

УДК: 615.357:612.621.9:636.2

DOI: 10.52419/issn2072-2419.2024.1.336

## КЛИНИКО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОНИЖЕННЫХ КОНЦЕНТРАЦИЙ ФСТ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ СУПЕРОВУЛЯЦИИ У ВЫСОКОПРОДУКТИВНЫХ КОРОВ

**Ачилов В.В.\*** – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий; **Никитин Г.С.** – канд. ветеринар. наук, доцент кафедры генетических и репродуктивных биотехнологий.

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

\* achilov.vadim@mail.ru

**Ключевые слова:** суперовуляция, коровы-доноры, эмбрионы in vivo, фолликулостимулирующий гормон.

**Key words:** superovulation, donor cows, in vivo embryos, follicle stimulating hormone.

Поступила: 01.03.2023

Принята к публикации: 25.03.2024

Опубликована онлайн: 02.04.2024



### РЕФЕРАТ

Целью проведенных исследований являлось обоснование использования пониженных концентраций фолликулостимулирующего гормона для индукции суперовуляции у высокопродуктивных коров и телок. Исследования были проведены в одном из хозяйства Ленинградской области. После анализа племенных карточек и на основании ультразвуковой визуализации репродуктивных органов были отобраны перспективные животные доноры эмбрионов – коровы после первого отела и телки, достигшие физиологической зрелости, голштинской породы. По принципу аналогов были сформированы группы подопытных животных I и II куда вошли коровы и группы III и IV куда вошли телки, по восемь и шесть животных соответственно. Для индуцирования множественной овуляции были использованы схемы гормональной обработки, представленные в таблице 1. Схемы гормональной обработки составлялись в соответствии с методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, а также в соответствии с результатами ранее проведенных исследований и анализом литературных источников. В результате проведенных исследований установлено, что все подопытные животные одинаково отреагировали на гормональную схему, рекомендованную производителем экзогенных гонадотропинов и экспериментальную схему, с пониженной концентрацией последних. Выявлено отсутствие достоверных отличий количества желтых тел в группах коров и телок при использовании стандартной схемы стимуляции полиовуляции и с пониженным содержанием фолликулостимулирующего гормона. По количеству полученных эмбрионов также не выявлено разницы между подопытными группами коров и телок. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о целесообразности использования пониженных концентраций гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров и телок.

## ВВЕДЕНИЕ / INTRODUCTION

Ускорение селекции высокопродуктивных животных невозможно без внедрения биотехнологических методов воспроизводства и контроля их воспроизводительной функции [1, 4]. Получение и трансплантация эмбрионов, методом *in vivo* включает в себя отбор выдающихся, по племенной ценности самок-доноров, стимуляцию суперовуляции, осеменение и последующий сбор эмбрионов для подсадки их животным-реципиентам, либо криоконсервации. Метод трансплантации эмбрионов, полученных *in vivo*, известен уже давно, но активное его внедрение тормозится трудностями проведения самой процедуры, дороговизной препаратов, используемых для вызывания суперовуляции у животных и сложностью прогнозирования положительного ответа яичников на гормональную стимуляцию [5]. Однако, несмотря на трудности, сопряженные с данным методом, исследования в этом направлении ведутся довольно активно [2, 3]. Стимуляция суперовуляции — это воздействие на организм коров-доноров биологически-активными веществами вследствие которого в яичниках сразу группа фолликулов начинает развиваться до предовуляторной стадии, а затем происходит множественная овуляция. Для запуска этого процесса большинство специалистов используют препараты ГСЖК (плацентарные гонадотропины) или ФСГ (гипофизарные гонадотропины). Несмотря на довольно высокую стоимость использование гипофизарных гонадотропинов является более предпочтительным ввиду отсутствия побочных эффектов. Дозировки используемых гонадотропинов у коров различны и зависят от физиологического статуса и породы. Для коров молочных пород общая, рекомендованная производителем, доза составляет 1000 ЕД, мясных пород 800 ЕД, для телок 500 ЕД. Однако большая индивидуальная изменчивость животных, подвергаемых гормональной стимуляции, оставляет открытым вопрос о минимально необходимом количестве гормональных препара-

тов необходимых для индукции множественной овуляции.

