

РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В УКРАИНЕ МЕТОДА ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ ПОРОДЫ АБЕРДИН-АНГУС.

И.В. Гузев, С.И. Ковтун, Л.В. Мадисон, И.С. Воленко, В.В. Мадисон

По данным ДСП «Главный селекционный центр Украины» проанализированы состояние и перспективы использования метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота породы aberdin-angus.

RESULT OF THE USE IN UKRAINE OF EMBRYO TRANSFER METHOD OF THE ABERDYN-ANGUS BREED.

I.V. Gusev, S.I. Kovtun, L.V. Madison, I.S. Volenko, V.V. Madison

From data of literature the state and prospects of development of embryo transfer method of the aberdyn-angus breed was analysed.

УДК 636.2.082.12

А.В. ДУВАНОВ*

Институт разведения и генетики животных УААН

ПРОЛОНГАЦИЯ ДЕЙСТВИЯ ГИПОФИЗАРНОГО ГОНДОТРОПИНА ДЛЯ СТИМУЛИАЦИИ ПОЛИОВУЛЯЦИИ У КОРОВ-ДОНОРОВ

По результатам 174 гормональных обработок ФСГ доказана возможность повышения эмбриопродуктивности коров-доноров при однократной инъекции в дозе 46–50 единиц Армировского стандарта с использованием пролонгатора действия гормона до уровня традиционной 8-кратной схемы инъекции гормона (8,3–8,4 качественного эмбриона на одну гормональную обработку).

Трансплантация эмбрионов, полiovуляция, пролонгация действия ФСГ

* Научный руководитель — Ю.П. Полупан, кандидат сельскохозяйственных наук.

© А.В. Дуванов, 2006

Розведення і генетика тварин. 2006. Вип. 40.

Полиовуляцию у коров-доноров можно вызывать двумя группами ФСГ+ЛГ-содержащих (фолликулостимулирующий гормон + лютеинизирующий гормон) препаратов:

- плацентарные гонадотропины, которые получают из сыворотки жеребых кобыл 45–100 дней жеребости (СЖК, интергонан, маротропин, фоллигон, гонадестрин, гонадотропин сывороточный и др.);
- гипофизарные гонадотропины, получаемые из гипофиза свиньи (фоллитропин, фолликтропин, грофоллон, ФСГ-п, ФСГ-супер и др.).

Суперовуляторная доза плацентарных гонадотропинов вводится однократно, так как период их полураспада в организме колеблется от 40 до 125 ч в зависимости от степени очистки. Недостатками применения этой группы препаратов являются значительная изменчивость ответной реакции на введение одинаковой дозы препарата, анафилаксия на введение нативных препаратов, проявление «тихой» охоты, растянутая овуляция, не высокое количество получаемых качественных эмбрионов, увеличение числа хромосомных аномалий, частые появления кист яичников, продолжительный период восстановления донора.

Гипофизарные гонадотропины намного эффективнее плацентарных по всем вышеуказанным показателям, так как они имеют высокую степень очистки, оптимальное соотношение ФСГ:ЛГ, строгую дозировку, выраженную в единицах Армопровского стандарта. Недостатком применения гипофизарных препаратов ФСГ является необходимость многократной инъекции (8–10 раз через каждые 11–12 ч), что обуславливается коротким периодом их полураспада (4–5 ч). Это повышает трудоёмкость гормональной обработки, увеличивает стрессовые воздействия на донора и снижает эффективность работы, особенно при бесприязвном содержании скота.

Разработка методов сокращения числа инъекций препаратов гипофизарных гонадотропинов для стимуляции полиовуляции при сохранении количества и качества получаемых эмбрионов позволило бы повысить эффективность их применения, снизить трудоёмкость гормональной обработки доноров. Одним из путей решения данной проблемы является разработка способов пролонгации действия гипофизарных гонадотропинов. С этой

целью разными авторами предложено и апробировано ряд препаратов и схем их введения [1–3, 5–16].

Учеными, проводившими исследования различных пролонгаторов ФСГ, доказана возможность однократной инъекции ФСГ+пролонгатор для вызывания полiovуляции у коров-доноров. Однако получены противоречивые результаты и по различным причинам этот метод не нашёл широкого применения в практике трансплантации эмбрионов. Это обуславливает необходимость поиска путей повышения эмбриопродуктивности коров-доноров с одновременным сокращением затрат труда и минимизации стрессов у животных, что и стало целью наших исследований.

