, пересаженных нехирургическим путем в рог матки, ипсилатеральный к ЛТ. Животных-реципиентов тщательно исследовали на наличие лютеинового тела (ЛТ) в яичниках с помощью ультразвука Aloka SSD 500 с выпуклым датчиком 7 МГц. Коровы, у которых диаметр ЗЯ был больше или равен 13 см были приняты для ЭТ.

Первый сеанс оценки беременности проводился на 26 - 29 день после переноса эмбрионов (обозначенный как 30-й день). Беременные реципиенты подвергались ультразвуковому исследованию для подтверждения беременности на 60-й и 90-й день.

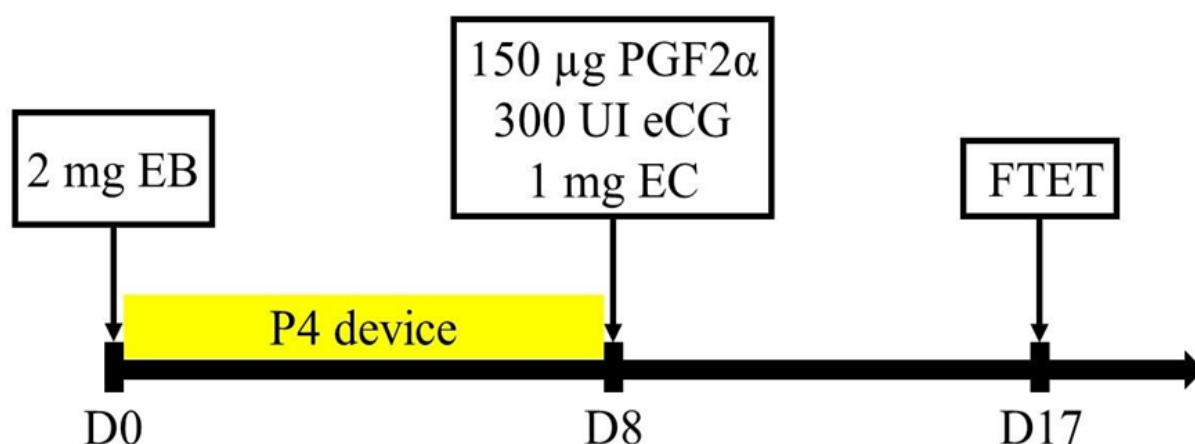


Рисунок 1 – Протокол, используемый для синхронизации у животных-реципиентов при переносе эмбрионов в фиксированное время (FTET). ЭБ: бензоат эстрадиола, P4: прогестерон, ЭКГ: хорионический гонадотропин лошади гонадотропин, PGF2 α : простагландин (d-клопростенол), EC: эстрадиола ципионат

Данные анализировали с помощью программ GraphPad Prism, Version 9.0 (San Diego, CA, USA). и Microsoft Excel. Значение $p \leq 0,05$ считалось статистически значимым. Для каждой интересующей переменной была получена описательная статистика. Для определения значимых различий между группами рассчитывали двусторонний тест ANOVA и их 95% доверительные интервалы (95% CI). Все переменные оценивались с помощью тестов множественного сравнения Седэка.

Результаты и обсуждение. Данные по экстракорпоральному оплодотворению, полученные в ходе экспериментов по сохранению казахской белоголовой породы, представлены в сравнении с абердин-ангусской породой в таблице 1. Всего было аспирировано 2585 и 3854 ооцитов от животных-доноров казахской белоголовой и абердин-ангусской пород. Каждая порода была подвергнута шести сеансам ЗЯ с интервалом в 10 дней. В целом, за шесть сеансов ЗЯ общее количество извлеченных КОК, количество жизнеспособных ооцитов, количество расщепленных ооцитов и соотношение морула/бластоциста были выше в группе абердин-ангусов ($p < 0,01$), чем в группе казахской белоголовой (Таблица 1). Хотя общая доля жизнеспособных ооцитов была выше у казахской белоголовой 1876/2585 (72,5%), чем у животных-доноров абердин-ангусской породы 2642/3864 (68,3%).

