

Сәкен Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университетінің Ғылым жаршысы: пәнарлыш = Вестник науки Казахского агротехнического исследовательского университета имени Сакена Сейфуллина: междисциплинарный. – Астана: С. Сейфуллин атындағы Қазақ агротехникалық зерттеу университеті, 2025. -№ 3 (127). - Р.268-278. - ISSN 2710-3757, ISSN 2079-939X

[doi.org/10.51452/kazatu.2025.3\(127\).2032](https://doi.org/10.51452/kazatu.2025.3(127).2032)

УДК 636.32/.38

Исследовательская статья

Результаты вымывания эмбрионов у овец казахской курдючной грубошерстной породы

Сембаева А.И. , Малмаков Н.И. , Искаков К.А. , Асылбекова Э.Б. ,
Есжанова Э.Б. , Бактыбаева Г.Е. 

ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства»
Алматы, Казахстан

Автор-корреспондент: Сембаева А.И.: sembaevaigul5782@gmail.com

Соавторы: (2: НМ) nurlan_malmakov@mail.ru; (3: КИ) kairat11101988@mail.ru;

(4: ЭА) elmira_0309@mail.ru; (5: ЭЕ) esel40@mail.ru; (6: ГБ) gulzhandana@mail.ru

Получено: 24.07.2025 **Принято:** 29.09.2024 **Опубликовано:** 30.09.2025

Аннотация

Предпосылки и цель. В последнее время актуальной задачей производства, а также хозяйствующих субъектов является внедрение инновационных технологий и их дальнейшее развитие. Один из приоритетных направлений – это трансплантация эмбрионов племенных животных с высоким потенциалом продуктивности. Цель исследований – сохранение ценного генетического материала овец казахской курдючной грубошерстной породы для дальнейшего размножения.

Материалы и методы. Исследования проведены на овцематках казахской курдючной грубошерстной породы в КХ «Медхан» Алматинской области в лаборатории биотехнологии воспроизводства овец Научно-исследовательского института овцеводства им. К.У. Медеубекова филиала ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства». Для вызывания суперовуляции доноров использовали гормональные препараты фоллимаг и фоллтропин. Оценка реакции яичников выполнялась с помощью лапараскопа. Вымывание эмбрионов у доноров выполнялось методом лапаротомии. Криоконсервация эмбрионов в соломинках 0,25 мл была выполнена на замораживателе Cryologic CL8800 (Австралия), витрификация эмбрионов проведена новым способом.

Результаты. При вызывании суперовуляции у 38 овец-доноров получено 107 эмбрионов из них криоконсервировано 93 эмбриона на стадии морулы и бластоциты были витрифицированы в соломинках объёмам 0,25 мл. Результативность вымывания эмбрионов составила 45%. При оценке качества замороженных эмбрионов через 2 месяца была проведена разморозка 6-ти соломинок. В двух соломинках, замороженных программным замораживателем Cryologic CL8800, у эмбрионов была разрушена внутриклеточная масса выживаемость составила 20%. Из трех соломинок с эмбрионом замороженным способом витрификации, одна соломинка была непригодна, выживаемость составила 40%.

Заключение. При использовании гормонального препарата фоллимаг в дозе 7 мл суперовуляция составила – 65,3%, фоллтропин в общей дозе 9 мл обеспечил суперовуляцию 50,0%. Реакция яичников на гормональный препарат фоллимаг была эффективней, чем фоллтропин на 15,3%. При этом, было вымыто 107 эмбрионов из них криоконсервировано 93 эмбриона, на стадии морулы и бластоциты вымывание эмбрионов составило 45%. Результаты исследования показали, что использование метода витрификации эмбрионов овец, способствует снижению затрат расходного материала и отличается практичностью в применении в полевых условиях.

Ключевые слова: овца; донор; ооцит; эмбрион; витрификация; замораживание.

Введение

За последние десятилетия биологическая наука бурно развивается и создает новые направления, которые не только помогают решать задачи, но и намечают пути принципиально нового производства, которое востребовано со стороны практики. Стремительно расширяющиеся знания о процессах жизнедеятельности позволяют не только приспосабливать эти процессы для практических целей, но и управлять ими, а также создавать весьма перспективные в практическом отношении новые системы, не существующие в природе, хотя и аналогичные существующим [1, 2, 3].

Овцеводство Казахстана традиционно является важной отраслью, значительная часть сельского населения разводят овец в придворных хозяйствах. Более 80% поголовья представлены овцами мясо-сальных пород, которые хорошо приспособлены к условиям резко-континентального климата и круглогодового пастбищного содержания. Данная отрасль имеет огромный экспортный потенциал. Жесткая конкуренция на международном рынке интенсифицирует производство мяса и ориентирует селекционно-племенную работу на экономически важные признаки, такие как плодовитость, полиэстричность, молочность и материнские качества овцематок, масса тела, скорость роста, мясные, откормочные и убойные качества молодняка [4, 5].

