

УДК 636.2.612.646.089.67

## КОМПЛЕКСНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ ПОЛИОВУЛЯЦИИ У КОРОВ-ДОНОРОВ ЭМБРИОНОВ

Н. Г. Минина, Ю. А. Горбунов

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

*(Поступила в редакцию 09.06.2015 г.)*

**Аннотация.** Установлено, что применение комплексной индукции полиовуляции, включающей акупунктурно-гормональное воздействие на коров-доноров, позволяет получить дополнительное количество пригодных к пересадке эмбрионов ( $n=24$ ; 53 против 77). В опытной группе получено 9,31 эмбрионов и яйцеклеток в расчете на одного реагиовавшего полиовуляцией донора, в то время как в контрольной группе на 3,31 ( $P \leq 0,001$ ) меньше. Использование акупунктурно-гормональной стимуляции способствовало увеличению выхода жизнеспособных эмбрионов в расчете на одного донора на 1,84 (4,08 против 5,92;  $P \leq 0,05$ ). Показатели их биологического качества и приживляемость у реципиентов после пересадки в контрольной и опытной группах не имеют достоверных различий. Применение комплексного метода акупунктурно-гормональной индукции полиовуляции повышает эффективность использования технологии трансплантации путем увеличения выхода эмбриопродукции и тем самым дает возможность получить дополнительное количество теллят-трансплантантов.

**Summary.** It was found that the use of a comprehensive induction of polyovulation that includes acupuncture and hormonal effects on donor-cows, allows to get an additional amount of embryos suitable for transplantation ( $n = 24$ ; 53 versus 77). The experimental group produced 9.31 embryos and ova per one responding to polyovulation donor, with the control group producing 3.31 ( $P \leq 0,001$ ) embryos less. The use of hormonal and acupuncture stimulation contributed to the 1.84 increase

*of the viable embryos yield per donor (4.08 against 5.92;  $P \leq 0,05$ ). The indicators of their biological quality and acceptability by recipients after transplantation into control and experimental groups have no significant differences. The integrated method of acupuncture and hormonal induction of polyovulation increases the efficiency of transplantation technology through growing output of embryo production and thereby provides an opportunity to get an additional amount of transplant-calves.*

**Введение.** Знание особенностей нейрогуморальной регуляции половой функции является теоретической основой для разработки практических приемов управления ею. В настоящее время зооветспециалисты хозяйств располагают гормональными препаратами, которые позволяют индуцировать охоту и полиовуляцию у коров-доноров, находящихся в определенной стадии полового цикла. Например, наиболее высокая эффективность стимуляции возможна лишь при обработке животных в фолликулярной фазе полового цикла. В то же время индуцированная овуляция в лютеальной фазе не обеспечивает необходимого уровня оплодотворяемости и дальнейшего нормального развития эмбрионов, поскольку в организме донора в это время находится большое количество гормона прогестерона, а фолликулы яичников содержат недостаточно зрелые яйцеклетки [2, 11].

В настоящее время разработаны и внедрены в практику гормональные методы воздействия на процесс воспроизводства и его управление.

Чаще всего для вызывания полиовуляции у крупного рогатого скота используются гонадотропные препараты (гонадотропин сыворотки жеребых кобыл – ГСЖК - плацентарный и фолликулостимулирующий гормон – ФСГ – из гипофиза животных), для синхронизации половых циклов – аналоги простагландина Ф2-альфа (эстрофан, магэстрофан, клопростенол, суперфан, ремофан, клатрапростин, эстуфалан и др.). Изменение эндокринного статуса при индукции полиовуляции может оказывать неблагоприятное действие на оплодотворяемость яйцеклеток, развитие зародышей, а также на физиологическое состояние половых органов (в частности, наблюдается кистозное их перерождение). В практике используются стандартные гонадотропные препараты высокой степени очистки: ФСГ-суппер (Россия), сергон (Чехия), фоллигон (Голландия), прегмагон (Германия). Эти препараты инъецируют донорам на 11-12-й день полового цикла, однократно, в дозе 50 ИЕ на 100 кг живой массы животного. Применение этих гонадотропинов обеспечивает вызывание множественной овуляции у 75-78% животных и получение в среднем 3,5-4,0 жизнеспособных эмбрионов на донора [3].