Таблица 1 – Данные, полученные в результате эксперимента по ЭКО у казахской белоголовой и абердин-ангусской пород

Переменные	Казахская белоголовая порода, сеансы ОПУ, (n=50 голов)						Абердин-ангусская порода, сеансы ОПУ, (n=50 голов)					
	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
Количество аспирированных ооцитов/среднее количество для животного	646/ 12.9 ± 7.43	512/ 10.2 ± 4.83	412/ 9.56± 10.38	341/ 6.82± 2.73	366/ 7.32± 3.41	308/ 6.16± 2.55	732/ 14.6± 5.50	510/ 10.2± 5.25	882/ 17.6± 5.75	577/ 11.5± 4.94	506/ 10.1± 4.55	657/ 13.1± 5.49
Количество жизнеспособных ооцитов/среднее для животного	503/ 10.0 2± 6.55	333/ 6.66 ± 4.04	215/ 4.30 ±2.65	306/ 6.12± 2.59	231/ 4.62± 2.64	288/ 5.76± 2.37	512/ 10.24± 4.91	357/ 7.14± 3.82	617/ 12.3± 5.21	375/ 7.5 ±3.32	354/ 7.08± 3.46	427/ 8.5 ±3.83
Количество расщепленных ооцитов/среднее для животного	188/ 3.76 ± 3.28	191/ 3.82 ± 3.21	63/ 1.26 ±1.44	114/ 2.28± 1.84	93/ 1.86± 1.76	71/ 1.42± 1.24	286/ 5.72 ±4.31	200/ 4.00± 2.32	346/ 6.92± 2.41	210/ 4.2 ±2.17	186/ 3.72± 1.99	239/ 4.78± 2.05
Эмбрионы на стадии морулы/бластоцисты на 7 день	18/ 0.36 ± 0.59	14/ 0.28 ± 0.57	6/ 0.12 ±0.32	11/ 0.22± 0.46	0/ 0.00± 0.00	7/ 0.14± 0.40	86/ 1.72 ±1.65	60/ 1.2 ±1.05	104/ 2.08± 1.41	63/ 1.2 ±1.00	56/ 1.12± 0.96	72/ 1.44± 0.95

Кроме того, при сравнении за сеанс почти все переменные были значительно выше в группе абердин-ангусов ($p < 0,0001$), чем в группе казахской белоголовой (рисунок 2). У казахской белоголовой количество ооцитов, полученных за один сеанс ЗЯ коров, варьировалось от 3 до 22. Жизнеспособные ооциты оценивались на предмет созревания и впоследствии оплодотворялись. На 4-й день после оплодотворения количество расщепленных эмбрионов составило 720 (38,3% от оплодотворенных ооцитов). Из этих расщепленных эмбрионов 56 (7,5%) развились до стадии поздней морулы/бластоцисты на 7 день после оплодотворения, в среднем 1,12 эмбриона на одно животное-донора. У 12 реципиентов беременность была диагностирована на 30-й день после оплодотворения с помощью ультразвука, а на 90-й день беременность была подтверждена у 5 коров. Четыре теленка успешно родились к концу периода беременности. Одна корова абортровала в конце второго триместра. У коров породы абердин-ангус девять реципиентов были признаны беременными на 30-й день после оплодотворения с помощью ультразвукового исследования. Эти животные выносили беременность на полном сроке и родили живых телят к концу гестации.

Обсуждение. Использование технологии экстракорпорального оплодотворения стало популярным и востребованным во всем мире после успешного рождения первого теленка ЭКО в 1981 году [14]. Насколько нам известно, это первая попытка использования технологии ЭКО у казахского белоголового скота. В последние годы индустрия трансплантации эмбрионов достигла значительных результатов в улучшении животноводства [15].