Следует понимать, что увеличение объемов сельскохозяйственного производства невозможно без глубоких научно-практических разработок и широкого внедрения в производство высокотехнологичных современных методов введения сельского хозяйства. Тем более, что снижение производства продукции в нашей стране, является последствием не только уменьшения количества высокопродуктивных и племенных овцематок, но и главным образом в результате потери эффективности воспроизведения [6].

Низкая плодовитость животных напрямую связана с нарушением деятельности репродуктивных органов воспроизведения, в том числе с нарушениями функциональной деятельности яичников или кистозными образованиями и воспалительными процессами в слизистой оболочке матки. Кардинальное решение проблемы воспроизведения животных в настоящее время основывается на том, чтобы перейти к нетрадиционным способам увеличения плодовитости. Для этого применяется целый ряд биотехнологических методов, разработанных на основе углубленных исследований репродуктивной функции, гормонального статуса ее регуляции, а также на совершенствовании приемов манипуляции с эмбрионами, половыми и соматическими клетками.

Одним из эффективных и экономически выгодных методов, позволяющих наиболее полно реализовать потенциал животных является разработка методики получения эмбрионов *in vitro* [7].

В последние десятилетия ведутся интенсивные исследования в области криоконсервации эмбрионов и ооцитов методом витрификации, которая представляет собой ультрабыстрое замораживание клеток в стекловидное состояние без образования кристаллов льда за счет высокой концентрации криопротектора и минимального объема раствора [8]. *Baril et al.* [9] полагают, что витрификация может стать экономичной альтернативой медленному ступенчатому охлаждению с помощью компьютеризированных программных замораживателей. Она не требует наличия специального оборудования и, следовательно, может быть хорошо адаптирована к широкому практическому использованию. *Massip A. et al* [10] установили, что этим методом можно консервировать эмбрионы с высокой криогенной чувствительностью, например биопсированные, клонированные и полученные *in vitro*. Поэтому исследования в области витрификации эмбрионов и ооцитов имеют важное научно-практическое значение.

Определение оптимальной концентрации криопротектора для успешной витрификации эмбрионов является непростой задачей. Высокая скорость процессов замораживания и оттаивания, а также малый объем среды (не более 3 мкл) делают невозможным мониторинг температуры образца или визуальную оценку фазовых переходов раствора. Согласно теоретическим моделям, мелкие биологические объекты (например, гаметы и соматические клетки) могут быть витрифицированы в объеме до 3 мкл без добавления криопротектора при использовании открытых систем витрификации, обеспечивающих прямой контакт с жидким азотом. Также, при скорости охлаждения ниже 3000 °C/мин и концентрации криопротектора до 10%, витрификация может быть осуществлена в более значительных объемах среды. Однако, более крупные и

гидратированные клеточные структуры, такие как ооциты и предимплантационные эмбрионы, безусловно, требуют присутствия криопротектора.

Витрификация в исключительных случаях может быть достигнута при использовании опасно высоких концентраций криопротектора и значительно увеличенной скорости охлаждения и разморозки. Важной характеристикой витрификации является то, что с увеличением скорости замораживания есть возможность изменения концентрации криопротектора. Исследования, проведенные за последние 20 лет, показывают, что были разработаны новые подходы и методы, которые позволили витрификации конкурировать с традиционным медленным замораживанием [11, 12, 13]. Высокие скорости замораживания и оттаивания обеспечивают уникальное преимущество – частичное, а иногда и полное устранение криогенных повреждений, так как образец проходит через опасную температурную зону очень быстро, не оставляя времени формированию повреждений.

Материалы и методы

Исследования по вымыванию и сохранению эмбрионов овцематок-доноров казахской курдючной грубошерстной породы проводили в филиале ТОО «Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства» в Научно-исследовательском институте овцеводства имени К.У. Медеубекова

Исследования были проведены на овцематках казахской курдючной грубошерстной породы в КХ «Медхан» Алматинской области.

Для вызывания суперовуляции донорам (n=61) на 11-12-е дни эстрального цикла вводили внутримышечно 12 донорам – фоллтропин в общей дозе 9 мл и 49 донорам по 7 мл фоллимаг (РФ) 1400 МЕ. Через 48 ч инъектировали 125 мкг эстрофана (Чешская Республика) (таблица 1).

Как показывают данные таблицы 1, при проведении опыта реакция яичников на гормональный препарат фоллимаг была эффективней, чем фоллтропин на 15,3%.

