

УДК: 57.08:636:31

ВОСПРОИЗВОДИМОСТЬ РЕЗУЛЬТАТОВ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ МЫШИ И КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

*Л. В. Горбунов*²
*Н. Д. Безуглый*¹
*А. С. Салина*²

¹ Украинская академия аграрных наук, Киев

² Институт животноводства УААН, Харьков

E-mail: Lab_cryo@ukr.net

Предложен способ повышения воспроизводимости результатов криоконсервирования эмбрионов мыши и крупного рогатого скота, который дает возможность свести к минимуму влияние индивидуальных свойств биообъекта и особенностей сопутствующих технологических операций. Установлено достоверное влияние состояния нативных эмбрионов на показатели их жизнеспособности при оценке выбранного способа криоконсервирования. Оценка эффективности криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота, определенная по показателю относительной приживляемости деконсервированных эмбрионов к таковой для нативных дала возможность снизить влияние индивидуальных свойств эмбрионов и условий проведения трансплантации более чем в два раза (разброс 79–92%).

Ключевые слова: воспроизводимость, эмбрионы мыши и крупного рогатого скота, оценка эффективности, криоконсервирование, индивидуальные свойства.

Повышение жизнеспособности деконсервированного объекта является частным случаем решения задачи воспроизводимости результатов эксперимента и основано на оптимизации множества взаимосвязанных биологических и физико-химических параметров. Высокая вариация комплекса взаимосвязанных факторов, влияющих на сохранность деконсервированного объекта — главная причина низкого уровня воспроизводимости результатов эксперимента [1]. Коэффициент вариации жизнеспособности деконсервированных эмбрионов животных в отдельных случаях достигает 100% и более. Поэтому для обеспечения условия сопоставимости полученных результатов требуется большое количество повторов опытов и, следовательно, высокий расход эмбрионального материала ($n > 30$ для каждого среднего значения). Это условие является существенным ограничением при проведении многофакторного исследования.

Высокая стоимость эмбрионов крупного рогатого скота (1 500–1 700 грн за штуку) и необходимость большого количества их для получения достоверного результата ($n > 30$) обуславливает потребность учитывать различное качество эмбрионов, что дает возможность уменьшить число используемого биообъекта в несколько раз [2]. Мини-

мизация необходимого количества эмбрионов, полученных от лабораторных животных, обеспечивает достоверный результат, уменьшает число образцов, взятых в опыт. Это дает возможность проводить исследования в соответствии с «Общими принципами экспериментов на животных», одобренными 1-м Национальным конгрессом по биоэтике, проведенным в Киеве в 2001 г., и согласованными с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [3].

Комплекс параметров, влияющих на жизнеспособность деконсервированных эмбрионов, с одной стороны, и множество работ, посвященных изучению этих показателей, — с другой, вызывает необходимость анализа снижения сохранности биообъекта при разных условиях проведения эксперимента. Для изучения закономерностей, определяющих воспроизводимость сохранности эмбрионов, нужны критерии, отражающие эффективность реализации различных этапов криоконсервирования и отвечающие требованиям сопоставимости полученных данных. Поэтому для повышения воспроизводимости результатов криобиологического эксперимента следует учитывать не только состояние эмбрионов, но и индивидуальные

особенности животных, которые являются их реципиентами.

Целью работы было повышение воспроизводимости результатов криоконсервирования эмбрионов млекопитающих с возможностью сопоставления полученных данных при разных условиях проведения эксперимента.

Материалы и методы

Объектом исследования были эмбрионы мыши и крупного рогатого скота, находившиеся на стадии развития от поздней морулы до экспандированной бластоцисты. Эмбрионы мыши получали от самок лабораторной мыши (*Mus musculus*) возрастом 6–8 недель, СВА и гибридных Fi(СВАхС57Bl), которые содержались в стандартных условиях вивария. Гормональную стимуляцию овуляции осуществляли внутривибрюшинным введением самкам гонадотропина сыворотки жеребой кобылы (ГСЖК, Intervet, РФ) и (через 46–50 ч) хорионического гонадотропина человека (чХГ, Profasi) в дозах 5 МЕ [4]. Эмбрионы необходимой стадии развития получали через 86–94 ч после инъекции чХГ промыванием препарированных яйцеводов и рогов матки фосфатно-солевым буфером Дюльбекко (Sigma, США) [4]. Забой самок осуществляли посредством смещения шейных позвонков. Среду с биообъектом помещали в пластиковые чашки Петри. Поиск эмбрионов и манипуляцию с ними выполняли при помощи микроскопа МБС-9 с увеличением в 28 раз (общий вид) и в 98 раз (для оценки отдельных бластомеров).