В медицине для профилактических, индуцирующих функцию органов и диагностических целей широкое применение получило акупунктурное воздействие на организм человека [5, 8]. Однако в животноводстве до сих пор не отработаны надежные методы биокоррекции репродуктивной функции посредством акупунктурного воздействия на биологически активные точки организма коров-доноров эмбрионов. В этой связи, перспективным представляется использование акупунктурного метода на животных, аналогично тому, как это распространено в практической медицине.

В настоящее время иглоукальвание, как метод акупунктурного воздействия на организм человека и животных, применяется во всем мире, особенно в Азии и Европе. В Европе ведущую позицию занимает Франция, а в Азии – Китай, где метод применяется даже для нормализации функции организма у таких экзотических животных, как враны и аквариумные рыбки.

Механизм лечебного действия иглы заключается в одновременном воздействии на организм животного трех факторов: рефлекторного, биохимического и электрофизического [12].

По результатам исследований, опубликованным Зейналовым О. А. [4], иглоукальвание в точки акупунктуры, отражающие функцию яичников у коров, стимулирует рост фолликулов и увеличение концентрации половых гормонов в крови. Перед обработкой содержание прогестерона и эстрадиола в крови находилось на низком уровне от 0,1 до 0,69 п/мл и от 2,6 до 9,1 п/мл соответственно. На 10-й день от начала обработки их концентрация в крови достоверно повышалась и достигала 0,41-3,04 п/мл и 3,8-43,7 п/мл соответственно. Автором установлено, что чем раньше после отела проводится иглоукальвание, тем легче организм животного реагирует на курс акупунктурной стимуляции яичников.

Клинический эффект акупунктуры реализуется благодаря изменениям биохимических процессов и выработке биологически активных веществ на местном, органном и системном уровнях организма в ответ на воздействие на точки акупунктуры. Это приводит к нормализации функционирования клеток, тканей, органов, систем и всего организма в целом.

Проведение дальнейших научных исследований может быть направлено на изучение физиологических процессов, происходящих в организме генетически высокоценных коров-доноров эмбрионов, с целью более глубокого их понимания. В ряде стран становится актуальной разработка и практическое применение метода акупунктурно-гормональной индукции полиовуляции коров-доноров [6, 10].

Нерешенность этой проблемы в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота и обусловила проведение исследований. Работа посвящена экспериментальному изучению и теоретическому обоснованию процессов акупунктурного воздействия на биологически активные точки, что опосредованно влияет на уровень полиовуляции.

**Цель работы:** изучить биологическую полноценность и приживляемость эмбрионов в связи с применением комплексной стимуляции индукции полиовуляции, включающей акупунктурно-гормональное воздействие на коров-доноров.

**Материал и методика исследований.** Исследования проведены в РУСП Племязавод «Россь» Волковысского района Гродненской области на коровах-донорах черно-пестрой породы. Для вызывания полиовуляции коровам-донорам контрольной группы инъекцировали гонадотропин ФСГ-супер (Россия) в дозе 50 единиц по Армортовскому стандарту.

На животных опытной группы предварительно воздействовали лазерным излучением, с частотой импульсов 512 Гц на первом этапе и 4046 Гц на втором на БАТ № 35, 40, 41 и 45, а также иглоукальванием на БАТ № 7 на втором этапе [7]. Все этапы акупунктурной обработки осуществляли последовательно: первый этап – в период с 5 по 7, а второй – с 8 по 10 дни после проявления эструса, непосредственно перед курсом гормональной индукции суперовуляции у коров-доноров.

Воздействие магнито-инфракрасным лазером на 4 биологически активные точки осуществлялось аппаратом «Милта-МВ» (Россия). Магнито-инфракрасно-лазерный терапевтический аппарат МИЛТА-МВ состоит из портативного переносного электронного устройства в пластмассовом корпусе с двумя штатными излучателями (терминалами). В аппарате МИЛТА-МВ корпус с излучателями и зарядными устройствами размещены в специальном футляре с наплечным и поясным ремнями.

Воздействие на животное осуществляется четырьмя физическими факторами: низкоинтенсивным лазерным излучением, пульсирующим инфракрасным, пульсирующим красным и постоянным магнитным полем.

Иглоукальвание проводилось на БАТ № 7, которая отражает функцию яичников и располагается на дорсомедиальной линии тела в углублении между остистым отростком последнего поясничного позвонка и первым крестцовым позвонком. Воздействие на неё вызывает ответную реакцию организма в пределах одного сегментарного или нескольких вегетативных метамеров. Физиологическая связь этой точки с яичниками осуществляется через нервные волокна каудально-

брыжеечного симпатического ганглия, формирующего нервные сплетения вокруг яичниковой и краниальной маточной артерии.

