

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

ВЕРГЕЛЕС ОЛЕКСАНДР ПЕТРОВИЧ

УДК 57.089.3:636.2.082.4:615.3(043.3)

УДОСКОНАЛЕННЯ СХЕМИ СТИМУЛЯЦІЇ
СУПЕРОВУЛЯЦІЇ У КОРІВ-ДОНОРІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ
БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата сільськогосподарських наук

Біла Церква – 2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Національному університеті біоресурсів і природокористування України Міністерства освіти і науки України.

Науковий керівник –

доктор сільськогосподарських наук, професор
Шеремета Віктор Іванович
Національний університет біоресурсів і природокористування України,
професор кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин.

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор
Шаран Микола Михайлович,
Інститут біології тварин НААН,
заступник директора з інноваційно-наукової діяльності;

кандидат сільськогосподарських наук,
старший науковий співробітник
Троцький Петро Анатолійович,
Інститут розведення і генетики тварин
імені М.В. Зубця НААН,
старший науковий співробітник лабораторії біотехнології відтворення.

Захист дисертації відбудеться « 29 » грудня 2020 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 27.821.01 у Білоцерківському національному аграрному університеті за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1, конференц-зала.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Білоцерківського національного аграрного університету за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1.

Автореферат розіслано « 27 » листопада 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



М.М. Сломчинський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Відтворна здатність корів визначає економічну ефективність розведення молочної худоби. Низька природна плодючість великої рогатої худоби і мала кількість потомків обмежують можливості створення нових порід та стад високопродуктивних корів. Проте нова система селекційно-племінної роботи, що ґрунтується на біотехнологічних методах розмноження тварин, дає змогу максимально використовувати потенційні резерви репродуктивної функції, які не реалізуються за природного розмноження (Шеремета В.І., 2003; Шаран М.М., 2010; Яблонський В. А., 2004; Смолянінов Б.В. та ін., 2004; Baruselli P.S. et al. 2011; Sanchez Z. et al., 2015).

Розроблена на основі досягнень репродуктивної фізіології, клітинної біології і ембріології технологія трансплантації ембріонів є принципово іншим ефективним методом біотехнологічного керування відтворенням стада для прискорення генетичного прогресу у скотарстві з метою створення високопродуктивних селекційних стад і родин, спрощення розповсюдження цінних генотипів, зокрема для експорту та імпорту тварин, поліпшення ветеринарно-профілактичної роботи. За своєю ефективністю, фундаментальністю та прецизійністю метод трансплантації не має собі рівних (Осташко Ф.І., 1995; Baruselli P.S. et al., 2011; Selk G., 2014).

Ефективність практичного використання трансплантації ембріонів як селекційного методу напряду залежить від низки послідовних біотехнологічних операцій. Однією з найважливіших ланок в сучасній методиці проведення ембріотрансплантації є гормональна індукція множинної овуляції (Нежданов А.Г. 2002; Шаран М.М., 2008; Назаров М. В., Руднева Я. А., 2018). Для її стимуляції використовують гонадотропні препарати (FSH, PMSG), аналоги простагландину $F_{2\alpha}$ та інші гормональні індуктори. Однак результати дії екзогенних стимуляторів у схемах суперовуляції у корів-донорів є непередбачуваними і часто спричиняють певні деструктивні зміни в ендокринному і метаболічному статусі корів-донорів, обумовлюють неадекватну, варіабельну поліовуляцію, що знижує рівень виходу кількості придатних до пересаджування ембріонів (Овчинников А.В. , 1983; Вороб'єв Д.Н., 2005; Шаран М.М. , 2008; Харута Г. Г., 2010).

Встановлено, що стимуляція множинної овуляції у корів-донорів ГСЖК обумовлює також значну кількість неовульованих фолікулів, що негативно впливає на вихід придатних ембріонів (Смолянінов Б.В., Кротких М.О., 2004; Шеремета В.І., 2005). Тому важливим і актуальним аспектом сучасної біотехнології є розроблення та перевірка ефективності використання препаратів метаболічної дії, які здатні регулювати енергетичний і пластичний обміни в активно функціонуючих системах організму, діяти як енергетичний стабілізатор і активатор на молекулярному рівні та створювати передумови високої ефективності методу трансплантації ембріонів.