Эмбрионы крупного рогатого скота получали от коров и телок разного возраста, у которых вызывали суперовуляцию введением 1 500–3 000 интернациональных единиц (ИЕ) ГСЖК на 10–11-й день полового цикла, и спустя 48–56 час вводили дозу простагландина $F_{2\alpha}$ (Sprofa, Чешская Республика). Осеменивание животных осуществляли трехкратно двойной дозой замороженно-оттаянной спермы. Получали эмбрионы на 6–8-й день полового цикла нехирургическим способом. В качестве промывной среды использовали фосфатно-солевой буфер Дюльбекко («Биолек», Украина, Харьков) в количестве 250–500 мл на один рог матки.

В экспериментах использовали эмбрионы отличного, хорошего и удовлетворительного качества. Качество эмбрионов оценивали по морфологическим признакам и по результатам их развития в культуре в условиях *in vitro* для мышей и *in vivo* для коров

[5, 6]. Критериями оценки качества и состояния эмбрионов мыши служили временные параметры развития и наличие или отсутствие видимых морфологических дефектов в соответствии с принятой классификацией, а эмбрионов коровы — наличие потомства.

Применяемые для проведения криоконсервирования эмбрионов мыши и коровы среды были приготовлены на основе фосфатно-солевого буфера Дюльбекко (Sigma) с добавлением 10% телячьей фетальной сыворотки (Sigma). При использовании медленных скоростей замораживания в качестве криопротектора применяли 1 М раствор глицерола (Fisher Scientific) для эмбрионов мыши и 1,2 М — для эмбрионов коровы с экспозицией 10 мин при температуре 20 ± 2 °С.

Замораживание эмбрионов осуществляли в разработанных нами устройствах, основанных на пассивном охлаждении термоблока в горловине сосудов Дьюара X-34 ($V = 35$ л): мыши [7] и коровы [8]. В качестве контейнера для замораживания биоматериала использовали пробирки Уленгута ($V \approx 0,75$ мл) и пластиковые соломинки ($V \approx 200$ мкл).

Воспроизводимость результатов криоконсервирования определяли при помощи коэффициента вариации C_v индивидуально для показателей, характеризующих состояние биологического объекта и выбранный способ криоконсервирования $M \{S, V, W\}$, поскольку сохранность деконсервированного объекта S зависит от его начального состояния S_0 и эффективности криоконсервирования W :

$$S = (n/n_c)100\%, \quad (1)$$

$$W = (V/V_0)100\%, \quad (2)$$

$$C_v = (G/M)100\%, \quad (3)$$

где n_c — общее количество биообъекта;
 n — количество биообъекта, пригодного к дальнейшему использованию;
 G — среднее квадратическое отклонение;
 V — жизнеспособность деконсервированного биообъекта;
 V_0 — жизнеспособность свежеполученного биообъекта;
 M — сохранность, жизнеспособность биообъекта или эффективность его криоконсервирования.

Для учета влияния разного качества эмбрионов на их состояние, оцениваемое на различных этапах криоконсервирования, использовали показатель жизнеспособности эмбрионов млекопитающих V [2]:

$$V = \frac{1}{n_c} \left(\sum_{i=2}^k H_i n_i \right) 100\%, \quad (4)$$

$$m = \sqrt{\frac{\sum_{i=2}^k (V - V_i)^2}{n_{\bar{n}}(n_{\bar{n}} - 1)}}, \quad (5)$$

где V_i — жизнеспособность эмбрионов i -го качества;

n_c — общее количество эмбрионов;

m — ошибка среднеквадратического отклонения;

n_i — количество эмбрионов i -го качества;

H_i — вероятность развития эмбрионов i -го качества в культуре *in vitro*, $H_i \{0,95; 0,85; 0,70; 0,30\}$ [6];

$i \{5, 4, 3, 2\}$ — номер группы эмбрионов с заданным качеством — отличным, хорошим, удовлетворительным и неудовлетворительным, соответственно;

k — количество групп эмбрионов различного качества.