Таблица 1 – Гормональная обработка овцематок-доноров

| Вид гонадотропина | n | Из них с суперовуляцией | | Количество овуляций | |
|-------------------|----|-------------------------|------|---------------------|-----------|
| | | n | % | всего | на донора |
| Фоллтропин | 12 | 6 | 50,0 | 44 | 7,33 |
| Фоллимаг | 49 | 32 | 65,3 | 234 | 7,31 |

Вымывание эмбрионов у доноров выполнялось на 5-6-й день после начала охоты методом лапаротомии. Перед вымыванием эмбрионов овец-доноров выдерживали на голодной диете в течение 20-24 часов. Для общей анестезии внутривенно вводили 0,3-0,4 мл «Telasol» (Zoetis, США). Для промывания рогов матки использовали катетер Фоллея и раствор Дюльбекко с добавлением сыворотки теленка (DPBS, Gibco, США) [14]. Для оценки реакции яичников применяли лапароскоп диаметром 10 мм и установленную на нем видеокамеру, оба инструмента производства Karl Storz (Германия).

Если реакция была слабой (1-3 овуляции) эмбрионы не вымывали. После вымывания промытую жидкость отставали в течение 15 мин, затем набирали ее пипеткой, сливали в чашку Петри и просматривали под стереомикроскопом.

Криоконсервация эмбрионов в соломинках 0,25 мл в контрольной группе была выполнена на замораживателе Cryologic CL8800 (Австралия) (рисунок 1) по методике Tervit, Gold [15], витрификацию эмбрионов проводили новым способом, как показано на рисунке 2.

После заправки осуществлялась маркировка соломинки следующим образом: в соломинку со стороны пыжа вставляли цветную пластмассовую пробку, на которой тонким маркером записывали дату вымывания, порода донора и стадию эмбриона.



Рисунок 1 – Замораживатель Cryologic CL8800 (Австралия)