Применение программы *ex situ* для сохранения ооцитов, сперматозоидов и эмбрионов имеет значительное преимущество, позволяя возобновить их развитие в желаемое время [16]. Криоконсервация имеет низкую эффективность из-за высокого риска повреждения репродуктивного материала [17]. По этой причине наши первоначальные исследования в основном были сосредоточены на производстве эмбрионов и рождаемости. Тем не менее, важность криоконсервации эмбрионов казахской белоголовой остается актуальной и должна быть оценена в будущих экспериментах.

Напротив, применяя современные достижения биологии сохранения, сперму желаемых производителей можно хранить с помощью метода витрификации [18]. Несмотря на то, что сохранение спермы имеет преимущества, связанные с затратами и качеством, существуют ограничения, связанные с восстановлением стада, поскольку это требует трудоемкой оценки другой породы в течение нескольких поколений путем обратного скрещивания. Более того, сохранение находящихся под угрозой исчезновения пород с помощью эмбрионов является перспективным, и одного поколения достаточно для восстановления выведенных пород [19].

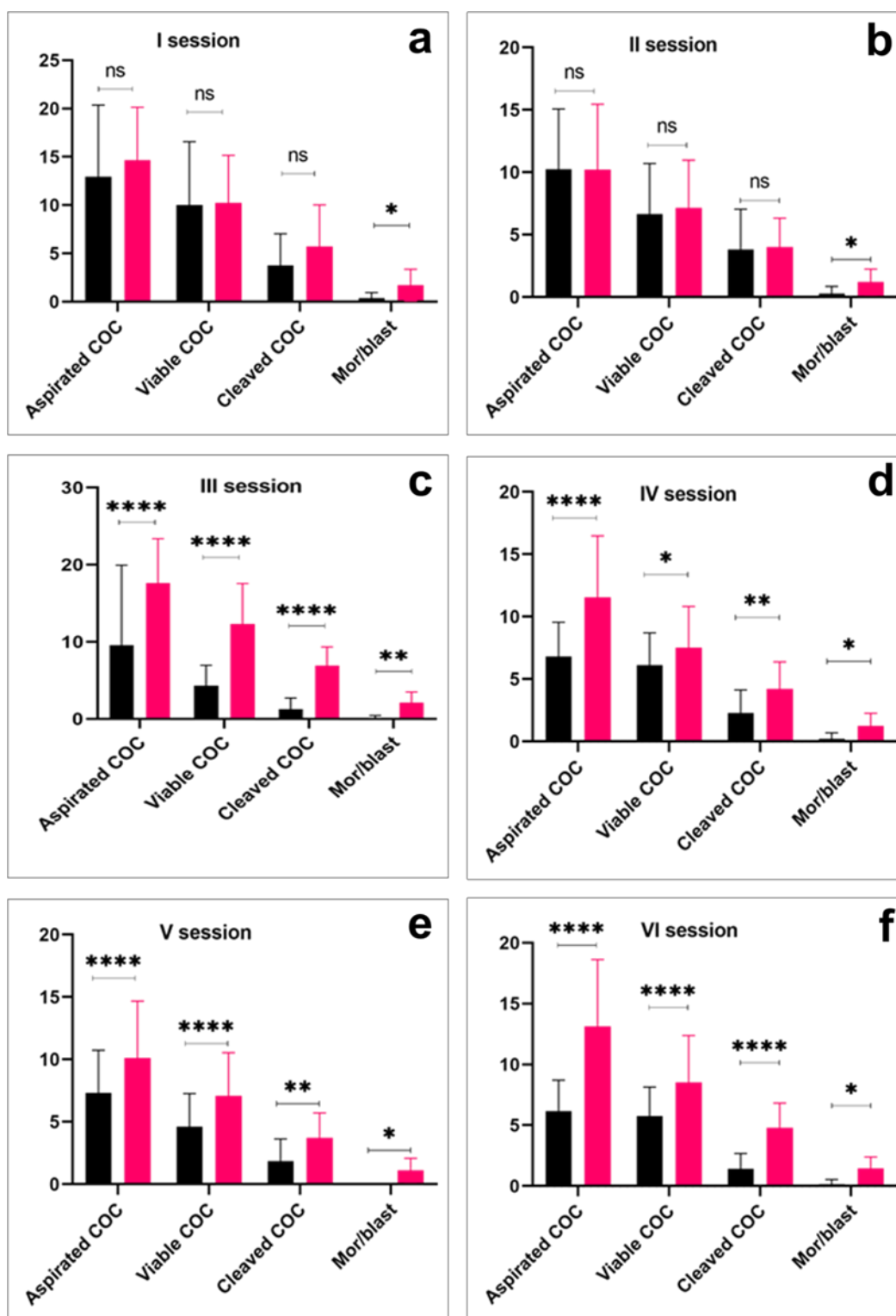


Рисунок 2 – Сравнение количества аспирированных кумулюсно-ооцитарных комплексов (КОК), жизнеспособных КОК, расщепленных КОК и эффективности производства эмбрионов у казахской белоголовой и абердин-ангусской пород за сеанс. Звездочка над столбиками показывает степень значимости, где * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; **** $p < 0,0001$; ns = не значимо

В Казахстане за последние 30 лет популяция казахской белоголовой породы резко сократилась. Снижение репродуктивной эффективности и продуктивности молочных и мясных

животных в основном связано с распадом Советского Союза, что привело к закрытию селекционных программ и оттоку специалистов.