Материал и методика исследований. Опыты по индукции суперовуляции у коров-доноров с использованием пролонгатора действия ФСГ проводились с 1992 по 2004 г. в племзаводе «Большевик» Ясиноватского района Донецкой, Лисичанском племпредприятии Луганской, Головном селекционном центре Украины (г. Переяслав-Хмельницкий) Киевской областей. Для опытов отбирали клинически здоровых коров и тёлок-доноров без анатомо-патологических изменений репродуктивных органов. Всего проведено 174 гормональные обработки.

Доноров обрабатывали гормоном ФСГ-супер (Россия) в суммарной дозе от 30 до 50 ед. Армировского стандарта. Доноров контрольной группы ($n = 104$) обрабатывали гормоном по классической четырехдневной схеме путём 8-кратных инъекций в убывающих дозах через 12 ч. Для коров опытной группы ($n = 70$) всю дозу гормона растворяли в 5–10 мл пролонгатора, представляющем собой 20–30%-ю эмульсию желатина, и вводили подкожно за лопаткой или в области нижней трети шеи (в местах с хорошо развитой подкожной клетчаткой).

Гормональная обработка доноров обеих групп начиналась с 8-го по 13-й день полового цикла. Синтетический аналог простагландин F_{2α} донорам контрольной группы инъектировали дважды в суммарной дозе 750–1000 мкг через 48 и 60 ч, а коровам опытной группы – однократно через 48 ч в дозе 500–750 мкг. Через 58–60 ч после первого введения простагландина F_{2α} доноры обеих групп осеменялись двух- или трёхкратно замороженно-отаянной спермой через каждые 10–12 ч в средней дозе 60 млн ак-

тивных сперматозоидов. Кратность осеменения зависела от количества, стадии развития и овуляции фолликулов.

Вымывание эмбрионов проводили нехирургическим методом на 7–8-й день. Качество полученных эмбрионов оценивали морфологически с классификацией их на отличные, хорошие, удовлетворительные и дегенерированные. Кроме того, фиксировали число неоплодотворенных яйцеклеток. Анализ результатов индукции суперовуляции у доноров проводили как в целом по группам, так и с разделением контрольной и опытной групп в зависимости от суммарной дозы инъекции ФСГ (30–35, 36–40, 41–45 и 46–50 ед. Арморовского стандарта).

Обработку результатов исследований проводили методами математической статистики на ПЭВМ средствами программного пакета «Statistica-6.0» в среде «Windows» [4].

Результаты исследований. Сравнительный анализ гормональной обработки доноров фолликулостимулирующим гормоном в суммарной дозе от 30 до 50 ед. по Арморовскому стандарту показывает, что для стимуляции полiovуляции и получения качественных эмбрионов (отличные, хорошие, удовлетворительные) можно использовать многократные (8–10) инъекции и однократное введение суперовуляторной дозы с пролонгатором (табл. 1).

В целом (без учёта дозы инъекции) как по реакции доноров суперовуляцией, так и по средней на одну гормональную обработку их эмбриопродуктивности более эффективной оказалась традиционная схема многократной инъекции гормона.

Так при многократной инъекции реакция доноров полiovуляцией на 16,6% выше, чем при однократной инъекции с применением пролонгатора (95,1% против 78,5%). По числу положительных вымываний такая разница составляет 25,1% (86,5% против 61,4%). Среднее число полученных за одну гормональную обработку эмбрионов и яйцеклеток, в том числе качественных эмбрионов, также значительно выше в контрольной группе, чем в опытной (соответственно на 3,18, или 30,8%, и на 2,74, или 34,2%) при достоверной разнице (соответственно $P < 0,05$ и $P < 0,01$). При этом относительно общего числа полученных эмбрионов и яйцеклеток доля качественных эмбрионов у доноров опытной и контрольной групп практически не отличалась