Целью исследований являлось клинико-экспериментальное обоснование использования пониженных количеств гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ / MATERIALS AND METHODS

Исследования были проведены в одном из хозяйства Ленинградской области. После анализа племенных карточек и на основании ультразвуковой визуализации репродуктивных органов были отобраны перспективные животные доноры эмбрионов — коровы после первого отела и телки, достигшие физиологической зрелости, голштинской породы. По принципу аналогов были сформированы группы подопытных животных I и II куда вошли коровы и группы III и IV куда вошли телки, по восемь и шесть животных соответственно. Для индуцирования множественной овуляции были использованы схемы гормональной обработки, представленные в таблице 1. Схемы гормональной обработки составлялись в соответствии с методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, а также в соответствии с результатами ранее проведенных исследований и анализом литературных источников.

Для стимуляции множественного роста и созревания фолликулов использовали препарат «Плюсет», в состав которого входят гипофизарные гонадотропные гормоны - фолликулостимулирующий (ФСГ) и лютеинизирующий (ЛГ) 1000 ЕД на голову. Для синхронизации животных также использовали интравагинальные прогестероновые импланты CIDR insert, препараты «Ацегон» — синтетический гонадорелин и «Диолиник» синтетический аналог простагландина F2 $\alpha$ . Для животных I и III групп использовали стандартные дозировки «Плюсета» рекомендованные производителем, и используемые для индукции суперовуляции. Для животных II и IV использовали схему с

Таблица 1 – Схемы гормональной обработки коров и телок

дни	0	4	6	7	8	9	11	18
I опытная группа (стандартная концентрация ФСГ)								
К о р о в ы	Введе- ние CIDR	2 мл Ацегона	Двукрат- но ФСГ 3,0 мл	Двукратно ФСГ 2,5 мл	Двукратно ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл, Из- влечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбри- нов
	Введе- ние CIDR	2 мл Ацегона	Двукрат- но ФСГ 2,5 мл	Двукратно ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл, Из- влечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбри- нов
	II опытная группа (пониженная концентрация ФСГ)							
III опытная группа (стандартная концентрация ФСГ)								
Т е л к и	Введе- ние CIDR	2 мл Ацегона	Двукрат- но ФСГ 2,0 мл	Двукратно ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл	Двукратно ФСГ 0,5 мл, Из- влечение CIDR, Динолитик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбри- нов
	Введе- ние CIDR	2 мл Ацегона	Двукрат- но ФСГ 1,5 мл	Двукратно ФСГ 1,0 мл	Двукратно ФСГ 0,5 мл	Двукратно ФСГ 0,25 мл, Извлечение CIDR, Диноли- тик 5 мл	Двукратное осеменение	Сбор эмбри- нов
	IV опытная группа (пониженная концентрация ФСГ)							

понеженным содержанием ФСГ на 20% и 33% соответственно. Осеменение коров-доноров проводили цервикальным методом с ректальной фиксацией шейки матки в соответствии с «Приказом об утверждении условий применения биотехнологических методов искусственного осеменения племенных коров и телок». Извлечение эмбрионов проводили методом вымывания на 18 день после синхронизации половых циклов, руководствуясь методическими рекомендациями по порядку и условиям применения метода трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота [6]. Перед вымыванием эмбрионов, методом трансректальной пальпации, оценивали состояние яичников и подсчитывали количество желтых тел для учета реакции на воздействие экзогенными гонадотропинами. Поиск и оценку полученных эмбрионов проводили под бинокулярным микроскопом МБС-10. Определяли стадию развития эмбрионов, форму и целостность блестящей оболочки, отсутствие включений в перивителлиновом пространстве, характер дробления blastomeres и связь их друг с другом, состояние и однородность цитоплазмы.

## РЕЗУЛЬТАТЫ / RESULTS

Результаты подсчета функциональных желтых тел, а также количества и качества полученных эмбрионов представлены в таблице 2.