Недавно начатая общенациональная программа сохранения внесла значительный вклад в сохранение популяций казахской белоголовой и возобновила программы генетической селекции. В связи со скудностью литературных данных по казахским белоголовым коровам, их реакция на ЭТ *in vivo* и *in vitro* нуждается в дальнейшем изучении. Первоначально для получения эмбрионов использовался протокол МОЕТ, основанный на методике Pontes [10]. Однако этот метод оказался неэффективным для вызывания суперовуляции из-за скудного ответа на лечение и поэтому не использовался для сбора эмбрионов. Протокол суперовуляции, подходящий для казахской белоголовой коровы, находится в стадии оценки.

У казахской белоголовой породы среднее количество переносимых эмбрионов на одно животное было ниже, чем показатели, опубликованные в исследованиях зарубежных авторов [10,20,21]. Это можно объяснить большим выходом ооцитов из-за применения экзогенных гормонов в их исследовании. Однако в нашем исследовании это не оценивалось. В настоящем исследовании переменные первых двух сеансов ЗЯ не отличались между видами. Однако мы наблюдали значительное снижение количества ооцитов, полученных в следующем сеансе ЗЯ у казахской белоголовой. Аналогичная картина наблюдалась в группах абердин-ангусской породы, с небольшим снижением. Это наблюдение согласуется с результатами, о которых сообщали, что снижение количества аспирированных ооцитов может быть связано с повторными пункциями яичников иглой во время последовательных ЗЯ [22,23]. Они предполагают, что множественные пункции, выполняемые у животных с большим количеством фолликулярных образований, могут привести к повреждению яичников и ослабить их работоспособность. Среднее количество ооцитов, извлеченных за сеанс ЗЯ ($n=8,8$) у казахской белоголовой породы было ниже, чем у абердин-ангусской породы (12,8), а также по данным [24]. Эти авторы сообщили о сборе в среднем 17,1 и 18,8 ооцитов за сеанс ЗЯ.

В нашем исследовании наибольшее количество жизнеспособных ооцитов за сеанс ЗЯ у казахской белоголовой составило ($n=10$) клеток на животное, что отличается от данных, опубликованных в исследованиях зарубежных авторов [10,25].

