

*М. М. ТОЙШИБЕКОВ, Н. И. АХМЕТОВА, Б. Р. ДАМИНОВ,*

*Б. Б. МОЛЖИГИТОВ, Е. М. МОЛДАБАЕВ*

(ТОО «Институт экспериментальной биологии им. Ф. М. Мухамедгалиева», Алматы,  
Республика Казахстан)

## **ГОРМОНАЛЬНАЯ СТИМУЛЯЦИЯ СУПЕРОВУЛЯЦИИ У ОВЕЦ**

**Аннотация.** Проведены исследования по изучению суперовуляторной реакции у взрослых (4-6 летних) овцематок аборигенных (чуйской, чингизской) и других (эдильбаевской и казахской тонкорунной) пород. Исследования проводились в период сезона размножения (сентябрь-октябрь месяцы) в научно-экспериментальной лаборатории Института, находящейся в Илийском районе Алматинской области. Суперовуляцию у овцематок стимулировали по двум схемам, включающим применение гонадотропных препаратов различной природы. Установлены различия в реактивности яичников овцематок.

**Ключевые слова:** овцы, суперовуляция, гонадотропные препараты, эмбрионы.

**Тірек сөздер:** койлар, суперовуляция, гонадотроптық препараттар, тұқымдар.

**Keywords:** sheep, superovulation, gonadotropik drugs, embryos.

**Введение.** Во многих странах мира с развитым животноводством (Англия, Франция, Румыния, Россия) большое внимание уделяется сохранению редких популяций и пород сельскохозяйственных животных, которые в виде небольших коллекций содержатся в генетических фермах, заповедниках и в специальных парках, а в виде генетического материала находятся в банках генофондов. В Казахстане вопросами сохранения ценных и редких пород животных, в том числе и овец, занимается ряд научных учреждений и сельскохозяйственных ассоциаций. При этом пути сохранения ценных генотипов животных включают создание их генофондов [1]. В этой связи особое значение обретает вопрос сохранения генофонда аборигенных пород овец и их рационального использования. Отличительными наследуемыми признаками аборигенных популяций и пород овец является их низкая плодовитость наряду с высокой адаптацией к экстремальным условиям степной зоны (засушливый климат, резкие перепады температуры) и высокой устойчивостью к заболеваниям.

Гормональная стимуляция функции яичников широко применяется для вызывания суперовуляции у малопродуктивных овец. При этом на реактивность яичников оказывают влияние совокупность внутренних нейрогуморальных механизмов и факторов внешней среды. К внутренним факторам относятся такие, как порода овец, биологические

(естественная плодовитость и направленность продуктивности) и физиологические (фолликулогенез) особенности животных, а к внешним факторам – среда обитания, питание и период размножения животных, тип гормональных препаратов и режим их применения [2-4].

В сезон размножения количество овуляций, извлечённых эмбрионов и степень оплодотворения выше, чем в анэстральный сезон [11]. В конце сезона размножения по сравнению с его пиком, повышается частота неудачных оплодотворений и количество дегенерированных яйцеклеток. Это может быть следствием сезонных изменений в секреции ЛГ и их воздействий на фолликулярные функции яичников [5].

Исследованиями установлено, что в сезон размножения во время первого эстрального цикла секреция и пики эпизодических ФСГ колебаний связаны с появлением овариальных фолликулярных волн (растущие фолликулы от 3 до 5 мм). Рост антральных фолликулов до овуляторных размеров, происходит волноподобно на всем протяжении сезона размножения как у плодовых, так и у не плодовых пород овец. В межовуляторном интервале определяется развитие 3 или 4 фолликулярных волн. У некоторых плодовых пород высокий уровень овуляции может быть достигнут путем овуляции фолликулов из последних двух волн межовуляторного интервала [7, 8].

Среди факторов, сдерживающих эффективность суперовуляции, особое место занимает непредсказуемость реакции яичников. Это выражается в высокой вариабельности числа овуляций в ответ на введение одинаковой дозы гонадотропина у овец, принадлежащих к одной породе. Такая индивидуальная реактивность яичников овец может быть проявлением особенностей маток-доноров и обуславливаться влиянием породы. Так, самки плодовых пород с более высокой нормой овуляции лучше реагируют на гормональную стимуляцию яичников. При этом у 32 % стимулированных животных обнаруживается индивидуальный характер реагирования яичников на гормональное воздействие. В это число входят самки, не реагирующие на стимуляцию, а также те, у которых извлечение эмбрионов не было возможным или же эмбрионы были неполноценными.