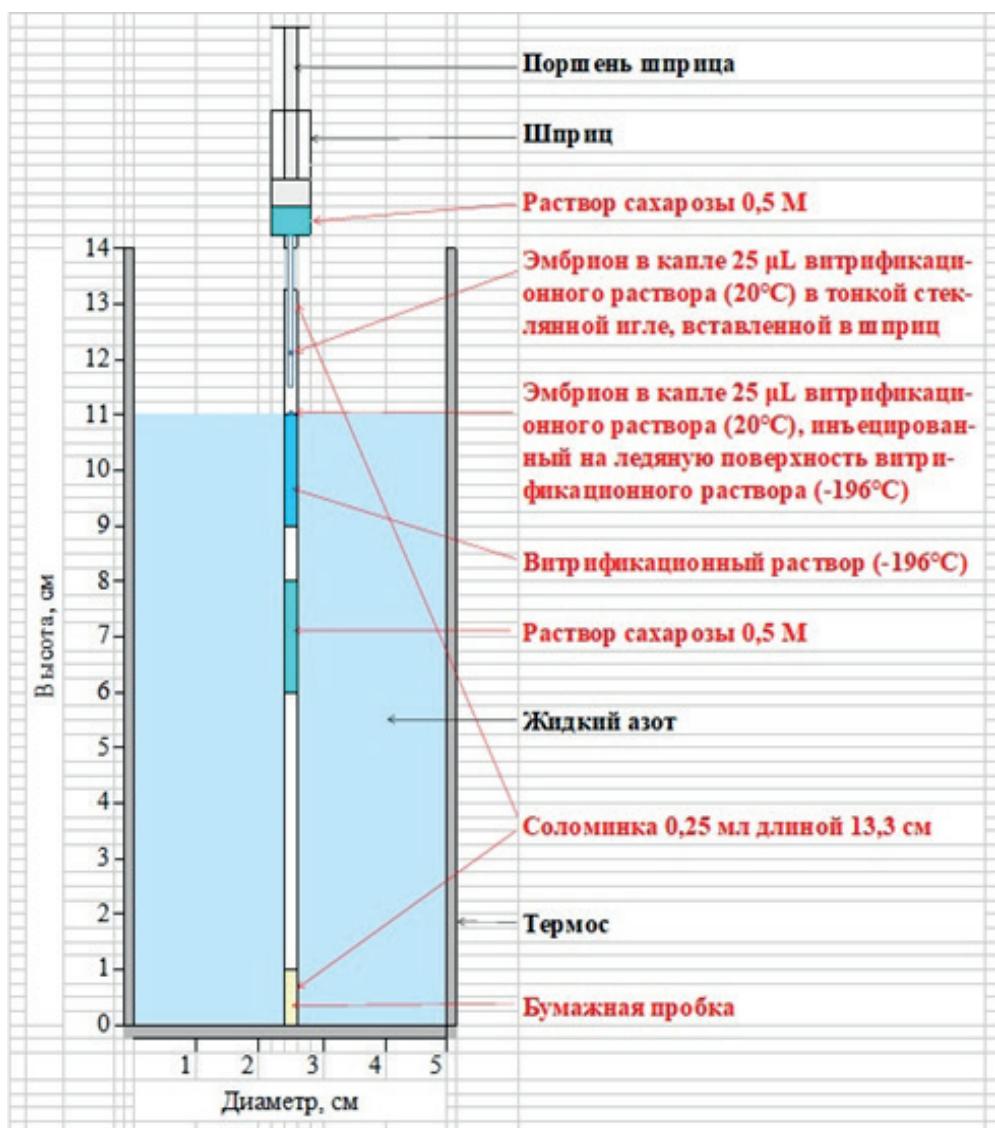


Рисунок 2 – Витрификация эмбриона в соломинке 0,25 мл новым способом

Результаты и обсуждение

Вызывание суперовуляции у овец-доноров индуцировали двумя гонадотропными препаратами: 1) фоллтропином в виде 6-ти внутримышечных инъекций в общей дозе 9 мл и 2) одной инъекцией 7 мл фоллимаг. В обоих схемах через 48 ч после начала обработки внутримышечно инъецировали 125 мкг эстрофана. Как видно из данных таблицы 2, после проявления индуцированной половой охоты, доноров осеменяли спермой баранов-производителей казахской курдючной грубошерстной породы.

Таблица 2 – Схема гормональной обработки овцематок-доноров и их осеменение

| День обработки гонадотропином | Название гонадотропина | Доза гонадотропина (мл) / время введения (ч) | |
|-------------------------------|------------------------|--|-------|
| | | утро | вечер |
| 11-12 | Фоллтропин / Фоллимаг | 9 - 7 | 9 - 7 |
| 14-15 | Эстрофан | 6 - 7 | 6 - 7 |
| 16 | Охота и осеменение | + | + |
| 17 | Осеменение | + | + |
| 21 | Вымывание | 8 | - |

На рисунке 3 показана оценка реакции яичников донора выведением на экран телевизора с помощью лапароскопа и видеокамеры.

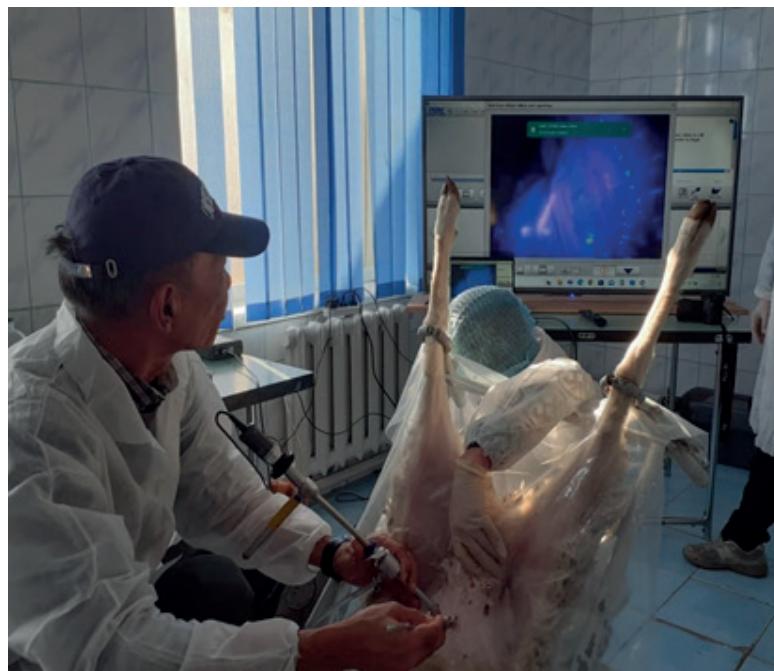


Рисунок 3 – Изображение реакции яичников донора на экране телевизора с помощью лапароскопа и видеокамеры, установленной на лапароскоп

Вначале с помощью лапароскопа оценивали реакцию донора на гормональную обработку. Вымывание эмбрионов проводили с помощью катетера Фоллея на 5-6-е дни (рисунки 4, 5).



Рисунок 4 – Процесс вымывания

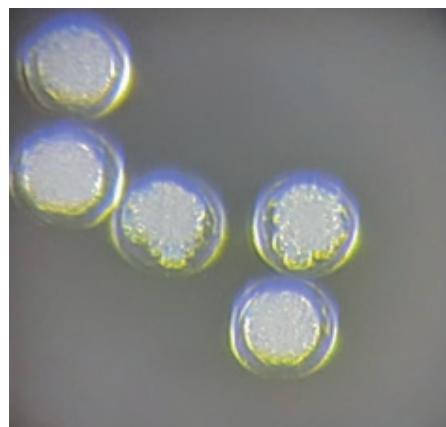


Рисунок 5 – 5-дневные эмбрионы
овец

Методы криоконсервации основаны на двух главных факторах: криопротекторах и скорости замораживания-оттаивания. Выделяют два основных метода: традиционное медленное замораживание и витрификацию. Хранение, оттаивание и удаление криопротектора в этих методах имеют небольшие различия, основные различия заключаются в способе добавления криопротектора и скорости замораживания. Преимущества витрификации очевидны и бесспорны: образование кристаллов льда, которое является одной из основных и опаснейших причин криогенных повреждений, полностью устраняется за исключением переходного и очень короткого замерзания растворов во время оттаивания, которое для ооцитов и эмбрионов обычно считается безвредным.