На вирішення зазначених питань спрямовані теоретична і експериментальна частини дисертаційної роботи.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалась як складова науково-дослідних робіт Національного університету біоресурсів і природокористування України за державною програмою

110/171 пр. «Оптимізація умов культивування та розробки нових способів стимуляції приживлення ембріонів у самок великої рогатої худоби та свиней» (номер державної реєстрації 0106U004252).

Мета та завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є удосконалення біотехнологічної схеми індукції суперовуляції у самок великої рогатої худоби шляхом розроблення біологічно активного препарату і способу його застосування для збільшення кількості овульованих фолікулів та придатних до трансплантації ембріонів.

Для досягнення мети були поставлені наступні завдання:

- розробити та впровадити в схему стимуляції суперовуляції біологічно активний препарат нейротропно-метаболічної дії на основі фізіологічно активних речовин;
- дослідити вплив застосування розробленого біологічно активного препарату на рівень суперовуляції та вихід придатних до трансплантації ембріонів у корів-донорів;
- апробувати і визначити ефективні варіанти застосування розробленого біологічно активного препарату за схемою індукції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан;
- розробити та запропонувати виробництву раціональну систему відбору корів у донори ембріонів;
- встановити вплив біологічно активного препарату за різних схем його використання на активність ферментів у сироватці крові корів-донорів;
- експериментально встановити вплив препарату Стимулін-Вет на ліпідний обмін у сироватці крові корів-донорів;
- встановити економічну ефективність удосконалення біотехнологічної схеми індукції суперовуляції у самок великої рогатої худоби за використання біологічно активного препарату.

Об'єкт дослідження – біотехнологія стимуляції суперовуляції у самок великої рогатої худоби та її удосконалення.

Предмет досліджень – технологія виготовлення біологічно активного препарату Стимулін-Вет, дія розробленого біологічно активного препарату Стимулін-Вет на ефективність індукції суперовуляції корів-донорів, ембріони, метаболічний статус корів-донорів, біологічно активні препарати.

Методи дослідження: біотехнологічні, ветеринарні, зоотехнічні, біохімічні, статистичні, аналітичні.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше теоретично обґрунтовано, розроблено та експериментально доведено ефективність застосування препарату метаболічного типу дії на основі солей бурштинової і глутамінової кислот Стимулін-Вет у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан, що підтверджено об'єктивними критеріями біотехнологічних і біохімічних досліджень. Наукова новизна розробки підтверджена патентом на винахід (Патент України №91772. 2010 серп. 25).

Вперше вивчено вплив препарату Стимулін-Вет за різних варіантів схеми індукції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан на метаболічний статус та

вихід придатних ембріонів у корів-донорів. За результатами досліджень отримано патент на корисну модель (Патент на корисну модель № 42098. 2009 черв. 25).

Досліджено ефективність відбору корів у донори ембріонів за результатами трансректального пальпаторного дослідження розміру та форми яєчників, а також наявності та стану активного жовтого тіла яєчника. На основі даних результатів дослідження отримано патент на корисну модель (Патент на корисну модель №57835. 2011 берез. 10).

Розроблено об'єктивний спосіб оцінювання придатності самок великої рогатої худоби до трансплантації на основі специфічного показника відношення концентрації неорганічного Фосфору до активності лужної фосфатази, захищений патентом на винахід (Патент України №86165. 2009 берез. 25).

Розширено наукові дані щодо впливу індукторів суперовуляції та біологічно активних препаратів на стан фізіологічного гомеостазу корів-донорів, фізіологічну координованість трансаміназ, лужної фосфатази та процеси обміну холестерину і розподілу фракцій ліпопротеїдів під час поліфолікулогенезу.

Експериментально підтверджено теоретичний прогноз, що сполуки метаболічної нейротропної дії, що поєднані в препараті Стимулін-Вет, регулюють енергетичний та пластичний обмін у системі гіпоталамус-гіпофіз, корегуючи співвідношення між ФСГ і ЛГ, сприяють збільшенню кількості овуляцій та інтенсифікації білкового і енергетичного обмінів.