Для оценки эффективности (W) реализации технологической операции, отражающей изменение жизнеспособности (V) эмбрионов мыши на заданном этапе относительно сравниваемого применяли предложенные показатели [2] (2 а÷d):

$$W_k = \frac{V_k}{V_{\bar{n}k}} 100\%, \quad W_t = \frac{V_t}{V_k} 100\%,$$

$$W_z = \frac{V_{dk}}{V_t} 100\%, \quad W_{dk} = \frac{V_{dk}}{V_{\bar{n}d}} \cdot 100\%, \quad (2a÷d),$$

где подстрочные символы обозначают этапы: k — культивирование свежеполученных эмбрионов; t — эквilibрация в криоконсерванте; z — замораживание-оттаивание; dk — применение криопротектора, режима замораживания-оттаивания и культивирования в комплексе; ck, ct, cd — оценка свежеполученных эмбрионов, предназначенных для культивирования, эквilibрации, замораживания.

Основные критерии, характеризующие состояние биообъекта и выбранного этапа криоконсервирования: сохранность — процент пригодности биологического объекта к дальнейшему применению (1); жизнеспособность — вероятность развития биологического объекта в культуре (4); эффективность этапа криоконсервирования — величина, характеризующая во сколько раз изменяется состояние биообъекта в результате выполнения заданной операции (2 а÷d); воспроиз-

водимость — разброс результатов, полученных при использовании заданного способа криоконсервирования (3); сопоставимость — возможность сравнения результатов, получаемых при использовании разных способов криоконсервирования (2 а÷d).

Результаты и обсуждение

Показателем эффективности выбранного способа криоконсервирования является жизнеспособность деконсервированного объекта. Критерием жизнеспособности эмбрионов животных служит возможность их дальнейшего развития с целью получения потомства [5, 6, 9, 10], т.е. вероятность развития в условиях *in vitro* (экспресс-тест) или *in vivo* (основной тест). Поэтому для сокращения расходов при определении воспроизводимости результатов криоконсервирования эмбрионов животных на первом этапе исследования в качестве модели эмбрионов крупного рогатого скота использовали эмбрионы мыши, а оценку их жизнеспособности производили по развитию в культуре в условиях *in vitro*.

Замораживание мышинных эмбрионов проводили в пробирках Уленгута в устройстве, принцип работы которого основан на пассивном остывании термоблока в горловине сосуда Дьюара [7]. Жизнеспособность (сохранность) для нативных эмбрионов мыши после их культивирования в условиях *in vitro* составила: для групп с отличным качеством — $87,9 \pm 1,5\%$ (100%), $n = 24$; удовлетворительным — $54,1 \pm 4,0\%$ ($63,0 \pm 7,2\%$), $n = 24$. После применения криопротектора и постановки на культуру: для групп с отличным качеством — $81,1 \pm 5,2\%$ ($90,7 \pm 4,8\%$), $n = 20$; удовлетворительным — $49,0 \pm 5,2\%$ ($54,4 \pm 8,8$), $n = 30$. Аналогичные показатели для деконсервированных эмбрионов составили: $79,5 \pm 1,7\%$ ($86,7 \pm 3,3\%$), $n = 30$ и $34,9 \pm 6,5\%$ ($28,0 \pm 9,5$), $n = 26$, соответственно (табл. 1).

Расхождение показателей жизнеспособности (сохранности) эмбрионов в группах с начальным отличным или удовлетворительным качеством, оцененных на различных этапах, было 32–47% (36–59%). Переход к относительным величинам дал возможность в два раза снизить влияние различного качества (удовлетворительного — отличного) эмбрионов мыши на оценку показателей эффективности: культивирования — 77–92%, применения криопротектора — 91–92%, режима охлаждения-отогрева — 71–98%, всех этапов криоконсервирования — 50–84%.