Способ витрификации эмбрионов овец включает следующие этапы:

Погружение эмбрионов в растворы с увеличивающимися концентрациями глицерина и этиленгликоля (рисунок 6):

- 10% глицерин на 5 мин;
- 10% глицерин + 20% этиленгликоль на 5 мин.

Погружение в криопробирки с жидким азотом.



Рисунок 6 – Погружение эмбрионов в растворы с увеличивающимися
концентрациями глицерина и этиленгликоля

Принцип витрификации заключается в помещении эмбрионов в высокую концентрацию криопротекторов в очень небольшие объемы раствора, позволяя избегать образования кристаллов льда (рисунок 7).

Было проведено два эксперимента для проверки метода витрификации, который легко применять в полевых условиях. Все эмбрионы были собраны на 5-6-й день эстрального цикла у доноров овцематок, стимулированных ФСГ и оценены морфологически. Перед витрификацией эмбрионы содержали в модифицированном фосфатно-буферном растворе при комнатной температуре, после этого их промывали. Растворы готовили с постепенно увеличивающейся концентрацией глицерина и выдерживали эмбрионы определенное время в каждом растворе. Вымытые эмбрионы помещали в течение 5 мин в 10% среде глицерина и 20% этиленгликоля после перенесены в среду для витрификации (25% глицерина и 25% этиленгликоля). Все растворы были на основе mPBS. Эмбрионы, пригодные для замораживания (отличного, хорошего и удовлетворительного качества) набирали в соломинки (центральная часть 1 см, остальные части заполняли 0,8 М галактозой в mPBS (модифицированный фосфатно-буферный раствор)) и погружали в жидкий азот в течение 20-30 сек контакта с раствором для витрификации. Процедуру витрификации проводили при комнатной температуре 25 °C.



Рисунок 7 – Помещение эмбриона в капле 25 μL криопротектора высокой концентрации

От 38 овец-доноров получено 107 эмбрионов или по 2,8 эмбриона на донора. Криоконсервировано 93 эмбриона. 21 эмбрион на стадии морулы и бластоцисты были витрифицированы в соломинках объемом 0,25 мл. Результативность вымывания эмбрионов составила 45%.

Для оценки качества замороженных эмбрионов через 2 месяца была проведена разморозка в количестве 6-ти соломинок, из них 3 соломинки были заморожены на программном замораживателе Cryologic CL8800 и 3 соломинки с эмбрионами, замороженными способом витрификации. В первую очередь размораживали и оценивали эмбрионы, прошедшие культивирование в инкубаторе CO₂ в течение суток. Следующим критерием отбора эмбриона являлось его качество, при этом учитывали внутриклеточную массу и трофектодермы, а также степень экспансии, т.е. размер эмбриона. Поэтому, в первый этап разморозки соломинки с эмбрионом помещали из жидкого азота непосредственно в раствор, нагретый до 37 °C. Второй этап разморозки эмбрионов проводился при комнатной температуре и заключался в постепенном замещении криопротектора и регидратации эмбриона. Для этого эмбрион последовательно перемещали из раствора с большей концентрацией криопротектора в раствор с меньшей концентрацией, конечный раствор уже не содержал криопротектор. Такое плавное снижение концентрации криопротектора имеет критическое значение и позволяет избежать повреждение эмбриона, связанное с осмотическим шоком. По окончании разморозки эмбрионы переносили в чашку для культивирования и помещали в инкубатор CO₂. Таким образом, из 6-ти размороженных соломинок, замороженных программным замораживателем Cryologic CL8800, у эмбрионов была разрушена внутриклеточная масса (ВКМ), одна соломинка с эмбрионом замороженным способом витрификации была непригодна, так как внутриклеточная масса (ВКМ) была деформирована и непригодна для переноса.

По нашим результатам при размораживании эмбрионов, замороженных программным замораживателем Cryologic CL8800, выживали около 20% эмбрионов. Витрификация позволяет повысить частоту выживаемости до 40%.

Сравнивая методы криоконсервации эмбрионов в соломинках 0,25 мл и витрификацию эмбрионов новым способом, пришли к выводу, что новый способ витрификации оказался эффективнее и малозатратным, так как её можно использовать в полевых условиях не применяя электроэнергию, при этом расход жидкого азота меньше.

Заключение

Витрификация эмбрионов овец представляет собой ультрабыстрое замораживание клеток в стекловидное состояние без образования кристаллов льда за счет высокой концентрации криопротектора и минимального объема раствора. Таким образом, в соломинке процессы замораживания и оттаивания протекают значительно быстрее, по сравнению с медленным программным замораживанием, преимуществом способа является отсутствие специального оборудования.

Использование данного метода витрификации эмбрионов овец способствует снижению затрат расходного материала и применение его в полевых условиях.