Для проведения процедуры иглоукалывания использовались тонкие одноразовые медицинские инъекционные иглы. Иглу вводили на глубину 20-30 мм вертикально. Продолжительность процедуры иглоукалывания составляла 15 мин. В этот период проводились (1-2 раза) непродолжительные манипуляции с иглами, т.е. вращательные и вертикальные колебательные движения. Извлечение игл выполняли путем легкого вращения, придерживая пальцами окружающую ткань.

Коров-доноров осеменяли ректоцервикальным способом трижды с интервалом 10-12 ч дозой замороженно-оттаянной спермы с активностью не ниже 4 баллов. Контроль реакции яичников, нехирургическое извлечение зародышей и оценку их качества проводили согласно методическим рекомендациям [1]. При проведении исследований учитывали следующие показатели: реакция полиовуляции по количеству желтых тел в яичниках в расчете на донора, выход эмбрионов, пригодных для трансплантации, а также дегенерированных зародышей, яйцеклеток и количество ановуляторных фолликулов.

Полученные результаты исследований были обработаны биометрически по общепринятым методам вариационной статистики по П. Ф. Рокицкому с использованием компьютерной программы M. Excel. В работе приняты следующие обозначения уровня P: \*P<0,05; \*\*P<0,01; \*\*\*P<0,001.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Совершенствование схем индукции полиовуляции у коров-доноров требует изыскания новых подходов к решению этой проблемы, разработки эффективных методов, позволяющих получать хорошие результаты по выходу эмбриопродукции.

Результаты исследований показали, что использование метода акупунктурно-гормональной индукции полиовуляции способствовало увеличению числа овуляций в расчёте на донора в опытной группе на 5% в сравнении с контрольной (83 против 78%). Число неовулировавших фолликулов снижается на 7,1% (P<0,01) у животных опытной группы по сравнению с контрольной. В опытной группе получено 77 эмбрионов, пригодных к трансплантации, что на 24 эмбриона больше по сравнению с контрольной группой. В контрольной группе получено 6,00 эмбрионов и яйцеклеток в расчете на одного реагировавшего полиовуляцией донора, в то время как в опытной группе на 3,31 (P<0,001) больше. Использование метода биокоррекции репродуктивной функции коров-доноров акупунктурой совместно с гормональной обработкой способствовало увеличению выхода жизнеспособных эмбрионов.

собных эмбрионов в расчете на одного донора на 1,84 (4,08 против 5,92;  $P < 0,05$ ).

Качественная оценка биологической полноценности и морфологический состав эмбрионов в связи с различными методами индукции полиовуляции представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Качественный и морфологический состав эмбрионов в связи с различными методами индукции полиовуляции

Показатели качества эмбрионов	Группы							
	контрольная, n=13				опытная, n=13			
	Всего, n/%	из них в стадии, n/%			Всего, n/%	из них в стадии, n/%		
		Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя
Отличн.	15/28,4	7/46,7	6/40,0	2/13,3	21/27,9	9/42,9	7/33,3	5/23,8
Хорош.	28/52,7	4/14,3	18/64,3	6/21,4	42/54,5	10/23,8	23/54,8	9/21,4
Удовл.	10/18,9	3/30,0	4/40,0	3/30,0	14/17,6	3/21,4	7/50,0	4/28,6
Всего	53/100	14/26,4	28/52,8	11/20,8	77/100	22/28,6	37/48,1	18/23,3

Из данных таблицы 1 видно, что при определении связи между различными методами индукции полиовуляции и качественным и морфологическим составом полученных эмбрионов установлено, что показатели качества эмбрионов в обеих группах находились на одном уровне и составляли: отличного качества 28,4% в контроле против 27,9% в опыте; хорошие – 52,7% против 54,5%; удовлетворительного качества – 18,9% против 17,6% соответственно. Морфологический состав эмбрионов обеих групп также не имел существенных различий.

Исходя из вышесказанного, можно сделать вывод, что использование гормонально-акупунктурного метода индукции полиовуляции позволяет повысить выход пригодных для трансплантации эмбрионов, не влияя на показатели их биологической полноценности.

Влияние комплексной гормонально-акупунктурной стимуляции полиовуляции на приживляемость свежеполученных эмбрионов приведено в таблице 2.