Таблица 1. Влияние исходного состояния эмбрионов мышцы на вероятность их развития в условиях *in vitro* после эквilibрации криопротектором, замораживанием

Этапы криоконсервирования	Качество эмбрионов (шт.)	Показатели, характеризующие выбранный этап криоконсервирования эмбрионов мышцы $M \pm m, \%$					
		Сохранность S	ΔS	Жизнеспособность V	ΔV	Эффективность W	ΔW
Развитие в культуре	Отличное (24)	100*	37	$87,9 \pm 1,5^*$	33,8	$92,5 \pm 1,6$	15,2
	Удовлетворительное (24)	$63,0 \pm 7,2^*$		$54,1 \pm 4,0^*$		$77,3 \pm 5,7$	
Эквilibрация в криопротекторе	Отличное (20)	$90,7 \pm 4,8^*$	36,3	$81,1 \pm 5,2^*$	32,1	$92,3 \pm 5,9$	1,7
	Удовлетворительное (30)	$54,4 \pm 8,8^*$		$49,0 \pm 5,2^*$		$90,6 \pm 9,7$	
Замораживание-оттаивание	Отличное (30)	$86,7 \pm 3,3^*$	58,7	$79,5 \pm 1,7^*$	44,6	$98,1 \pm 2,1$	26,9
	Удовлетворительное (26)	$28,0 \pm 9,5^*$		$34,9 \pm 6,5^*$		$71,2 \pm 13,1$	
Криоконсервирование	Отличное (30)	$86,7 \pm 3,3^*$	58,7	$79,5 \pm 1,7^*$	44,6	$83,7 \pm 1,8^*$	33,8
	Удовлетворительное (26)	$28,0 \pm 9,5^*$		$34,9 \pm 6,5^*$		$49,9 \pm 9,2^*$	

Примечание. * — $p < 0,05$ (по Стьюденту).

Для установления силы влияния биологических (различное качество) и технологических (этапы криоконсервирования: эквilibрация в криоконсерванте, замораживание-оттаивание, культивирование) факторов на состояние деконсервированных эмбрионов мышцы проведен двухфакторный дисперсионный анализ. Учет состояния эмбрионов по показателю сохранности позволил выявить одинаковую степень влияния биологического ($\eta_A^2 = 0,45$) и технологического ($\eta_B^2 = 0,32$) факторов. При использовании количественного показателя — жизнеспособности получена более чем в три раза большая величина степени влияния биологического фактора — $\eta_A^2 = 0,69$, чем технологического — $\eta_B^2 = 0,21$. При переходе к относительному показателю — эффективности, состояние биологического объекта, наоборот, оказало почти в два раза меньшую степень влияния ($\eta_A^2 = 0,22$), чем выбранный способ криоконсервирования ($\eta_B^2 = 0,37$).

Таким образом, определено достоверное влияние различного качества эмбрионов мышцы на оценку составляющих этапов криоконсервирования. Переход к количественным показателям почти вдвое уменьшает ошибку среднеквадратического отклонения, что повышает точность учета различного качества эмбрионов при оптимизации режимов замораживания, выборе криопротектора и подборе культуральных сред.

Показано, что приживляемость свежеполученных эмбрионов крупного рогатого ско-

та варьирует от 30 до 70% [5, 6, 9, 10]. Качество нативных и деконсервированных эмбрионов крупного рогатого скота существенно влияет на уровень их приживляемости. Поскольку оценка выбранного способа криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота производится по показателю их приживляемости (1), то, следовательно, он зависит от индивидуальных особенностей эмбриона и животного-реципиента. Этот факт подтверждает влияние комплекса факторов на величину стельности. Поэтому на втором этапе исследования для оценки воспроизводимости результатов криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота нами апробирован способ, учитывающий различное качество пересаженных эмбрионов, физиологическое состояние реципиентов, а также выбранный способ трансплантации биообъекта.

Для оценки эффективности способа криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота проанализированы данные приживляемости нативных и деконсервированных эмбрионов, полученных нами в опытных хозяйствах «Украинка ИЖ УААН» и Ахтырского района Сумской области [9, 10] (табл. 2). Эффективность криоконсервирования эмбрионов оценивали как отношение приживляемости деконсервированных и нативных эмбрионов.