Результаты исследований оценки качества при размораживании эмбрионов, замороженных программным замораживателем CryologicCL8800, показали 20% выживаемости эмбрионов. При использовании способа витрификации выживаемость составляет 40%.

Вклад авторов

АС, КИ, ЭА и ГБ: оформили исследование, провели поиск литературы, проанализировали собранные данные, подготовили рукопись. НМ и ЭЕ: провели окончательную редакцию и вычитку рукописи. Все авторы прочитали, просмотрели и одобрили окончательную редакцию рукописи для подачи к публикации.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования на 2023-2025 годы Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан ИРН BR21882201 «Улучшение мясной продуктивности курдючных овец новыми методами селекции, генетики и биотехнологии».

Список литературы

1. Bols, PEJ, Stout, TAE. (2018). *Transvaginal Ultrasound-Guided Oocyte Retrieval (OPU: Ovum Pick-Up) in Cows and Mares*. In: Niemann, H., Wrenzycki, C. (eds) Animal Biotechnology 1. Springer, Cham.
2. Hansen, PJ. (2020). The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle-why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it. *J Anim Sci*, 98(11), skaa288. DOI: 10.1093/jas/skaa288.
3. Kassens, A., et al. (2015). Intrafollicular Oocyte Transfer (IFOT) of Abattoir-Derived and In Vitro-Matured Oocytes Results in Viable Blastocysts and Birth of Healthy Calves. *Biol. Reprod.*, 92(6), 5-10. DOI: 10.1095/biolreprod.114.124883.
4. Malmakov, NI, Kulataev, BT, Iskakov, KA, Tastaganov, MA. (2023). Features of effective breeding methods to improve the reproduction ability of kazakhrough-wooled sheep. *Izdenister Natigeler*, 3(99), 150. DOI: 10.37884/3-2023/01.
5. Каташева, А., Кулатаев, БТ, Беднягин, Д. (2024). Етті-майлы құйрықты тұқымды қойлардың өнімді және биологиялық ерекшеліктерін арттыру. *Izdenister Natigeler*, 2(102), 36-42. DOI: 10.37884/2-2024/04.
6. Малмаков, НИ. (2016). Совершенствование методов биотехнологии воспроизведения овец и коз. Palmarium Academic Publishing, 127.

- 7 Rizos, D., Lonergan, P., Ward, F., Duffy, P., Boland, MP. (2002). Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization, or early embryo development in vitro versus in vivo: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Molecular Reproduction Development*, 61, 234-248. DOI:10.1002/mrd.1153.
- 8 Спанов, АА, Бекенов, ДМ, Мусабаев БИ. (2014). *Методическая рекомендация по ускоренному воспроизведству крупного рогатого скота с использованием методов биотехнологии*. Рекомендация, Алматы: 39.
- 9 Baril, G., Traldi, AL, Cognie, Y., Leboeuf, B., Beckers, JF, Mermilliod, P. (2001). Successful direct transfer of vitrified sheep embryos. *Theriogenology*, 56: 2, 299-305.
- 10 Massip, A., Van Der Zwalm, P., Scheffen, B., Ectors, F. (1989). Some significant steps in the cryopreservation of mammalian embryos with a note on a vitrification procedure. *Animal Reproduction Science*, 19(1-2), 117-129. DOI:10.1016/0378-4320(89)90052-3.
- 11 Malmakov, NI, Ptáček, M., Savvulidi, FG, Stadnik, L. (2022). Optimal time for Laparoscopic intrauterine insemination performed on ewes detected in natural heat. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 10. DOI: 10.1016/j.sjbs.2022.103416.
- 12 Selionova, MI, Aibazov, MM, Zharkova, EK. (2023). Cryopreservation and Transfer of Sheep Embryos Recovered at Different Stages of Development and Cryopreserved Using Different Techniques. *Animals*, 13, 2361. DOI:10.3390/ani13142361.
- 13 Husein, MQ, Ababneh, MM, Ghozlan, HA. (2006). *Effect of progesterone supplement prior to pessary removal on reproductive performance of ewes out-of-season*. In: Book of Abstracts of the 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey: 12, 196.
- 14 Bari, F., Khalid, M., Haresign, W., Murray, A., Merrell, B. (2000). Effect of mating system, Flushing procedure, progesterone doze and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET programme in sheep. *Theriogenology*, 53: 3, 727-742.
- 15 Tervit, HR, Gold, PG. (1984). Deep freezing of sheep embryos. *Theriogenology*, 21, 268.