**1. Результаты индукции суперовуляции при много- и однократной
(с пролонгатором) инъекции ФСГ**

Показатели	Группы доноров	
	контрольная	опытная
Число гормональных обработок	104	70
Реагировало полiovуляцией	99	55
Положительных вымываний	90	43
Получено в среднем на 1 гормональную обработку всего эмбрионов и яйцеклеток	$10,44 \pm 0,757$	$7,17 \pm 1,135$
В том числе: эмбрионов всего	$9,25 \pm 0,721$	$6,44 \pm 1,047$
из них отличных	$5,07 \pm 0,538$	$2,90 \pm 0,594$
хороших	$1,95 \pm 0,260$	$1,57 \pm 0,368$
удовлетворительных	$0,66 \pm 0,123$	$0,47 \pm 0,143$
всего качественных	$7,68 \pm 0,647$	$4,94 \pm 0,794$
дегенерированных	$1,57 \pm 0,227$	$1,50 \pm 0,340$
яйцеклеток	$1,19 \pm 0,267$	$0,73 \pm 0,214$

(80,8% против 80,7%). По числу дегенерированных эмбрионов и неоплодотворенных яйцеклеток у доноров контрольной и опытной групп разница была также несущественной и недостоверной. Полученные результаты свидетельствуют о том, что применение пролонгатора действия ФСГ в сравнении с традиционной схемой многократной инъекции не оказывает существенного влияния на соотношение получаемых зигот по их качеству, а лимитирует преимущественно количественную составляющую результативности индукции полiovуляции.

Рабочей гипотезой для поиска путей повышения результативности применения схемы гормональной обработки при однократной инъекции ФСГ с использованием пролонгатора его действия было предположение о наиболее существенном влиянии на эмбриопродуктивность доноров дозы вводимого гормона. Для проверки рабочей гипотезы проведен сравнительный анализ результативности гормональных обработок доноров контрольной и опытной групп при разных дозах инъекции. Результаты анализа подтвердили рабочую гипотезу. Установлено, что повышение дозы инъекции гормона от 30–35 до 46–50 ед. Армировского стандарта достоверно повышает эмбриопродуктивность доноров как контрольной, так и опытной группы (табл. 2 и 3).

2. Эффективность гормональных обработок доноров при многократной схеме инъекции различных доз ФСГ

Показатели	Группы по дозе ФСГ (единиц Армировского стандарта)			
	30–35	36–40	41–45	46–50
Число гормональных обработок	7	19	22	56
Реагировало полиовуляцией	7	18	21	53
Положительных вымываний	7	16	19	48
Получено в среднем на 1 гормональную обработку:				
всего эмбрионов и яйцеклеток	7,72±0,865	8,26±1,772	9,77±1,594	11,79±1,083
В том числе: эмбрионов всего	5,43±1,066	7,84±1,751	9,05±1,580	10,29±1,006
из них: отличных	3,29±1,209	4,68±1,098	4,09±0,935	5,80±0,835
хороших	1,14±0,634	1,68±0,546	2,86±0,739	1,79±0,325
удовлетворительных	0	0,68±0,287	0,73±0,288	0,71±0,174
всего качественных	4,43±1,343	7,05±1,609	7,68±1,485	8,30±0,883
дегенерированных	1,00±0,690	0,79±0,302	1,36±0,381	1,98±0,364
яйцеклеток	2,29±1,322	0,42±0,176	0,73±0,256	1,50±0,448

3. Эффективность гормональных обработок доноров при однократной инъекции (с пролонгатором) различных доз ФСГ

Показатели	Группы по дозе ФСГ (единиц Армировского стандарта)			
	30–35	36–40	41–45	46–50
Число гормональных обработок	33	22	5	10
Реагировало полиовуляцией	23	19	4	9
Положительных вымываний	17	17	3	6
Получено в среднем на 1 гормональную обработку:				
всего эмбрионов и яйцеклеток	4,64±1,111	7,73±1,631	5,20±3,774	15,30±5,302
В том числе: эмбрионов всего	4,27±1,026	7,05±1,501	5,00±3,578	13,00±5,033
из них: отличных	1,82±0,610	3,41±0,683	3,80±2,905	4,90±3,049
хороших	1,30±0,358	1,68±0,490	0,60±0,400	2,70±2,071
удовлетворительных	0,39±0,174	0,55±0,314	0	0,80±0,467
всего качественных	3,52±0,836	5,64±1,144	4,40±3,234	8,40±3,792
дегенерированных	0,76±0,317	1,41±0,420	0,60±0,400	4,60±1,661
яйцеклеток	0,36±0,168	0,68±0,290	0,20±0,200	2,30±1,165