Известно, что количественные (число овуляций, выход эмбрионов) и качественные (жизнеспособность эмбрионов) показатели суперовуляторной реакции яичников зависят от дозы гонадотропинов. При этом у овец нет точно установленных параметров применяемых доз, поскольку доза препарата корректируется относительно вида, породы, период размножения и других внешних (питание) и внутренних (фолликулогенез) факторов.

Установлена зависимость FSHp доза – ответ [9]. Применение высоких FSHp доз влечёт повышение числа овуляций, однако такой эффект нередко сопровождается снижением индекса оплодотворяемости яйцеклеток и высоким выходом неполноценных эмбрионов. Кроме того высокие FSHp дозы оказывают депрессивное действие на ФСГ секрецию у овец, обработанных предварительно аналогом GnRH [10].

Целью настоящих исследований было изучение суперовуляторной реакции яичников у овец аборигенных пород после применения различных гонадотропных препаратов.

## Материалы и методы исследования

Исследования проведены в сезон размножения в сентябре-октябре месяцах в условиях научно-экспериментальной лаборатории Института на взрослых (4-6 летних) овцах казахской тонкорунной породы, а также овцах чингизской, эдильбаевской и местных отродьях чуйской породы. Содержание и кормление овец было приближено к естественному пастбищному. Животные были средней упитанности, живой вес находился в пределах 50-55 кг.

Предварительно перед гормональной обработкой у овец устанавливали начало стадии естественной половой охоты с помощью баранов-пробников. Первый день охоты принимался за 0.

Для стимуляции суперовуляции применялись препараты различного биологического действия. Были использованы: гонадотропин гипофизарный – плюсет (Pluset) (Laboratorios Calier S.A., Barcelona), содержащий в 1 мл 50 МЕ фолликулостимулирующего (ФСГ) и 50 МЕ лютеини-зирующего (ЛГ) гормонов; гонадотропин сыворотки жеребых кобыл (ГСЖК) – фоллигон (Folligon) (Intervet International B.V., Нидерланды), комплекс ФСГ и ЛГ гормонов с активностью в 1 мл раствора – 200 МЕ; синтетический простагландин F<sub>2λ</sub> (клопростенол) – эструмэйт (Estrumate) (Vet Pharma Friesoythe GmbH, Germany), содержащий в 1 мл 250 мкг вещества с лютеолитическим действием; человеческий хорионический гонадотропин (hCG) – хорулон (Chorulon) (Intervet International B.V., The Netherlands), содержащий в 1 мл 500 М.Е., обладает активностью лютеини-зирующего гормона (ЛГ), способствует стимуляции овуляции и повышению оплодотворяемости.

Овцематки были разделены на две группы. Суперовуляцию стимулировали с использованием различных гормональных режимов: у овцематок первой группы – по схеме 1 (таблица 1), у овцематок второй группы – по схеме 2 (таблица 2).

Таблица 1 – Гормональная обработка овцематок по схеме 1

Дни полового цикла	Наименование препаратов	Дозы препаратов
11	Фоллигон	1200 М.Е.
12	–	–
13	Эструмэйт	250 мкг
14-15	Хорулон	300 М.Е.

Таблица 2 – Гормональная обработка овцематок по схеме 2

Дни введения препарата	Наименование препаратов	Дозы препаратов
День 1	Плюсет	100 М.Е
День 2	Плюсет	50 М.Е.
День 3	Плюсет	50 М.Е.
День 4	Плюсет	50 М.Е.
	Эструмейт	125 мкг
День 5	Хорулон	300 М.Е

Первой группе овец (n=6 гол.) на 11 день полового цикла вводили внутримышечно фоллигон в дозе 1200 М.Е., затем через 48 ч вводили эструмейт в дозе 250 мкг. В день охоты, за 3-5 ч. до осеменения, вводили хорулон однократно внутривенно в дозе 300 М.Е.

Второй группе овец (n=10 гол.) в течение 4-5 дней вводили плюсет внутримышечно двукратно с интервалом 12 часов, с понижением дозы, общая доза составляла 250 М.Е. Затем через 60 часов после начала обработки плюсетом вводили внутримышечно эструмейт в дозе 125 мкг. В день охоты за 3-5 ч. перед осеменением применяли хорулон однократно внутривенно в дозе 300 М.Е.