Напротив, средняя доля жизнеспособных ооцитов была выше у казахской белоголовой (73,5%) по сравнению с абердин-ангусской породой (67,8%) и другими породами - гирской (70,9%), неллорской (68,6%) и голштинской (53,8%). Более того, в других крупномасштабных коммерческих программах с использованием крупного рогатого скота неллорской породы были получены результаты, схожие с нашими исследованиями, продемонстрировав процент жизнеспособных ооцитов на уровне 75% [26]. Кроме того, показатели расщепления и бластоцист у казахского белоголового скота (Таблица 1) значительно ниже, чем у неллорского и голштинского скота. В целом, мы продемонстрировали некоторые сходства с другими работами, упомянутыми выше, за исключением низких показателей расщепления и бластоцисты, что привело к низкой рождаемости у казахского белоголового скота.

В данном исследовании мы показали, что казахские белоголовые коровы имели более низкие показатели производства КОК, эффективности IVP и скорости развития морулы/бластоцисты по сравнению с абердин-ангусскими коровами. Это можно объяснить генетическим потенциалом породы [27].

Как мы уже упоминали ранее в данной работе, не было найдено никаких ссылок относительно применения ЭКО у казахского белоголового скота. Учитывая, что процент стельности был низким относительно количества аспирированных ооцитов, мы делаем вывод, что это явление может быть особенностью казахского белоголового скота; однако, в связи с важностью породы, необходимо провести дальнейшие исследования для улучшения показателей ЭКО. Хотя эффективность репродуктивных биотехнологий может значительно варьироваться и обычно считается низкой, сам метод играет решающую роль для программ восстановления видов, долгосрочной генетической и демографической устойчивости [28,29].