При некотором снижении относительной доли доноров контрольной группы, реагирующих на гормональную обработку полиовуляцией (от 100 до 94,6%), и положительных вымываний (от 100 до 85,7%), повышение общей дозы многократной инъекции ФСГ от 30–35 до 46–50 ед. Арморовского стандарта устойчиво и достоверно повышает как общее число получаемых в среднем за одну обработку эмбрионов, так и среднее число получаемых качественных эмбрионов (табл. 2). Разница между крайними по дозе инъекции подгруппами составила соответственно 4,86 ($t_d = 3,32$ при $P < 0,01$) и 3,87 ($t_d = 2,41$ при $P < 0,05$) эмбрионов. Таким образом, средний выход качественных эмбрионов на одну гормональную обработку практически удваивается. При этом соотношение получаемых эмбрионов по качеству остается практически на одном уровне. Доля качественных среди всех полученных эмбрионов в сравниваемых подгруппах составляет соответственно 79,3 и 78,7%.

При схеме однократной инъекции ФСГ с применением пролонгатора действия гормона динамика эмбриопродуктивности доноров с увеличением дозы введения гормона с 30–35 до 46–50 ед. Арморовского стандарта по направлению и пропорциям практически идентична таковой контрольной группы (табл. 3). При этом, в отличие от контрольной группы, отмечено также повышение полиовуляторной реакции (от 69,7 до 90%) и процента положительных вымываний (от 51,5 до 60,0). Общее число полученных в среднем на одну гормональную обработку эмбрионов возрастает более чем в три раза, в том числе качественных – в 2,4 раза при близкой к достоверной разности (соответственно $t_d = 1,70$ и $t_d = 1,26$). Отмеченное снижение относительной доли получаемых качественных эмбрионов с 87,8% при дозе инъекции 30–35 ед. Арморовского стандарта ФСГ до 65,3% – при дозе 46–50 ед. обусловлено исключительно возрастанием доли дегенерированных эмбрионов. Среднее же число получаемых качественных эмбрионов при однократной инъекции ФСГ в дозе 46–50 ед. Арморовского стандарта с применением пролонгатора его действия практически сравнивается с таковым при традиционной многократной инъекции в

той же дозе (8,40 в опытной против 8,30 эмбрионов — в контрольной группе при недостоверной разнице).

Выводы. 1. Применение пролонгатора действия гормона при однократной инъекции ФСГ в дозе 46–50 ед. Армировского стандарта обеспечивает достижение эмбриопродуктивности доноров на уровне гормональной их обработки по традиционной схеме 8-кратной инъекции при такой же общей дозе. При этом значительно снижаются стрессовая нагрузка на донора и трудоёмкость гормональной обработки.

2. Применение ФСГ-супер в общей дозе 30–35 ед. Армировского стандарта относительно среднего числа получаемых качественных эмбрионов является менее эффективным как при многократной, так и при однократной (с использованием пролонгатора) схеме гормональной обработки доноров крупного рогатого скота.

3. Как при традиционной многократной, так и при однократной (с пролонгатором) инъекции ФСГ увеличение общей дозы гормона значительно повышает результативность гормональной обработки.

1. Бабенков В.Ю. Использование трансплантации эмбрионов в воспроизводстве крупного рогатого скота Брестской обл. // Зоотехническая наука Беларуси. — Минск, 2000. — Т. 34 — С. 62–67.

2. Бабенков В.Ю. Стимуляция суперовуляции у коров одной подкожной инъекцией ФСГ в суспензии поливинилового спирта // Зоотехния. — 2003. — № 8. — С. 27–29.

3. Бабенков В.Ю., Токолов В.П., Моисеенко С.И. Пролонгированное действие ФСГ поливиниловым спиртом // Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин: Матер. міжнар. наук.-вироб. конф. — К.: Асканія-Нова, 1997. — С. 8–9.

4. Боровиков В. STATISTICA: искусство анализа данных на компьютере. Для профессионалов. — С.Пб.: Питер, 2001. — 656 с.