Показатели приживляемости для нативных и деконсервированных эмбрионов имеют близкие значения и существенно зависят

от их качества: для отличного — 53 и 49%, удовлетворительного — 22 и 17%, соответственно. Если общепринятый абсолютный показатель оценки способа криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота — приживляемость — варьирует до 49% для отличного качества и до 17% — для удовлетворительного, то относительный показатель — эффективность — имеет меньшую величину разброса — до 92 и 79%, соответственно. Коэффициент вариации приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота удовлетворительного и отличного качества составляет 102–221%, в то время как эффективность криоконсервирования в 3,4–4,3 раза ниже — 30–52%. Сходимость относительных показателей приживляемости деконсервированных эмбрионов крупного рогатого скота основана на учете их начального состояния и особенностей применяемой технологии трансплантации.

Для повышения воспроизводимости и обеспечения сопоставимости результатов, полученных при разных условиях проведения эксперимента, предложены показатели,

определяющие состояние биообъекта и эффективность этапов его криоконсервирования. Учет начального состояния эмбрионов животных и особенностей применяемых технологических факторов, оказывающих влияние на сохранность биообъекта в цикле низкотемпературного консервирования, дает возможность установить закономерности низкой воспроизводимости результатов эксперимента и научно обосновать новые подходы к созданию эффективных способов криоконсервирования.

Следовательно, объективным показателем выбранного способа криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота различного качества является приживляемость деконсервированных зародышей относительно нативных, величина которой составляет 79–92%. Предложенный способ определения эффективности криоконсервирования эмбрионов дает возможность свести к минимуму влияние индивидуальных свойств биообъекта и особенностей его трансплантации, вносящих систематическую погрешность, что влияет на результат оценки.

Таблица 2. Влияние начального состояния деконсервированных (нативных) эмбрионов крупного рогатого скота на их приживляемость и эффективность криоконсервирования

Жизнеспособность эмбрионов разного качества	Количество стельностей и пересадок	Приживляемость		Эффективность, $W \pm m\%$	
		$P \pm m, \%$	ΔP	криоконсервирования	ΔW
Отличное 90,9±2,6* (95±2,5)	30/61 (32/60)	49,2 ± 6,4* (53,4 ± 6,4)	31,9 (31,5)	92,2 ± 6,4	13,2
Удовлетворительное 42,4±3,2* (70±2,5*)	0/58 (14/64)	17,3 ± 5,0* (21,9 ± 5,2)		79,0 ± 5,2	

Примечание. * — $p < 0,05$ (по Стьюденту).

Таким образом, определено влияние начального состояния мышинных эмбрионов на показатели их жизнеспособности, изменяющиеся до 47%, оцененные на различных этапах криоконсервирования. Переход к относительным показателям сохранности эмбрионов повышает воспроизводимость результатов в 1,2–4,7 раза и дает возможность сопоставлять результаты, полученные при разных условиях проведения эксперимента.

Дисперсионный анализ показателей жизнеспособности эмбрионов мыши показал, что вариация состояния биологического объекта оказала степень влияния $\eta^2_A = 0,69$, в то время как воздействие технологических операций — $\eta^2_B = 0,21$. При переходе к относительным показателям степень влияния технологического фактора увеличилась на

16% и достигла $\eta^2_B = 0,37$, а биологического — уменьшилась на 47% — $\eta^2_A = 0,22$, с уровнем надежности $P \geq 0,95$.

Эффективность криоконсервирования эмбрионов крупного рогатого скота, оцененная как отношение приживляемости деконсервированных эмбрионов и нативных, составила 79–92%. Приживляемость нативных и деконсервированных эмбрионов крупного рогатого скота различного качества составила 53 и 49%, а удовлетворительного — 22 и 17%, соответственно. Переход к относительным показателям приживляемости эмбрионов крупного рогатого скота удовлетворительного и отличного качества дал возможность снизить коэффициент вариации в 4,7–5,1 — от 98–205% до 21–40%.