Все животные, подвергнутые гормональной стимуляции, положительно на нее отреагировали. Качество реакции оценивали по количеству функциональных желтых тел на яичниках в момент осуществления процедуры вымывания эмбрионов. В I группе количество желтых тел составляло  $7,25 \pm 1,66$  шт., во II группе  $7,12 \pm 1,45$  шт. Достоверной разницы между показателями в группах коров не выявили. В группах III и IV количество желтых тел на яичниках у телок составило  $7,50 \pm 1,04$  и  $7,33 \pm 1,75$  шт. соответственно, также без достоверных различий. Отсутствие различий в сравниваемых группах позволяет предполагать об одинаковом влиянии исследуемых схем на результативность множественной овуляции. Желтые тела располагались на правых и левых яичниках, выступая за границы яичника пальпировались как плотные образования. Общее количество полученных эмбрионов составило в первой группе –

Таблица 2 – Результаты индукции суперовуляции и получения эмбрионов

Показатели	Коровы		Телки	
	Опытная группа I (ФСГ стандартная схема)	Опытная группа II (ФСГ в пониженной концентрации)	Опытная группа III (ФСГ стандартная схема)	Опытная группа IV (ФСГ в пониженной концентрации)
Количество животных, отреагировавших на схему/%	8/100	8/100	6/100	6/100
Количество желтых тел в среднем по группе	$7,25 \pm 1,66$	$7,12 \pm 1,45$	$7,50 \pm 1,04$	$7,33 \pm 1,75$
Получено эмбрионов всего	45	41	32	28
На донора	$5,62 \pm 0,91$	$5,12 \pm 0,83$	$5,33 \pm 0,81$	$4,66 \pm 1,21$
Дегенерированных эмбрионов всего	10	11	8	5
На донора	$1,25 \pm 0,46$	$1,37 \pm 0,51$	$1,33 \pm 0,51$	$0,83 \pm 0,40$

45 шт., во второй группе 41 шт., в третьей группе – 32 шт., в четвертой группе – 28 шт. Количество эмбрионов, в перерасчете на одного донора, составляло в I и II группах коров  $5,62 \pm 0,91$  шт. и  $5,12 \pm 0,83$  шт., а в III и IV группах телок  $5,33 \pm 0,81$  шт. и  $4,66 \pm 1,21$  шт. соответственно. Не смотря на возможность потери части эмбрионов в процессе эмбриосбора, количество полученных эмбрионов в опытных группах не имело достоверных различий, что подтверждает возможность использования схем с пониженной концентрацией фолликулостимулирующего гормона для индукции полиовуляции у коров и телок. После оценки качества полученных эмбрионов было подсчитано количество дегенерированных эмбрионов. Общее количество дегенерированных эмбрионов составило в первой группе – 10 шт., во второй группе 11 шт., в третьей группе – 8 шт., в четвертой группе – 5 шт. Количество дегенерированных эмбрионов, в перерасчете на одного донора, составляло в I и II группах коров  $1,25 \pm 0,46$  шт. и  $1,37 \pm 0,51$  шт., а в III и IV группах телок  $1,33 \pm 0,51$  шт. и  $0,83 \pm 0,40$  шт. соответственно. Достоверных различий по количеству дегенерированных эмбрионов в группах коров и телок выявлено не было.

#### ВЫВОДЫ / CONCLUSION

В результате проведенных исследований установлено, что все подопытные животные одинаково отреагировали гормональную схему, рекомендованную производителем экзогенных гонадотропинов и экспериментальную схему, с пониженной концентрацией последних. Выявлено отсутствие достоверных отличий количества желтых тел в группах коров и телок при использовании стандартной схемы стимуляции полиовуляции и с пониженным содержанием фолликулостимулирующего гормона. По количеству полученных эмбрионов также не выявлено разницы между опытными группами коров и телок. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о целесообразности использования пониженных концентраций гипофизарных гонадотропинов для стимуляции множественной овуляции у высокопродуктивных коров и телок.

#### CLINICAL AND EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF THE USE OF REDUCED CONCENTRATIONS OF FSH DURING SUPEROVULATION IN HIGHLY PRODUCTIVE COWS

**Achilov V. V.**\* – Candidate of Sciences. Veterinarian, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies; **Nikitin G. S.** – Candidate of Sciences. Veterinarian, Associate Professor of the Department of Genetic and Reproductive Biotechnologies.

