

произвести садку, преимущественно дают сперму с низкой криорезистентностью. При одинаковой продолжительности рефлекса эякуляции объем спермы различался почти втрое, что обусловлено разным содержанием живчиков в придатках семенников, гормональным профилем и тонусом мускулатуры придаточных половых желез.

*Ключевые слова:* жеребцы, половые рефлексы, диспансеризация.

#### SEXUAL BEHAVIOR INVESTIGATION OF THE STALLIONS FOR THE GENITAL TRACT EXAMINATION

*Tkachov A.; Institute of animal science, UAAS*

*This article highlights the experimental research results on sexual behavior evaluation of the Ukrainian native roadster stallions bred by the Kharkov stud. This article presents the test data on reproductive characteristic estimation efficiency. The update techniques were elaborated. The methods were based on sexual behavior observation. Erection-inhibited stallions proved to produce off quality semen with poor freezing resistance. The above-mentioned stallions tend to unsuccessful mating attempts.*

*Ejaculated sperm quantity was 3-fold impaired by homogeneous ejaculation span. Decrease is conditioned by the various sperm reserve in the testis adventives, hormonal profile & musculature tone of accessory sexual glands.*

*Key words:* stallions, sexual behavior, dispensary system.

УДК 636.2:591.147

#### ЗАСТОСУВАННЯ ЛІПОСОМАЛЬНОЇ ЕМУЛЬСІЇ ДЛЯ ВВЕДЕННЯ ГОНАДОТРОПІНУ ПРИ ІНДУКЦІЇ ПОЛІОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ

*Рецензенти:* доктор біол. наук, професор Розгоні І.І.; доктор біол. наук, професор Бугров О.Д.

**М.М. Шаран**

Інститут біології тварин УААН

*Наведено дані про результати вивчення впливу фолікулостимулюючого гормону (ФСГ) із ліпосомальною емульсією на рівень множинної овуляції та якість ембріопродукції у корів-донорів. Встановлено, що дворазова ін'єкція препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії спричинює множинну овуляцію у корів-донорів на рівні стандартної схеми уведення «Фолікотропіну», кількість морфологічно якісних ембріонів при цьому приблизно однакова. Зменшення дози «Фолікотропіну» у складі ліпосомальної емульсії знижує на 50-60 % показники ембріопродукції у корів-донорів.*

**Ключові слова:** корова-донор, множинна овуляція, ембріон, ембріопродукція, фолікулостимулюючий гормон, „Фолікотропін”.

Дослідження методу викликання множинної овуляції у корів спрямовані на максимальне одержання морфологічно якісних ембріонів [1]. Проте індукування якісної і стабільної поліовуляції донорів великої рогатої худоби залишається однією з проблем сучасної трансплантації ембріонів [2]. Хоч вказаному технологічному етапу присвячена значна частина наукових досліджень, у практичній ембріології за результатами ембріопродуктивності спостерігається

висока варіабельність. При цьому лише 60 % корів-донорів реагують поліовуляцією і 60 % ембріонів від кількості отриманих - життєздатні [3-5].

Для індукції поліовуляції застосовують два гонадотропних препарати: гонадотропін сироватки жеребних кобил (ГСЖК) і фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) [6].

Використання ФСГ є ефективніше, оскільки дає стабільні результати ембріопродуктивності, швидше проходять інволюційні процеси в яєчниках і матці, що дає змогу використовувати корів-донорів 2-4 рази за рік [7].

Однак, застосування ФСГ передбачає багаторазові внутрішньом'язові ін'єкції (8-10 разів), що викликає додаткові стреси, а також трудові затрати. У зв'язку з цим дослідники намагалися застосовувати пролонгувальні речовини різного походження, проте досягти стабільних результатів їм не вдалося.

Численні літературні дані у галузі біології і медицини вказують на ефективність застосування ліпосом (водних суспензій фосfolіпідів), які використовують для введення різних лікарських і косметичних форм в організм з метою тривалої їх дії [8-9]. У ветеринарній практиці зроблена ефективна спроба використання ліпосомальної емульсії для стимуляції репродуктивної функції корів [10-11].

У зв'язку з цим метою наших досліджень було з'ясування ефективності застосування ліпосомальної емульсії у комплексі з ФСГ для викликання множинної овуляції у корів-донорів.

**Матеріал і методи досліджень.** Дослідження проведені у СП «Україна-Лайвсток» на коровах чорно-рябій голштинізованої худоби віком 4-7 років.