Практичне значення одержаних результатів. Створено біологічно активний препарат Стимулін-Вет. Розроблено Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010 – Біологічно активний препарат Стимулін-Вет. Доведено, що препарат Стимулін-Вет за критерієм гострої токсичності відноситься до 4 класу шкідливості відповідно до ГОСТ 12.1.007-76.

Вперше доведено, що двократне введення коровам-донорам препарату Стимулін-Вет за індукції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан призводить до зростання кількості овуляцій на одного реагуючого донора на 29,2 %, зменшення кількості неовульованих фолікулів на 64,1% (p<0,05) та збільшення кількості придатних до пересадження ембріонів –47,5 %.

Вперше розроблено критерії добору корів у донори, за індукції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан, враховуючи величину коефіцієнта відношення неорганічного Фосфору до активності лужної фосфатази. Доведено, що цей показник має становити від 0,36 до 0,63.

Результати досліджень відображені в методичних рекомендаціях «Стимуляція суперовуляції у корів-донорів за допомогою ГСЖК спільно з біологічно активним препаратом Стимулін-Вет», які схвалені та затверджені Науково-технічною радою Міністерства аграрної політики та продовольства України (протокол № 3 від 2009 р.).

Основні наукові положення дисертаційної роботи можуть бути використані в курсах лекцій і за проведення лабораторно-практичних занять з дисциплін «Біотехнологія у тваринництві», «Біотехнологія відтворення тварин», «Сучасні методи регулювання відтворної здатності» для підготовки фахівців зі

спеціальностей «Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва» та «Ветеринарна медицина».

Особистий внесок здобувача. Дисертантом особисто проведено пошук, опрацювання та аналіз наукової літератури за темою дисертації.

Постановка завдань і вибір стратегії їх вирішення, розробка біологічно активної фармацевтичної композиції, розробка схем і режимів введення препарату проводились спільно з науковим керівником Шереметою В.І.

Основна експериментальна робота – проведення відбору корів-донорів, біотехнологічних заходів з індукції суперовуляції, взяття проб крові та лабораторні дослідження, статистична обробка результатів – виконана автором особисто, а видобування ембріонів нехірургічним методом виконані спільно з науковим керівником Шереметою В.І.

Окремі етапи лабораторних досліджень виконані під керівництвом співробітників лабораторії центру сучасної ветеринарної медицини «Алден-вет».

Обробка одержаних результатів, їх інтерпретація проводилась за допомоги професорів Шеремети В.І. і Мерзлова С.В.

Апробація результатів дисертації. Про основні положення дисертаційної роботи доповідав автор та обговорювали на VI Державній науково-практичній конференції «Аграрна наука – виробництву» (м. Біла Церква, 2007); Міжнародній практичній конференції «Сучасні методи репродукції сільськогосподарських тварин: стан і перспективи розвитку» (Інститут тваринництва УААН, п/в Кулиничі, Харків, 2008); конференції науково-педагогічних працівників, наукових співробітників та аспірантів (НУБіП України, 2008, 2009); Міжнародному науково-практичному семінарі «Трансплантація ембріонів як альтернатива імпорту племінної худоби» (Київ, 2009); Міжнародній науково-методичній конференції, присвяченій 200-річчю з дня народження Ч. Дарвіна і 150-річчя виходу в світ «Походження видів...» (Брянськ, 2009); VII конференції молодих вчених та аспірантів Інституту розведення і генетики тварин УААН (Чубинське, 2009); V Міжнародній науково-практичній конференції «Наукові-дослідження – теорія та експеримент-2009» (Полтава, 2009); Міжнародній науково-практичній конференції «Селекція тварин на сучасному етапі розвитку біологічної науки», присвяченій 100-річчю від дня народження професора М.А. Кравченка (Київ, 2009), XVIII Всеукраїнській наук. конф. молодих вчених, присвяченій 95-ій річниці від дня народження професора Недави В.Ю. (Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН, Чубинське, 2020).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 22 наукові праці, в тому числі: 10 статей у наукових вітчизняних і зарубіжних фахових виданнях; методичні рекомендації, 6 статей у матеріалах вітчизняних і міжнародних конференцій, два патенти України на винахід, два патенти України на корисну модель, технічні умови.