References

- 1 Bols, P.E.J., Stout, T.A.E. (2018). *Transvaginal Ultrasound-Guided Oocyte Retrieval (OPU: Ovum Pick-Up) in Cows and Mares*. In: Niemann, H., Wrenzycki, C. (eds) Animal Biotechnology 1. Springer, Cham.
- 2 Hansen, PJ. (2020). The incompletely fulfilled promise of embryo transfer in cattle-why aren't pregnancy rates greater and what can we do about it. *J Anim Sci.*, 98(11), skaa288. DOI: 10.1093/jas/skaa288.
- 3 Kassens, A., et al. (2015). Intrafollicular Oocyte Transfer (IFOT) of Abattoir-Derived and In Vitro Matured Oocytes Results in Viable Blastocysts and Birth of Healthy Calves. *Biol. Reprod.*, 92(6), 150. DOI: 10.1095/biolreprod.114.124883.
- 4 Malmakov, NI, Kulataev, BT, Iskakov, KA, Tastaganov, MA. (2023). Features of effective breeding methods to improve the reproduction ability of kazakhrough-wooled sheep. *Izdenister, nátiyeler*, 3(99), 5-10. DOI: 10.37884/3-2023/01.
- 5 Katasheva, A, Kulataev, BT, Bednyagin, D. (2024). Etti-maily quiryqty tuqymdy qoılardyń ónimdi jáne biologıalyq erekshelikterin arttyry. *Izdenister, nátiyeler*, 2(102), 36-42. DOI: 10.37884/2-2024/04. [in Kazakh].
- 6 Malmakov, NI. (2016). *Soverşenstvovanie metodov biotekhnologii vosproizvodstva oves i koz*. Palmarium Academic Publishing: 127. [in Russ].
- 7 Rizos, D., Lonergan, P., Ward, F., Duffy, P., Boland, MP. (2002). Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization, or early embryo development in vitro versus in vivo: Implications for blastocyst yield and blastocyst quality. *Molecular Reproduction Development*, 61, 234-248. DOI:10.1002/mrd.1153. [in Russ].
- 8 Spanov, AA, Bekenov, DM, Musabaev, BI. (2014). *Metodicheskaja rekommendacija po uskorennomu vosproizvodstvu krupnogo rogatogo skota s ispolzovaniem metodov biotekhnologii*. Rekomendacija, Almaty: 39. [in Russ].
- 9 Baril, G., Traldi, AL, Cognie, Y., Leboeuf, B., Beckers, JF, Mermilliod, P. (2001). Successful direct transfer of vitrified sheep embryos. *Theriogenology*, 56: 2, 299-305.

- 10 Massip, A., Van Der Zwalm, P., Scheffen, B., Ectors, F. (1989). Some significant steps in the cryopreservation of mammalian embryos with a note on a vitrification procedure. *Animal Reproduction Science*, 19(1–2), 117–129. DOI:10.1016/0378-4320(89)90052-3.
- 11 Malmakov, NI, Ptáček, M., Savvulidi, FG, Stadnik, L. (2022). Optimal time for Laparoscopic intrauterine insemination performed on ewes detected in natural heat. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29, 10. DOI: 10.1016/j.sjbs.2022.103416.
- 12 Selionova, MI, Aibazov, MM, Zharkova, EK. (2023). Cryopreservation and Transfer of Sheep Embryos Recovered at Different Stages of Development and Cryopreserved Using Different Techniques. *Animals*, 13, 2361. DOI:10.3390/ani13142361.
- 13 Husein, MQ, Ababneh, MM, Ghozlan, HA. (2006). *Effect of progesterone supplement prior to pessary removal on reproductive performance of ewes out-of-season*. In: Book of Abstracts of the 57th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Antalya, Turkey: 12, 196.
- 14 Bari, F., Khalid, M., Haresign, W., Murray, A., Merrell, B. (2000). Effect of mating system, Flushing procedure, progesterone doze and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET programme in sheep. *Theriogenology*, 53: 3, 727–742.
- 15 Tervit, HR, Gold, PG. (1984). Deep freezing of sheep embryos. *Theriogenology*, 21, 268.

Қазақтың құйрықты қылышық жүнді тұқымды қойларының эмбриондарын жуу нәтижелері

Сембаева А.И., Малмаков Н.И., Исқаков К.А., Асылбекова Э.Б., Есжанова Э.Б.,
Бактыбаева Г.Е.

Түйін

Алғышарттар мен мақсат. Соңғы уақытта өндірістің, сондай-ақ шаруашылық жүргізуши субъектілердің өзекті міндеті инновациялық технологияларды енгізу және оларды одан әрі дамыту болып табылады. Басым бағыттардың бірі – өнімділігі жоғары асыл тұқымды жануарлардың әмбриондарын трансплантациялау. Зерттеудің мақсаты – әрі қарай көбею үшін қазақтың құйрықты қылышық жүнді қойларының құнды генетикалық материалын сақтау.