REFERENCES

- 1 Hasler, J. F. Forty years of embryo transfer in cattle: A review focusing on the journal Theriogenology, the growth of the industry in North America, and personal reminiscences [Text] / J. F. Hasler // Theriogenology. - 2014. - Vol.81. №1 -p. 152-169.
- 2 Hansen, P. J. Current and Future Assisted Reproductive Technologies for Mammalian Farm Animals [Text] / P. J. Hansen // In G. C. Lamb & N. DiLorenzo (Eds.), Current and Future Reproductive Technologies and World Food Production. - 2014. - p. 1-22.
- 3 AQBAS, P. Republican association of the Kazakh Whiteheaded breed [Text] / P. AQBAS Retrieved from. – 2012.
- 4 Kineev, M. A. Cattle breeds of Kazakhstan: Research and Production Center for Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Ministry of Agriculture, Republic of Kazakhstan [Text] / M. A. Kineev, B.K. Erdenov. – 2005.
- 5 Hall, S. J. Conservation of rare wild-living cattle *Bos taurus* (L.): coat colour gene illuminates breed history, and associated reproductive anomalies have not reduced herd fertility [Text] / S. J. Hall, G. B. Brenig, R. A. Ashdown // Journal of Zoology. - 2021. - Vol. 315. №4 - p. 319-326.
- 6 Mastromonaco, G. F. Reproduction in female wild cattle: Influence of seasonality on ARTs [Text] / G. F. Mastromonaco, A. L. Gonzalez-Grajales // Theriogenology. - 2020. - Vol. 150. - p. 396-404.
- 7 Dolman, P. M. Ark or park: the need to predict relative effectiveness of ex situ and in situ conservation before attempting captive breeding [Text] / P. M. Dolman, N. J. Collar, K. M. Scotland // Journal of Applied Ecology. - 2015. - Vol. 52. №4 - p. 841-850.
- 8 Hintz, R. L. Inbreeding, mortality, and sex ratio in gaur (*Bos gaurus*) under captivity [Text] / R. L. Hintz, T. J. Foote // Journal of Heredity. - 1982. –Vol. 73. №4 - p. 297-298.
- 9 Aulsebrook, E. J. The european convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes [Text] / E. J. Aulsebrook // Zeitschrift Fur Versuchstierkunde. - 1986. – Vol. 28. №5 – p. 219-219.
- 10 Pontes, J. H. F. Large-scale in vitro embryo production and pregnancy rates from *Bos taurus*, *Bos indicus*, and *indicus-taurus* dairy cows using sexed sperm [Text] / J. H. F. Pontes, K. C. F. Silva, A. C. Basso // Theriogenology. – 2010. - Vol. 74. №8 - p. 1349-1355.
- 11 Gimenes, L. U. The interval between the emergence of pharmacologically synchronized ovarian follicular waves and ovum pickup does not significantly affect in vitro embryo production in *Bos indicus*, *Bos taurus*, and *Bubalus bubalis* [Text] / L. U. Gimenes, M. L. Ferraz, P. Fantinato-Neto // Theriogenology. – 2015. – Vol. 83. №3. – p. 385-393.
- 12 Leibfried, L. Characterization of Bovine Follicular Oocytes and Their Ability to Mature In Vitro [Text] / L. Leibfried, N. L. First // Journal of Animal Science. – 2018. – Vol. 48. №1. – p. 76-86.
- 13 Wright, J. M. Photographic illustrations of embryo developmental stage and quality codes. [Text] / J. M. Wright // Manual of the International Embryo Transfer Society. – 2013. – p. 167-170.
- 14 Brackett, B. G. Normal Development Following In Vitro Fertilization in the Cow [Text] / B. G. Brackett, D. Bousquet, M. L. Boice, // Biology of Reproduction. – 2017. – Vol. 27. №1. – p. 147-158.
- 15 Currin, L. In Vitro Production of Embryos from Prepubertal Holstein Cattle and Mediterranean Water Buffalo: Problems, Progress and Potential [Text] / L. Currin, H. Baldassarre, V. Bordinon // Animals. – 2021. Vol. 11 №8. – p. 2275
- 16 Gororo, E. Is neutral genetic diversity related to quantitative variation in semen traits in bulls [Text] / E. Gororo, F. P. Chatiza, F. Chidzondo // Reproduction in Domestic Animals. – 2021. – Vol. 56. №10. – p. 1293-1301.
- 17 Contreras, D. A. Prospects for increasing the utilization of cattle embryo transfer by small-scale milk and meat producers in tropical regions [Text] / D. A. Contreras, C. S. Galina, P. Chenoweth // Reproduction in Domestic Animals. – 2021. – Vol. 56. №12. – p. 1479-1485.
- 18 Grotter, L. G. Recent advances in bovine sperm cryopreservation techniques with a focus on sperm post-thaw quality optimization [Text] / L. G. Grotter, L. Cattaneo, P. E. Marini // Reproduction in Domestic Animals. – 2019. Vol. 54. №4. – p. 655-665.

19 Iso-Touru, T. Genetic diversity and genomic signatures of selection among cattle breeds from Siberia, eastern and northern Europe [Text] / T. Iso-Touru [and etc.] // *Animal Genetics*. – 2016. – Vol. 47. №6. – p. 647-657.

20 Bousquet, D. In vitro embryo production in the cow: An effective alternative to the conventional embryo production approach [Text] / D. Bousquet [and etc.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 51. №1. – p. 59-70.

21 Ratto, M. H. Transvaginal ultrasound 418 guided cumulus oocyte complexes aspiration and in vitro embryo production in suckled beef and lactating dairy cattle on pasture-based management conditions [Text] / M. H. Ratto [and etc.] // *Animal reproduction science*. – 2011. – Vol. 129. №1. – p. 1-6.

22 Monteiro, F. M. Beef donor cows with high number of retrieved COC produce more in vitro embryos compared with cows with low number of COC after repeated ovum pick-up sessions [Text] / F. M. Monteiro [and etc.] // *Theriogenology*. – 2017. – Vol. 90. – p. 54-58.