ЛІТЕРАТУРА

1. Безуглий Н. Д. Низкотемпературная консервация яйцеклеток и эмбрионов в биотехнологии воспроизведения сельскохозяйственных животных : Автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук : спец. 06.00.27 «биотехнология» / Н. Д. Безуглий. — Харьков, 1995. — 48 с.
2. Горбунов Л. В. Оценка жизнеспособности эмбрионов и эффективности технологии их криоконсервирования // Пробл. криобиол. — 2003. — № 4. — С. 35–40.
3. European convention for the protection of vertebrate animals used experimental and other scientific purpose: Council of Europe 10. 03. 1986. — Strasburg, 1986. — 52 p.
4. Манк М. Биология развития млекопитающих: Методы. — М. : Мир, 1990. — 406 с.
5. Шихов И. Я., Сергеев Н. И. Морфологическая оценка качества ранних эмбрионов крупного рогатого скота // Арх. анат. гистол. эмбриол. — 1981. — В. 81, № 11. — С. 96–102.
6. Кауффольд П., Тамм И., Шихов И. Я. Оценка качества эмбрионов крупного рогатого скота: Руководство для работы по пересадке эмбрионов — М. : Агропромиздат, 1990. — 56 с.
7. Горбунов Л. В., Антоненко Т. С. Пристрій для заморожування статевих клітин і ембріонів ссавців у широкому спектрі швидкостей заморожування // НТБ ІТ УААН. — 2000. — № 78. — С. 18–21.
8. Пат. 1802700АЗ СССР, МКИ А 61 D 19/00. Установка для замораживания эмбрионов: Пат.1802700 АЗ СССР, МКИ А 61 D 19/00/Ф. И. Осташко, Н. Д. Безуглий, Е.Г. Валигура, Л. В. Горбунов (СССР); УНИ ИЖ. — №492296/14; Заявл. 29.03.91; Опубл. 15.03.93; Бюл.№10. — 4 с.
9. Кот В. С., Горбунов Л. В., Лісіна К. Г. Оценка технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота // Зб. наук. праць Луганського держ. аграр. ун-ту. — 2001. — №13. — С. 150–155.
10. Кот В. С., Безуглий М. Д., Горбунов Л. В. та ін. Збереження генофонду зникаючих порід сільськогосподарських тварин України з використанням біотехнологічних методів // Там само. — 2001. — №13. — С. 155–160.

ВІДТВОРЮВАНІСТЬ РЕЗУЛЬТАТІВ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ЕМБРІОНІВ МИШІ ТА ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Л. В. Горбунов²
М. Д. Безуглий¹
А. С. Саліна²

¹ Українська академія аграрних наук, Київ
² Інститут тваринництва УААН, Харків

E-mail: Lab_cryo@ukr.net

Запропоновано спосіб підвищення відтворюваності результатів криоконсервування ембріонів миші та великої рогатої худоби, який дає можливість звести до мінімуму вплив індивідуальних властивостей біооб'єкта і особливостей зв'язаних між собою технологічних операцій. Встановлено значний вплив стану нативних ембріонів на показники їхньої життєздатності під час оцінювання вибраного способу криоконсервування. Оцінка ефективності криоконсервування ембріонів великої рогатої худоби, визначена за показником відносного приживлення деконсервованих і нативних ембріонів, дала можливість знизити вплив індивідуальних властивостей і умов проведення трансплантації більш ніж у два рази (розкид 79–92%).

Ключові слова: відтворюваність, ембріони миші та великої рогатої худоби, оцінка ефективності, криоконсервування, індивідуальні властивості.

REPRODUCIBILITY OF THE RESULTS FOR CRYOPRESERVATION OF MOUSE AND CATTLE EMBRYOS

L. V. Gorbunov²
M. D. Bezugly¹
A. S. Salina²

¹ Ukrainian Academy of Agrarian Sciences, Kyiv
² Institute of Animal Science UAAS, Kharkiv

E-mail: Lab_cryo@ukr.net

The way to increase reproducibility of the results of cryopreservation of the mammalian embryos that enables to cut to a minimum influence of the individual properties of both: biological object and features of the concomitant technological operations was offered. Significant influence of a native embryos condition on their viability parameters was established at estimation of the chosen way of cryopreservation. Estimation of efficiency of cryopreservation of the bovine embryos, determined from a parameter of relative acceptability of the deconserved embryos to those for native ones has enabled to lower influence of individual properties of embryos and conditions of carrying out transplantation more than twice (dispersion is 79–92%).

Key words: reproducibility, embryos of mouse and bovine, estimation of efficiency, cryopreservation, individual properties.