Материалдар мен әдістер. Зерттеулер Алматы облысының «Медхан» ШҚ қазақтың құйрықты қылышық жүнді тұқымды қой аналықтарында Қ.У. Медеубеков атындағы қой шаруашылығы ғылыми-зерттеу институтының «Қазақ мал шаруашылығы және жемшөп өндіру ғылыми-зерттеу институты» ЖШС филиалы қой есіру биотехнологиясы зертханасында жүргізілді. Донорлардың суперовуляциясын тудыру үшін фоллимаг пен фоллтропин гормоналды препараттары қолданылды. Аналық бездердің реакциясын бағалау лапараскоппен жүргізілді. Донорлардағы әмбриондарды жуу лапаротомия әдісімен жүргізілді. 0,25 мл түйіршік әмбриондарды криоконсервациялау Cryologic CL8800 (Австралия) мұздатқышында орындалды және әмбриондарды витрификациялау жаңа әдіспен жүргізілді.

Нәтижелер. Суперовуляцияны тудырған кезде 38 донор қойдан 107 әмбрион алынды оның ішінде морула сатысында 93 әмбрион криоконсервіленді және бластоцист 0,25 мл түйіршікке витрификацияланды. Әмбриондарды жуудың тиімділігі 45% құрады. Мұздатылған әмбриондардың сапасын бағалау кезінде 2 айдан кейін 6 түйіршік ерітілді. Cryologic CL8800 бағдарламалық мұздатқышымен мұздатылған екі түйіршікте әмбриондардың жасушаішілік салмағы жойылды өміршендік деңгей 20% құрады. Мұздатылған витрификация әдісімен әмбрионы бар үш түйіршіктің бір түйіршігі жарамсыз болды, өміршендік деңгей 40% құрады.

Көрітінды. Фоллимаг гормоналды препаратын 7 мл дозада қолдану кезінде суперовуляция – 65,3%, фоллтропин жалпы 9 мл дозада 50,0% суперовуляцияны қамтамасыз етті. Фоллимаг гормоналды препаратына аналық бездердің реакциясы фоллтропинге қараганда 15,3% тиімді болды. Бұл ретте 107 әмбрион жуылды оның ішінде морула және бластоцист сатысында 93 әмбрион криоконсервацияланды әмбриондарды жуу 45% құрады. Зерттеу нәтижелері қой әмбриондарын витрификациялау әдісін қолдану шығын материалдарының шығындарын азайтуға ықпал ететіндігін және далада қолдануда практикалық тұрғыдан ерекшеленетіндігін көрсетті.

Кілт сөздер: қой; донор; ооцит; әмбрион; витрификация; мұздату.

The results of embryo flushing in Kazakh short-tailed coarse-haired sheep

Aigyl I. Sembayeva, Nurlan I. Malmakov, Kairat A. Iskakov, Elmira B. Assylbekova,
Elmira B. Yeszhanova, Gulzhan E. Baktybayeva

Abstract

Background and Aim. Recently, the introduction and further development of innovative technologies has become a pressing issue for production and economic entities. One of the priority areas is the transplantation of embryos from elite animals with high productive potential. The aim of this research was to preserve valuable genetic material from Kazakh fat-rumped coarse-wooled sheep for further breeding.

Materials and Methods. The research was conducted on ewes of the Kazakh fat-rumped coarse-wooled breed at the "Medkhan" farm in the Almaty region, in the laboratory of biotechnology of sheep reproduction at the Research Institute of Sheep Breeding named after K.U. Medeubekov, a Branch of the Kazakh Research Institute of Animal and Fodder Production LLP. To induce superovulation in donor-ewes the hormonal drugs Follimag and Follitropin were administered. Ovarian response and embryo flushing in donors were achieved via laparotomy. Embryo cryopreservation in 0.25 ml straws was performed using a Cryologic CL8800 freezer (Australia), and embryo vitrification was performed using a new method. Ovarian response to hormonal treatment was assessed by laparoscopy. Embryo flushing by donor ewes was performed by laparotomy. Cryopreservation of embryos in 0.25 ml straws was performed using a Cryologic CL8800 freezer (Australia), and embryo vitrification was performed using a new method.

Results. Superovulation was successfully induced in 38 donor ewes, yielding 107 flushed embryos, of which 93 embryos at the morula and blastocyst stages were cryopreserved and vitrified in 0.25 ml straws. The embryo flushing rate was 45%. To assess the quality of the frozen embryos after 2 months, 6 straws were thawed. In two straws frozen using the Cryologic CL8800 program freezer, the intracellular contents of the embryos were destroyed, and the survival rate was 20%. Of the three straws containing vitrified embryos, one straw was unusable, and the survival rate for vitrified embryos was 40%.

Conclusion. Administration of the hormonal drug Follimag at a dose of 7 ml resulted in superovulation in 65.3% of donor ewes, while Follitropin at a total dose of 9 ml resulted in superovulation in 50.0% of donor ewes. The ovarian response to Follimag was 15.3% more effective compared to Follitropin. A total of 107 embryos were flushed, of which 93 embryos at the morula and blastocyst stages were cryopreserved. Embryo flushing rate was 45%. The findings demonstrate that the vitrification method for sheep embryos reduces the cost of consumables and is practical for field application.

Keywords: sheep; donor; oocyte; embryo; vitrification; freezing.