Було відібрано 48 корів і сформовано 4 групи: (1) контрольну і три (2-4) дослідні. Гормональну індукцію множинної овуляції проводили, використовуючи препарат ФСГ «Фолікотропін» (Чехія) за традиційною 4-денною схемою, суть якої полягала у наступному:

1. Дворазове введення естрофану в сумарній дозі 1000 мкг клопростенолу з інтервалом 11 днів.
2. 0-й день – статева охота (спостереження за проявами).
3. Уведення фолікотропіну:

|           |                                           |                         |
|-----------|-------------------------------------------|-------------------------|
| 8-й день  | 8 год – 80 ІО (2 фл.)                     | 20 год – 80 ІО (2 фл.); |
| 9-й день  | 8 год – 80 ІО (2 фл.)                     | 20 год – 80 ІО (2 фл.); |
| 10-й день | 8 год – 40 ІО (1 фл.) +<br>2 мл естрофану | 20 год – 40 ІО (1 фл.); |
| 11-й день | 8 год – 40 ІО (1 фл.)                     | 20 год – 40 ІО (1 фл.); |
4. 12-й день 16 год – штучне осіменіння;
5. 13-й день 9 год і 16 год. – штучне осіменіння;
6. 19-й день – вимивання ембріонів і їх морфологічна оцінка.

Коровам-донорам дослідних груп індукцію суперовуляції проводили дворазовим введенням фолікотропіну з використанням ліпосомальної емульсії, до складу якої входили: тривіт – 4 мл, лецитин – 1 мл, твін – 0,2 мл (табл. 1).

## 1. Схема індукції множинної овуляції у корів-донорів

| Показники                            | Групи тварин                   |                                           |                                           |                                           |
|--------------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                      | контрольна                     | 1 дослідна                                | 2 дослідна                                | 3 дослідна                                |
| Кількість корів-донорів              | 12                             | 14                                        | 12                                        | 10                                        |
| Спосіб викликання множинної овуляції | 400 ІО за вище вказаною схемою | 200 ІО на 8-й день та 200 ІО на 10-й день | 160 ІО на 8-й день та 160 ІО на 10-й день | 140 ІО на 8-й день та 140 ІО на 10-й день |

Штучне осіменіння корів-донорів проводили цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки, використовуючи подвійну дозу сперми бугаїв голштинської породи згідно зі закріпленням.

Нехірургічне вимивання ембріонів проводили, застосовуючи катетери Minitüb (Німеччина) згідно з методикою, описаною у Довіднику з репродуктивної біотехнології [3]. Ембріони були використані у дослідженнях із кріоконсервації і трансплантації реципієнтам.

Отримані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft Office Excel.

**Результати досліджень.** Аналізуючи результати досліджень, слід відзначити, що дворазова ін'єкція препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії викликає множинну овуляцію у корів-донорів на рівні стандартної схеми введення «Фолікотропіну» (табл. 2).

## 2. Рівень множинної овуляції та якість ембріопродукції корів-донорів

| Показники                                     | Групи тварин |            |             |              |
|-----------------------------------------------|--------------|------------|-------------|--------------|
|                                               | контрольна   | 1 дослідна | 2 дослідна  | 3 дослідна   |
| Кількість корів-донорів                       | 12           | 14         | 12          | 10           |
| Прореагувало<br>поліовуляцією, n-%            | 8–66,7       | 9–64,3     | 8–66,7      | 7–70,0       |
| Рівень поліовуляції, M±m                      | 9,25±0,85    | 9,78±1,01  | 8,62±0,82   | 7,71±0,67    |
| Одержано ембріонів,<br>всього, n              | 54           | 64         | 50          | 43           |
| у т.ч.: доброякісних, n-%                     | 32–59,2      | 37–57,8    | 20–40,0     | 14–32,6      |
| дегенерованих, n-%                            | 16–29,6      | 20–31,3    | 21–42,0     | 19–44,2      |
| яйцеклітин, n-%                               | 6–11,1       | 7–10,9     | 9–18,0      | 10–23,2      |
| Розподіл відмінних<br>ембріонів, %            | 40,7         | 37,5       | 30,0        | 27,9         |
| Одержано ембріонів на 1<br>донора: всього M±m | 6,75±0,62    | 7,11±0,78  | 6,25±0,72   | 6,14±0,65    |
| доброякісних, M±m                             | 4,00±0,36    | 4,11±0,42  | 2,50±0,22** | 2,00±0,34*** |
| дегенерованих, M±m                            | 2,00±0,18    | 2,22±0,20  | 2,63±0,21*  | 2,71±0,18*   |
| яйцеклітин, M±m                               | 0,75±0,09    | 0,78±0,10  | 1,12±0,12*  | 1,43±0,15**  |