Структура та обсяг дисертаційної роботи. Текст дисертаційної роботи викладений на 180 сторінці комп'ютерного тексту і сформований з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, аналізу і узагальнення одержаних результатів, висновків, списку використаних джерел і

додатків. Робота містить 38 таблиць, 16 рисунків. Бібліографічний список нараховує 255 джерел, з них 106 – латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. У розділі викладено й проаналізовано літературні дані щодо ефективності методу трансплантації ембріонів, подано характеристику факторів, що визначають ефективність цього біотехнологічного методу.

Надано характеристику методам гормонального стимулювання суперовуляції в корів-донорів та проаналізовані існуючі класичні та інноваційні схеми стимуляції ГСЖК суперовуляції у корів, донорів ембріонів.

Матеріал і методи дослідження.

Експериментальну частину дисертаційної роботи виконано у лабораторії біотехнології тварин кафедри генетики, розведення та біотехнології тварин Національного університету біоресурсів і природокористування України та на базі ВП НУБіП «Великоснітинське НДГ ім. О.В. Музиченка», ВП НУБіП «Ворзель» і ВАТ «Пуща Водиця» Києво-Святошинського району Київської області, Херсонського державного підприємства – Біологічна фабрика відповідно до загальної схеми досліджень (рис. 1).

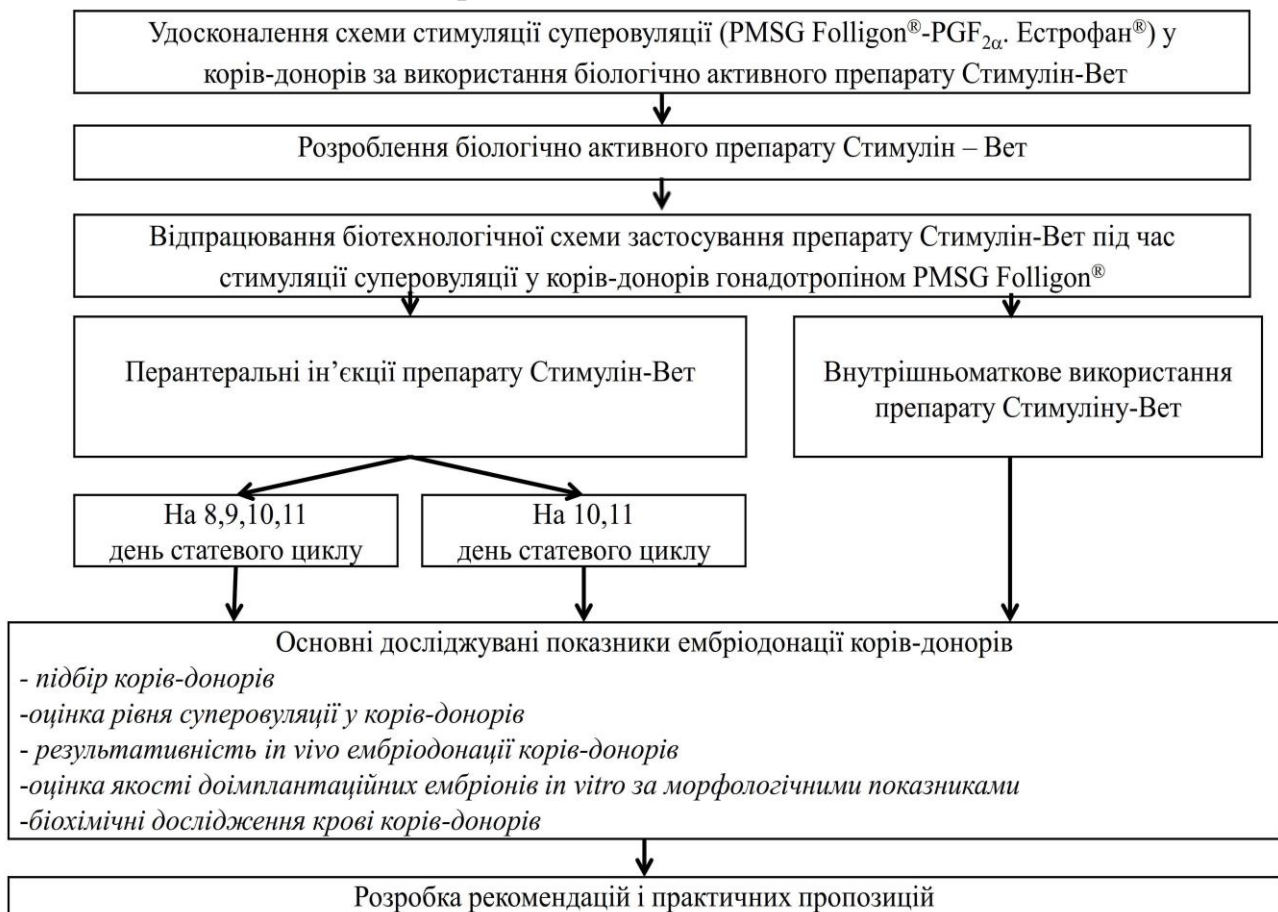


Рис. 1 Загальна схема досліджень

У досліджах використовували клінічно здорових корів української чорно-рябої молочної породи. Відбір корів здійснювали на основі ретроспективного аналізу ветеринарно-зоотехнічного обліку їх фізіологічного стану та після загальних клінічних і гінекологічних досліджень.

Діагностику запального процесу в матці самиць здійснювали за експрес-методом Г.Н. Калиновського та Г.І. Підпригори – виявлення в тічковому слизі сірковмісних амінокислот.

Формування досліджуваних груп проводили за принципом пар-аналогів з урахуванням живої маси, віку, рівня молочної продуктивності, морфологічної оцінки жовтого тіла яєчників.

Для стимуляції суперовуляції донорам на 10 добу статевого циклу інтрамускулярно вводили препарат гонадотропіну сироватки жеребних кобил (ГСЖК – PMSG) Folligon® («Intevet Internanional B.V.», Нідерланди) у дозі 2,5–3 тис. МО, однієї серії (A002A01) (рис.2).

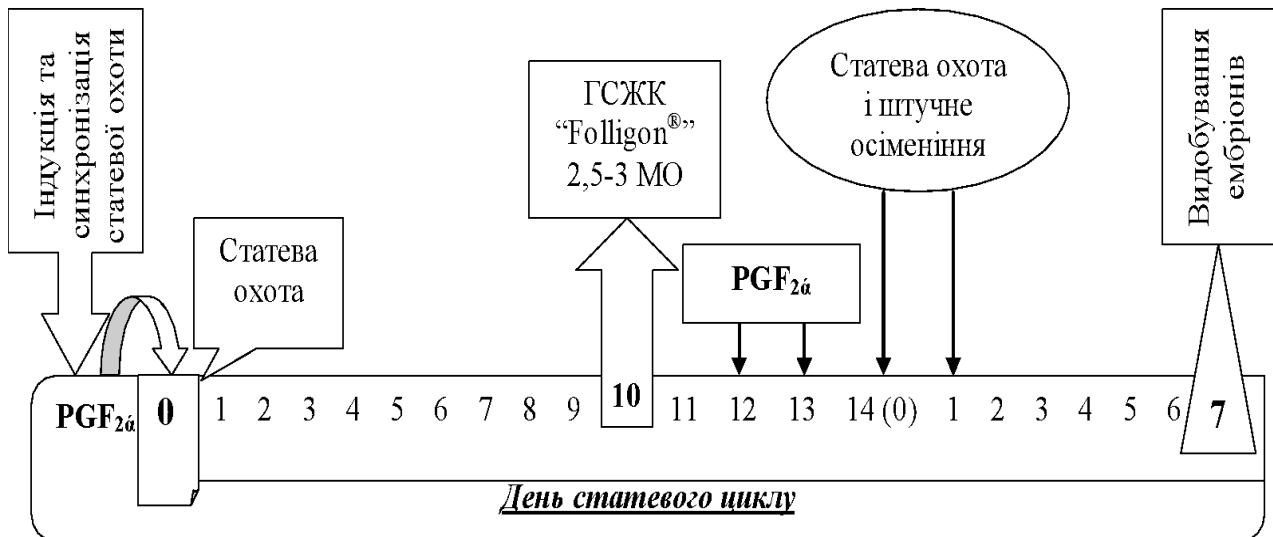


Рис. 2 Протокол стимуляції суперовуляції і вимивання ембріонів у корів-донорів (ГСЖК Folligon® -PG F_{2α} Естрофан®)