5. Бугров А.Д. Итоги и перспективы использования трансплантации эмбрионов в скотоводстве // Наук.-техн. бюл. Ін-ту тваринництва УААН. — Харків, 1998. — № 75. — С. 15–23.

6. Довгопол В.Ф., Осташко Ф.І., Ісаченко В.В. Застосування пролонгованих форм ФСГ-п при трансплантациї ембріонів у корів // Біотех-

нологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин: Матер. наук.-вироб. конф. — К., 1997. — С. 50–51.

7. Дуванов А.В. Использование пролонгатора гипофизарного гонадотропина для вызывания полиовуляции у коров// Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин: Матер. міжнар. наук.-вироб. конф. — К.: Асканія-Нова, 1997. — С. 27–28.

8. Завертяев Б.П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота. — Л.: Агропромиздат, 1989. — 255 с.

9. Кремлëв Е.П. Использование пролонгированных гормональных препаратов в биотехнике размножения крупного рогатого скота // Селекционно-генетические и биотехнологические проблемы разведения крупного рогатого скота: Матер. II Междунар. науч.-практ. конф. — Брест, 1995. — С. 59–60.

10. Mass A.O., Хмельков В.М., Коломієць Є.О. Викликання суперовуляції й пересадка ембріонів у тварин м'ясного напрямку продуктивності // Теоретичні й практичні аспекти породоутворювального процесу у молочному та м'ясному скотарстві: Матер. наук.-вироб. конф. — К., 1995. — С. 271.

11. Пролонгирование действия гипофизарных гонадотропинов при стимуляции суперовуляции у коров-доноров / В.Ю. Бабенков, Ю.А. Якубец, Л.В. Бабенкова, И.С. Кыса // Сельскохозяйственная биотехнология: Матер. II Междунар. науч.-практ. конф. — Горки, 2001. — С. 351–353.

12. Стимулятор пролонгации фолликулостимулирующего гормона для суперовуляции у коров-доноров / В.Ю. Бабенков, Л.В. Бабенкова, Ю.А. Якубец, В.П. Токолов // Заявка № 20020647 от 23.07.02; Опубл. 30.03.03, Бюл. № 1. — С. 16.

13. A single 50 mg injection of FSH for superovulation of embryo donor cattle / K.G. Hill, C.W. McFarland, R.N. Rorie et al. // Theriogenology. — 1984. — V. 23. — N 1. — P. 196.

14. Comparison of once daily and twice daily FSH injection for superovulating beef cattle/ C.R. Looney, B.W. Boulte, L. Archibald et al. // Theriogenology. — 1981. — V. 15, N 1. — P. 13–18.

15. Does C., Stringfellow D., Shultz P.D. Incorporation of follicle stimulating hormone used for embryo transfer in cattle into multilamellar lysosomes// Theriogenology. — 1984. — V. 21, N 4. — P. 661–675.

16. Sacher B., Niemann F. Kontinuier liche FSH-Application zur superovulationsauslosung bei rind und schaf // Zuchthygiene. — 1987. — V. 22, N 3. — S. 108.

ПРОЛОНГАЦІЯ ДІЇ ГІПОФІЗАРНОГО ГОНАДОТРОПІНУ ДЛЯ СТИМУЛЯЦІЇ ПОЛІОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ. А.В. Дуванов

За результатами 174 гормональних обробок ФСГ доведено можливість підвищення ембріопродуктивності корів-донорів за одноразової ін'єкції у дозі 46–50 од. Арморовського стандарту з використанням prolongатора дії гормона до рівня традиційної 8-разової схеми ін'єкції гормона (8,3–8,4 якісного ембріона на одну гормональну обробку).

PROLONGATION OF HYPOFIS GONADOTROPIN ACTION FOR STIMULATION POLYOVULATION OF COWS-DONORS. A.V. Duvanov

By results of 174 hormonal processings FSH the opportunity of increase cows-donors embryos yield is proved at a unitary injection in a doze of 46–50 units Armore standard with use prolongation actions of a hormone up to a level of the traditional 8-fold circuit of an injection of a hormone (8,3–8,4 qualitative embryos on one hormonal processing).