St. Petersburg State University of Veterinary Medicine

\* achilov.vadim@mail.ru

#### ABSTRACT

The purpose of the studies was to substantiate the use of reduced concentrations of follicle-stimulating hormone to induce superovulation in highly productive cows and heifers. The research was carried out in one of the farms in the Leningrad region. After analyzing breeding cards and based on ultrasound visualization of the reproductive organs, promising animal embryo donors were selected - cows after the first calving and heifers that had reached physiological maturity, Holstein breed. According to the principle of analogues, groups of experimental animals I and II were formed, which included cows, and groups III and IV, which included heifers, eight and six animals each, respectively. To induce multiple ovulation, hormonal treatment regimens were used, presented in Table 1. Hormonal treatment regimens were compiled in accordance with methodological recommendations on the procedure and conditions for applying the method of cattle embryo transplantation, as well as in accordance with the results of previously conducted studies and analysis of literary sources. As a result of the studies, it was established that all experimental animals responded equally to the hormonal regimen recommended by the manufacturer of exogenous gonadotropins and the experimental regimen, with a reduced concentration of the latter. It was revealed that there were no significant differences in the number of corpora lutea in the groups of cows and heifers when

using a standard scheme for stimulating polyovulation and with a reduced content of follicle-stimulating hormone. There was also no difference between the experimental groups of cows and heifers in the number of embryos obtained. Analyzing the data obtained, we can conclude that it is advisable to use reduced concentrations of pituitary gonadotropins to stimulate multiple ovulation in highly productive cows and heifers.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Авдеенко, В. С. Контроль воспроизводительной способности у коров на молочных предприятиях / В. С. Авдеенко, Г. С. Никитин, В. В. Ачилов, В. А. Гальченко // Ветеринарный фармакологический вестник. – 2023. – № 4(25). – С. 201-216.
2. Бригида, А. В. Прогнозирование эмбриопродуктивности коров-доноров на основании эхографической характеристики яичников / А. В. Бригида, В. И. Сорокин, С. Н. Ковальчук [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2018. – Т. 53, № 4. – С. 753-761.
3. Мадисон, В. В. Трансплантация эмбрионов на службе животноводства / В. В. Мадисон, Л. В. Мадисон // Зоотехния. – 2005. – № 5. – С. 31-32.
4. Никитин, Г. С. Современные подходы при получении и криоконсервации эмбрионов крупного рогатого скота in vitro / Г. С. Никитин // Международный вестник ветеринарии. – 2021. – № 3. – С. 192-205.
5. Сорокин, В. И. Результативность вымывания эмбрионов при индукции суперовуляции у коров-доноров / В. И. Сорокин,

А. В. Бригида // Ветеринария и кормление. – 2018. – № 4. – С. 31-32.

6. Инструкции по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота / Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства. Госагропромиздат, 1987.

#### REFERENCES

1. Avdeenko, V. S. Control of reproductive ability in cows at dairy enterprises / V. S. Avdeenko, G. S. Nikitin, V. V. Achilov, V. A. Galchenko // Veterinary Pharmacological Bulletin. – 2023. – № 4(25). – Pp. 201-216.
2. Brigida, A.V. Forecasting the embryoproductivity of donor cows based on the echographic characteristics of the ovaries / A.V. Brigida, V. I. Sorokin, S. N. Kovalchuk [et al.] // Agricultural Biology. - 2018. – vol. 53, No. 4. – pp. 753-761.
3. Madison, V. V. Embryo transplantation in the service of animal husbandry / V. V. Madison, L. V. Madison // Zootechny. - 2005. – No. 5. – pp. 31-32.
4. Nikitin, G. S. Modern approaches to obtaining and cryopreservation of cattle embryos in vitro / G. S. Nikitin // International Bulletin of Veterinary Medicine. - 2021. – No. 3. – pp. 192-205.
5. Sorokin, V. I. Effectiveness of embryo leaching during induction of superovulation in donor cows / V. I. Sorokin, A.V. Brigida // Veterinary medicine and feeding. - 2018. – No. 4. – pp. 31-32.
6. Instructions for bovine embryo transplantation / All-Union Scientific Research Institute of Animal Husbandry. Gosagropromizdat, 1987