23 Viana, J. H. M. Characterization of tissue damages after ovum pick-up in bovine [Text] / J. H. M. Viana [and etc.] // *Pesquisa Veterinária Brasileira*. – 2003. – Vol. 23. – p. 119-124.

24 Viana, J. H. M. Pre-synchronization of cows for cumulus-oocyte complexes recover: Partial results [Text] / J. H. M. Viana [and etc.] // *Acta Scientiae Veterinariae*. – 2004. – Vol. 34. – p. 187.

25 Pontes, J. H. F. Ovum pick up, in vitro embryo production, and pregnancy rates from a large-scale commercial program using Nelore cattle (*Bos indicus*) donors [Text] / J. H. F. Pontes [and etc.] // *Theriogenology*. – 2011. – Vol. 75. №9. – p. 1640-1646.

26 Pontes, J. H. F. Comparison of embryo yield and pregnancy rate between in vivo and in vitro methods in the same Nelore (*Bos indicus*) donor cows [Text] / J. H. F. Pontes [and etc.] // *Theriogenology*. – 2019. – Vol. 71. №4. – p. 690-697.

27 Tada, O. Effective population size and inbreeding rate of indigenous Nguni cattle under in situ conservation in the low-input communal production system [Text] / O. Tada, V. Muchenje, K. Dzama // *South African Journal of Animal Science*. – 2013. – Vol. 43. №2. – p. 137-142.

28 Varga, Z. In-vitro fertilization in hungarian gray cattle [Text] / Z. Varga [and etc.] // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2016. Vol. 28. №5. – p. 252-257.

29 Mastromonaco, G. F. Identification of the homologue of the bovine Rob (1;29) in a captive gaur (*Bos gaurus*) [Text] / G. F. Mastromonaco [and etc.] // *Chromosome Research*. – 2004. – Vol. 12. №7. – p. 725-731.

ТҮЙІН

Экстракорпоралды ұрықтандыру (ЭКҰ) технологиялары жойылып бара жатқан түрлерді сақтауда үлкен әлеуетке ие. Осы зерттеуде соңғы отыз жылда популяциясы күрт азайып кеткен осы тұқымды сақтап қалу үшін репродуктивті технологиялардың қазақтың ақбас сиырына жарамдылығын анықтау мақсатында ЭКҰ эксперименті жүргізілді. Қазақтың ақбас сиырларының репродуктивті ерекшеліктері ангус аберден сиырларымен салыстырылды. Трансвагинальды ультрадыбыстық ооциттерді алу сеанстары, содан кейін in vitro эмбриондарды алу, эмбриондарды тасымалдау және жүктілік диагностикасы жүргізілді. Алты жұмыртқа жинау сеансынан кейін 50 қазақстандық ақ бас донор жануарынан барлығы 2585 ооцит сорылды. Бір мың сегіз жүз жетпіс алты (72,5%) аналық жасуша жетілу үшін тандалып, одан әрі ұрықтандырылды. Ұрықтанғаннан кейінгі төртінші күні бөлінген эмбриондар саны 720 болды (ұрықтанған аналық жасушалардың 38,3%). Осы бөлінген эмбриондардың 56-сы (7,5%) ұрықтанғаннан кейін жетінші күні кеш морула/бластоциста кезеңіне дейін дамыды, бір донор жануарға орта есеппен 1,12 эмбрионнан келеді. 12 реципиентте жүктілік анықталды; 4 сау. Бүгінгі таңда 4 бас саулық төлдеді. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі жойылып бара жатқан қазақтың ақбас ірі қарасын сақтаудағы репродуктивті технологиялардың тиімділігін көрсетті. Бұл есептің нәтижелері жойылып кету қаупі төнген үй жануарларының репродуктивті ерекшеліктері туралы білімді арттырады және бірегей репродуктивті механизмдері бар жануарларға арналған күрделі репродуктивті хаттамаларды жасауға көмектеседі.