*Примітка. Статистична вірогідність між контрольною і дослідними групами: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$ .*

Так, рівень поліовуляції у корів-донорів першої і другої груп був приблизно однаковий, що вказує на високу здатність препарату викликати множинну овуляцію. У тварин 3 і 4 груп рівень суперовуляції був нижчий відповідно на 7,3 % і 19,9 %, порівняно з контрольними коровами. Це свідчить про недостатню кількість ФСГ, застосованого у препаратах, що не забезпечує росту великої кількості фолікулів і є однією з причин відмови від подальшого використання таких доз гонадотропіну.

За кількістю одержаних ембріонів на 1 донора суттєвих розбіжностей між групами тварин, аналогічно як і за відсотком позитивних донорів, не спостерігали. Проте, якісна характеристика ембріонів значно відрізнялася в різних групах тварин. Так, кількість морфологічно якісних, дегенерованих ембріонів і яйцеклітин у корів 1 і 2 груп була майже однаковою і одночасно найвищою порівняно з іншими групами тварин.

У той же час кількість доброякісних ембріонів у корів 3 і 4 груп була меншою відповідно на 60,0 % ( $p<0,01$ ) та у 2 рази ( $p<0,001$ ), порівняно з донорами контрольної групи. Натомість кількість дегенерованих ембріонів у цих групах тварин була більшою відповідно на 31,5 % ( $p<0,05$ ) і 35,5 % ( $p<0,05$ ) ніж у контрольних корів. Збільшення кількості дегенерованих ембріонів у дослідних корів 3 і 4 груп, очевидно, пов'язане з недостатньою кількістю ФСГ, у результаті чого ембріони відстають за розвитком або дегенерують.

Ще більш вираженою була різниця за кількістю яйцеклітин, яка у донорів 3 і 4 дослідних груп була більшою відповідно на 49,3 % ( $p<0,05$ ) та майже у 2 рази ( $p<0,01$ ), що може бути наслідком меншої синхронності овуляції, викликані низькими дозами гонадотропіну.

Таким чином, індукція поліовуляції у корів-донорів за допомогою препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії дозволяє при менших стресових навантаженнях та трудових затратах забезпечити задовільні результати ембріопродукції.

Застосування комплексу *ліпосома-препарат* має ряд переваг над використанням лише препаратів. По-перше, ліпосоми дозволяють доставляти в клітини-мішені гормони, період напіврозпаду яких короткий. По-друге, препарат, інкапсульований у ліпосоми, забезпечує більший ефект, оскільки час його дії збільшується [12].

Отже, використання комплексу ліпосома-ФСГ забезпечує дозовану дію гормону на функцію яєчників, що сприяє одержанню достатньої кількості морфологічно повноцінних ембріонів.

#### **Висновки:**

1.Дворазова ін'єкція препарату ФСГ у складі ліпосомальної емульсії викликає множинну овуляцію у корів-донорів на рівні стандартної схеми введення «Фолікотропіну».

2.Застосування «Фолікотропіну» з ліпосомальною емульсією забезпечує одержання понад 4 морфологічно якісних ембріонів, що становить 57,8 % від загальної кількості вимитих ембріонів.

3.Зменшення дози «Фолікотропіну» на 20 % і 30 % у складі ліпосомальної емульсії знижує кількість доброякісних ембріонів у корів-донорів відповідно на 60 % ( $p<0,01$ ) та у 2 рази ( $p<0,001$ ).

#### **Бібліографічний список**

1.Бугров А. Д. Значение генетических и паратипических факторов при получении эмбрионов от коров-доноров /А. Д.Бугров, И. В.Ткачева, А. С.Погорелов //НТБ ІТ УААН.- №96, Матер. міжнар. наук.-практ. конф „Сучасні методи репродукції сільськогосподарських тварин: стан і перспективи розвитку”, 29-30.01.08. — Х., 2008. — С 76–80.