Стадию охоты у овец выявляли 2 раза в день. Овцематок случали с баранами-производителями соответствующей породы дважды в день до окончания охоты. Спустя 3 дня после случки у овцематок была проведена паховая лапаротомия, после чего зарегистрировано число жёлтых тел. Эмбрионы были вымыты из яйцеводов и рогов матки хирургическим путем.

Суперовуляторный ответ яичников оценивали по показателям количества жёлтых тел в яичниках и выходу качественных эмбрионов. Проведена статистическая обработка материалов наблюдения, обобщены результаты исследований.

### Результаты исследований

В исследованиях сравнивали результаты гормональной стимуляции овцематок, обработанных с использованием различных гонадотропных препаратов. Результаты сравнительной оценки суперовуляторной реакции яичников овец приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Суперовуляторная реакция яичников овец в зависимости от типа гормонального препарата

Показатели	Наименование препарата	
	Фоллигон	Плюсет
Обработано овец, гол	6	10
Из них с полиовуляцией: n (%)	5 (83,3)	10 (100)
Число овуляций на донора:		
среднего	8,3±1,6	9,5 ± 0,8
положительного	9,6 ± 1,2	9,5 ± 0,8
Выход эмбрионов, %	78,0	79,3
Число полноценных эмбрионов	6,5 ± 1,1	6,0 ± 0,6

Как показано в таблице 3, пять (или 83,3 %) из шести овцематок, обработанных препаратом «Фоллигон», положительно реагировали суперовуляторной реакцией. В среднем получено  $8,3 \pm 1,6$  овуляции на донора и  $9,6 \pm 1,2$  овуляции на положительного донора (рисунки 1, 2). Выход полноценных эмбрионов составил 78,0%, получено  $6,5 \pm 1,1$  эмбрионов на донора.



Рисунок 1 – Яичник овцематки с множественными овуляциями



Рисунок 2 – Матка и яичник с множественной овуляцией

Десять (или 100 %) из 10 овцематок, обработанных препаратом «Плюсет», положительно реагировали суперовуляторной реакцией. На среднего и положительного донора получено  $9,5 \pm 0,8$  овуляции. Показатель выхода полноценных эмбрионов составил 79,3%, на донора получено  $6,0 \pm 0,6$  эмбрионов, 95,6% извлеченных эмбрионов были оплодотворены.

Сравнительный анализ результатов данных исследований показал статистически значимые различия в значении количества желтых тел на овцематку ( $8,3 \pm 1,6$  против  $9,5 \pm 1,8$ ), выхода эмбрионов (78 % против 79,3 %) и оплодотворяемости (80% против 95,6%) ( $P < 0,05$ ) между группами овец, обработанных по схемам 1 и 2, соответственно.

Результаты данных исследований согласуются с работой других авторов, где у овец получены хорошие показатели суперовуляторной реакции после применения 350 I.U. rFSH без использования устройств с прогестероном [13].

У всех овцематок (16 гол), вовлечённых в эксперименты, наступила стадия половой охоты. Результаты, полученные у овцематок после введения препарата «Эструмэйт», представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты использования препарата «Эструмэйт» у овцематок

Показатели	Препарат	
	Фоллигон	Плюсет
Обработано овцематок, гол.	6	10

Проявили стадию половой охоты, гол. ( %)	6 (100,0)	10 (100,0)
Интервал от времени введения ПГ до времени начала стадии половой охоты, час.	28,0±4,0	36,5±3,3

Контроль стадии половой охоты у циклирующих овец и стимуляцию рассасывания желтых тел осуществляли путём однократного введения 125 мкг аналога простагландина – клопро-стенола. После введения препарата «Эструмэйт» эстральное поведение у овец, обработанных по схеме 1, наблюдалось в среднем через 28,0±4,0 часа с интервалом 24-36 часов. У овцематок, обработанных по схеме 2, половая охота обнаруживалась в среднем через 36,5±3,3, в пределах от 22 до 60 часов.

Применение аналога простагландина F<sub>2α</sub> – эструмэйт способствовало росту фолликулов в яичниках, увеличению уровня эстрогенов в крови с последующим проявлением охоты и овуляции созревших фолликулов.