Таблица 2 – Приживляемость эмбрионов в связи с методами индукции полиовуляции

Группы	Результаты пересадки свежеполученных эмбрионов реципиентам		
	Количество пересадок, n	Приживляемость, гол/%	Получено телат, гол.
контрольная	21	10 / 47	10
опытная	21	11 / 52	11

При определении связи между акупунктурным воздействием на БАТ коров-доноров и приживляемость свежеполученных от них эм-

брионов было установлено, что применение комплексной акупунктурно-гормональной стимуляции полиовуляции не оказало существенного влияния на приживляемость эмбрионов у реципиентов, которая была на уровне 47% у животных контрольной группы, а у реципиентов опытной группы данный показатель был выше на 5 п.п. и составил 52%. В результате пересадки эмбрионов было получено 10 и 11 телят в контрольной и опытной группе, соответственно.

**Заключение.** Установлено, что применение комплексной индукции полиовуляции, включающей акупунктурно-гормональное воздействие на коров-доноров, позволяет получить дополнительное количество пригодных к пересадке эмбрионов ( $n=24$ ; 53 против 77). В опытной группе получено 9,31 эмбрионов и яйцеклеток в расчете на одного реагировавшего полиовуляцией донора, в то время как в контрольной группе на 3,31 ( $P \leq 0.001$ ) меньше. Использование комплексного метода способствовало увеличению выхода жизнеспособных эмбрионов в расчете на одного донора на 1,84 (4,08 против 5,92;  $P \leq 0.05$ ). Показатели их биологического качества и приживляемость у реципиентов в контрольной и опытной группах не имеют достоверных различий.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Биотехнология получения и трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота: метод. рекомендации / [и др.]; под общ. ред. В. С. Антонока; Бел НИИЖ. – Жодино, 2004. – 42 с.
2. Борискин, Н. В. Регулирование воспроизводительной функции крупного рогатого скота: автореф. дис. на соиск. учен. степ. канд. с.-х. наук / Борискин Николай Викторович. – Саранск: [б.и.], 2005. – 21 с.
3. Гавриченко, Н. И. Эндокринный статус, частота овуляций и качество зародышей у коров-доноров эмбрионов в период вызова суперовуляции / Н. И. Гавриченко, Г. Ф. Медведев // Зоотехническая наука Беларуси: сб. науч. тр. / НПЦ НАН Беларуси по животноводству. – Жодино, 2006. – Т. 41. – С. 22-28.
4. Зейналов, О. А. Эффективность лазера в комплексном индуцировании охоты и суперовуляции коров / О. А. Зейналов, В. А. Анзоров, С. Н. Хилькевич // Квантовая терапия в ветеринарии / Рос. гос. аграр. ун-т. – Москва, 2003. – С. 111-113.
5. Иноземцев, В. П. Лазеры – в ветеринарную практику / В. П. Иноземцев, И. И. Балковой // Ветеринария. – 1997. – №4. – С. 3-6.
6. Казеев, Г. В. Биоэнергетика животных и разработка методов ее коррекции при нарушении функции воспроизводства: автореф. дис. ... д-ра с.-х. наук: 06.02.01 / Г. В. Казеев; Рос. гос. заоч. ун-т. – М., 2003. – 37 с.
7. Наставление по применению метода акупунктуры для профилактики и терапии акушерско-гинекологических заболеваний коров: утв. Департаментом ветеринарии Минсельхозпрода России № 13-5-2/1931 от 16.03.00. – Москва, 2000. – 15 с.
8. Самосюк, И. З. Нетрадиционные методы диагностики и терапии / И. З. Самосюк [и др.]; под общ. ред. И. З. Самосюка. – Киев: Здоровье, 1994. – 240 с.
9. Табева, Д. М. Руководство по иглофлексотерапии / Д. М. Табева. – Москва: Здоровье, 2003. – 560 с.
10. Тяпугин, Е. А. Применение лазерного излучения для профилактики послеродовых заболеваний у коров / Е. А. Тяпугин, В.В. Власов, Д.В. Михайлов // Ветеринария. – 2005. – №2. – С. 39-41.

11. Bredbacka, P. Factors affecting cell viability during bisection of bovine embryos / P. Bredbacka // *Theriogenology*. – 1995. – Vol. 44, № 2. – P. 159-166.
12. Rubin, M. *Manuel d'Acupuncture Veterinaire* / M. Rubin. – Paris: Maloine S.A. Editeur. – 1976. – 85 p.