2.Мадисон В.В. Полиовуляция коров-доноров — поиск продолжается. Гонадотропины для индуцирования полиовуляции: Сучасні методи репродукції сільськогосподарських тварин: стан і перспективи розвитку / В. В. Мадисон, Л. В. Мадисон. //НТБ ІТ УААН.- № 96, Мат. міжнар. наук.-практ. конф.(29-30.01.08). — Х., 2008. — С.258–260.

3. Довідник з репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби: [довідник] / [В.П.Буркат, Р.Й.Кравців, В.В.Влізло і сп.]; за ред. Шаловила С. Г. - Льв., - 2004.-150 с.

4.Бугров О. Д. Трансплантація ембріонів у молочному скотарстві /О.Д.Бугров //Тваринництво України. — К. 1996. — №10. — С 14-15.

5.Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота /Ф.И.Осташко- К.: Аграрная наука. — 1995. — 184 с.

6.Сергеев Н. И. Руководство по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / [Сергеев Н. И., Решетникова Н. М., Абилов А. И. и др. ]- Дубровицы. — 2008. — 115 с.

7. Шаловило С. Г. Розробка наукових і практичних методів підвищення ефективності трансплантації ембріонів у племінному скотарстві: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. д-ра с.-г. наук: 22.05.96 „Українські технології”/ Степан Григорович Шаловило. — Чубинське, 1996.

8.Барсуков Л. И. Липосомы /Л. И.Барсуков //Соросовский образовательный журнал, 1998. — №10. — С 2-9.

9.Lasic D. D. Liposomes: From Physics to Applications. Amsterdam / D. D. Lasic .-Elsevier, 1993.

10.Сливчук Ю. І. Окисно-відновні процеси в мітохондріях тканин телиць і корів за умов полі овуляції, викликаной гонадотропінами: автореф. дис. на здобуття наук. ступ. канд. вет. наук: 17.05.05 /Юрій Іванович Сливчук; [НВБД УАД]. — Льв., 2005.

11.Сливчук Ю. І. Вплив фолікотропіну і «Поліфолу» на окремі показники енергетичного обміну в деяких внутрішніх органах статевозрілих телиць: Біологічні та сільськогосподарські науки /Ю. І. Сливчук //Аграрний вісник Причорномор'я. — Одеса, 2004. — Вип. 23. — С 167-173.

12. Марголис Л. Б. Липосомы и их взаимодействие с клетками /Марголис Л. Б., Бергельсон Л.Д. — Москва: Наука, 1986.

#### *ПРИМЕНЕНИЕ ЛИПОСОМАЛЬНОЙ ЭМУЛЬСИИ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ ГОНАДОТРОПИНА ПРИ ИНДУКЦИИ ПОЛИОВУЛЯЦИИ У КОРОВ-ДОНОРОВ*

*Шаран М. М., Институт биологии животных УААН*

*Приведены результаты изучения влияния фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) с липосомальной эмульсией на уровень множественной овуляции и качество эмбриопродукции у коров-доноров. Установлено, что двукратное введение препарата ФСГ в составе липосомальной эмульсии вызывает множественную овуляцию у коров-доноров на уровне стандартной схемы введения Фолликотропина, количество морфологически качественных эмбрионов при этом приблизительно одинаково. Уменьшение дозы Фолликотропина в составе липосомальной эмульсии снижает на 50-60 % показатели эмбриопродукции у коров-доноров.*

*Ключевые слова: корова-донор, множественная овуляция, эмбрион, эмбриопродукция, фолликулостимулирующий гормон, Фолликотропин.*

#### *GONADOTROPIN & LIPOSOME EMULSION MIXTURE USE BY MULTIPLE OVULATION INDUCTION IN THE COWS-DONORS*

*Sharan M.; Institute of animal biology, UAAS*

*This article highlights the experimental research results of follicle-stimulating hormone impact on multiple ovulation rate & embryo product quality in the cows-donors. FSH was mixed with liposome emulsion. Double preparation administration proved to induce multiple ovulation in the cows-donors. The preparation was administrated according to the standard scheme of Follicotropin injection. The morphological analysis was fulfilled. Prime quality of the embryos was proved. Qualitative & quantitative characters were similar. Follicotropin dose was impaired in liposome emulsion. Follicotropin dose decrease affects embryo product quality in the cows-donors. Percentage amounts 50-60%.*

*Key words: cow-donor, multiple ovulation, embryo, embryo production, follicle-stimulating hormone, Follicotropin.*