Синтетические простагландины оказывают быстрое воздействие на синтез стероидов лютеино-выми клетками, тогда как в естественных условиях их регрессия происходит постепенно. Введение клопростенола снижает концентрацию прогестерона в плазме крови в течение нескольких часов. После чего наступает половая охота у овец примерно через 40 ч, а овуляция – через 70 ч после инъекции

Таким образом, на основании проведенных исследований в период сезона размножения пока-зана эффективность применения гормональных препаратов фоллигон и плюсет для гормональной стимуляции суперовуляции и получения полноценных эмбрионов у овец.

При этом схема 1 гормональной обработки овец, включающая применение сывороточного гонадотропного препарата «Фоллигон», обеспечивает наступление полиовуляции в среднем у 83,3% животных, позволяя в среднем получить 6,5±1,1 полноценных эмбрионов. Схема 2 гормо-нальной обработки овец, включающая введение гонадотропного препарата «Плюсет» гипофи-зарной природы, обеспечивает наступление полиовуляции у 100% животных, при этом позволяет получить в среднем 6,0±0,6 полноценных эмбрионов.

В заключение необходимо отметить, что несмотря на существующее множество эффективных гормональных схем, вопросы сужения диапазона вариабельности реактивности яичников и полу-чения полноценных эмбрионов у овец ценных и редких пород в исследованиях по трансплантации эмбрионов остаются открытыми.

## ЛИТЕРАТУРА

1 <http://fly-game.ru/cennost-aborigennyx-porod>

2 [Lozano JM](#), [Lonergan P](#), [Boland MP](#), [O'Callaghan D](#). Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. [Reproduction](#). 2003 Apr;125(4):543-53.

3 Velazquez MA. The role of nutritional supplementation on the outcome of superovulation in cattle. *Anim Reprod Sci*. 2011 Jun; 126(1-2):1-10. Epub 2011 May 24.

4 [Boland MP](#), [Lonergan P](#), [O'Callaghan D](#). Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. [Theriogenology](#). 2001 Apr 1;55(6):1323-40. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11327687>

5 (G. Leoni, L. Bogliolo, P. Pintus, S. Ledda, S. Naitana, 2001)

Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment (Received 20 February 2001; accepted 7 May 2001)

6 [Mitchell LM](#), [Dingwall WS](#), [Mylne MJ](#), [Hunton J](#), [Matthews K](#), [Gebbie FE](#), [McCallum GJ](#), [McEvoy TG](#). Season affects characteristics of the pre-ovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes. [Anim Reprod Sci](#). 2002 Dec 16;74(3-4):163-74.

7 Gharbi I., Ferrouk M., Dechicha A., Baril G., Beckers J.F., Guetarni D. Follicular status and Embryo Production in Ouled Djellal (Algeria) ewes breed pretreated with a GnRH Agonist. *J.of Animal and Veterinary Advances* 11 (6): 791-798, 2012.

8 Baird DT, McNeilly AS. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrous cycle of the ewe. *J Reprod Fertil Suppl*. 1981;30:119-33.

9 Gonzalez et al.,2001 Гонсалес-Бульнес А., Сантьяго-Морено Дж., Косеро М.Дж., Лопес-Себастьян А. Эффективность коммерческого препарата ФСГ и фолликулярный статус фолликулярного роста и суперовуляторной реакции у испанских овец породы Меринос. *Ж. «Theriogenology»*, 2000, выпуск 54: стр. 1055-1064.

10 [Mayorga I](#), [Mara L](#), [Sanna D](#), [Stelletta C](#), [Morgante M](#), [Casu S](#), [Dattena M](#). Good quality sheep embryos produced by superovulation treatment without the use of progesterone devices. [Theriogenology](#). 2011 Jun;75(9):1661-8.

## REFERENCES

1 <http://fly-game.ru/cennost-aborigennyx-porod>

2 [Lozano JM](#), [Lonergan P](#), [Boland MP](#), [O'Callaghan D](#). Influence of nutrition on the effectiveness of superovulation programmes in ewes: effect on oocyte quality and post-fertilization development. [Reproduction](#). 2003 Apr;125(4):543-53.

3 Velazquez MA. The role of nutritional supplementation on the outcome of superovulation in cattle. *Anim Reprod Sci*. 2011 Jun;126(1-2):1-10. Epub 2011 May 24.



4 [Boland MP](#), [Lonergan P](#), [O'Callaghan D](#). Effect of nutrition on endocrine parameters, ovarian physiology, and oocyte and embryo development. *Theriogenology*. 2001 Apr 1;55(6):1323-40. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11327687>

5 (G. Leoni, L. Bogliolo, P. Pintus, S. Ledda, S. Naitana, 2001)

Sheep embryos derived from FSH/eCG treatment have a lower in vitro viability after vitrification than those derived from FSH treatment (*Received 20 February 2001; accepted 7 May 2001*)

6 [Mitchell LM](#), [Dingwall WS](#), [Mylne MJ](#), [Hunton J](#), [Matthews K](#), [Gebbie FE](#), [McCallum GJ](#), [McEvoy TG](#). Season affects characteristics of the pre-ovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes. *Anim Reprod Sci*. 2002 Dec 16;74(3-4):163-74.

7 Gharbi I., Ferrouk M., Dechicha A., Baril G., Beckers J.F., Guetarni D. Follicular status and Embryo Production in Ouled Djellal (Algeria) ewes breed pretreated with a GnRH Agonist. *J.of Animal and Veterinary Advances*, 2012. 11 (6): 791-798

8 Baird DT, McNeilly AS. Gonadotrophic control of follicular development and function during the oestrous cycle of the ewe. *J Reprod Fertil Suppl*. 1981;30:119-33.

9 Gonzalez et al., 2001 A. Gonzalez-Bulnes, Santiago Moreno, J., Coseriu MJ, Lopez-Sebastian A. The effectiveness of the commercial FSH and follicular status of follicular growth and superovulatory response in Spanish Merino sheep breed.- *J. Theriogenology*, 2000, issue 54: pp. 1055-1064.

10 [Mayorga I](#), [Mara L](#), [Sanna D](#), [Stelletta C](#), [Morgante M](#), [Casu S](#), [Dattena M](#). Good quality sheep embryos produced by superovulation treatment without the use of progesterone devices. *Theriogenology*. 2011 Jun; 75(9):1661-8.

## Резюме

*М. М. Тойшыбеков, Н. И. Ахметова, Б. Р. Даминов, Б. Б. Молжигітов, Е. М. Молдабаев*

(Ф. М. Мұхамедғалиев атындағы «Эксперименттік биология институты» ЖШС,

Алматы, Қазақстан Республикасы)

## ҚОЙЛАРДЫ СУПЕРОВУЛЯЦИЯ ЖАСАУ ҮШІН ГОРМОНДЫҚ СТИМУЛЯЦИЯЛАУ

Аборигенді (Шу, Шыңғыс) және басқа (Еділбай-қазақтың биязы жүнді) ересек (4-6 жастағы) қойларда суперовуляция реакциясын зерттеу үшін тәжірибелік жұмыстар

жүргізілді. Зерттеу жұмыстары Алматы облысы Іле ауданындағы ғылыми-зерттеу лабораториясында (қыркүйек-қазан айларында) малдың көбею маусымында жүргізілді. Қойларда суперовуляция жасау екі кесте бойынша әртүрлі гонадотроптық препараттар пайдалану арқылы жүргізілді. Қой аналық безінің резистенттігінің әрқалай екендігі анықталды.

**Тірек сөздер:** қойлар, суперовуляция, гонадотроптық препараттар, тұқымдар.

### **Summary**

*M. M. Toishivekov, N. I. Akhmetova, B. R. Daminov, B. B. Molzhigitov, E. M. Moldabayev*

(Limited Liability Enterprise "Institute of Experimental Biology named after Muhamedgaliev",  
Almaty, Republic of Kazakhstan)

### **HORMONAL STIMULATION OF SUPEROVULATION IN SHEEP**

The research focuses on the superovulatory reaction in adult ewes from 4 to 6 years of age. Experimental breeds included aboriginal breeds – Chuiszkaya, Chingizskaya and such breeds as Edilbayevskaya and Kazakh fine-wool. The studies were conducted during the breeding season (from September to October) in the scientific and experimental laboratory of the Institute located in Ili district of Almaty region. Superovulation in ewes was stimulated by two schemes, including the use of different gonadotropin drugs. The differences in the reactivity of ovaries in ewes were identified.

**Keywords:** sheep, superovulation, gonadotropik drugs, embryos.

*Поступила 20.11.2013 г.*