Штучне осіменіння піддослідних корів-донорів проводили тричі з інтервалом 12 годин розмороженою спермою одного бугая в необлицьованих гранулах цервікальним способом з ректальною фіксацією шийки матки. В кожній дозі сперми було не менше 30 млн спермійів з прямолінійно-поступальним рухом. Аплікацію сперми здійснювали в краніальну частину шийки матки.

Вимивання ембріонів проводили на 7 добу статевого циклу нехірургічним методом за загальноприйнятою методикою фосфатно-сольовим буфером Дюльбекко («Sigma», Німеччина) з додаванням фетальної сироватки телят і антибіотиків (гентаміцин, ампіцилін).

Вилучення ембріонів проводили за допомогою 2- канального катетера фірми «Minitub» (Німеччина) комбінованим способом, шляхом почергового промивання

рогів матки донора фосфатно-сольовим буфером Dulbecco («SIGMA», Німеччина), по 500 мл в кожний ріг матки.

Шприцями об'ємом 50–60 мл за порційною схемою через 2-канальний катетер під помірним тиском у порожнину рогу матки донора нагнітали вимивне середовище.

Пошук та оцінювання ембріонів проводили мікроскопічним методом. Якість ембріонів визначали за морфологічними ознаками за 4-бальною системою оцінок: «відміні», «добрі», «задовільні», «непридатні» (дегенеровані) ембріони.

За стадією розвитку 7-добові доімплантаційні ембріони розділяли на ранню морулу і морулу, ранню бластоцисту, бластоцисту та пізню бластоцисту.

До придатних відносили ембріони з оцінкою «відміні» та «добрі», у яких стадія розвитку відповідала їх віку. Відібрані придатні ембріони заморожували методом вітрифікації в пайетах у рідкому азоті.

Кров для дослідження у корів-донорів відбирали вранці, до годівлі на 8, 12 добу стимульованого статевого циклу шляхом пункції яремної вени на межі середньої та верхньої третини ший.

З метою удосконалення схеми стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon[®]-PGF_{2a} Естрофан[®] розроблено біологічно активний препарат Стимулін-Вет, що є композицію з сукцинату і глутамінату натрію.

Для дослідження стерильності біологічно активного препарату Стимулін-Вет використовували рідкі стандартні поживні середовища: рідке тіогліколеве середовище (рН 7,2) для виявлення аеробних і анаеробних бактерій та рідке середовище Сабуро (рН 5,6) – для встановлення і виділення дріжджів, цвілі та інших патогенних грибів.

Фармако-токсикологічні властивості препарату Стимулін-Вет вивчали в дослідах на білих нелінійних статевозрілих щурах, за його внутрішньочеревного введення у формі розчину для ін'єкцій відповідно до вимог доклінічного дослідження ветеринарних лікарських засобів (Коцюмбас І.Я. та ін., 2006р.) та ГОСТ 12.1.007–76 ССБТ.

Біохімічні показники крові визначали в лабораторії центру сучасної ветеринарної медицини «АЛДЕН-ВЕТ» за допомогою напівавтоматичного біохімічного аналізатора Stat Fax 1904 (Awareness Technology, USA).

Отримані результати досліджень оброблені методами математичної статистики за Плохінським Н.А., Меркур'євою Є.К. з використанням пакету програм Microsoft Excel в операційній системі Windows.

Для оцінювання достовірності результатів використовували критерій Стьюдента (td), прийнятий для порівняння середніх значень, а також коефіцієнт кореляції (r).

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Біотехнологія розроблення біологічно активного препарату Стимулін-Вет

Першим етапом досліджень було створення біологічно активного препарату. Розроблений ін'єкційний препарат нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет – композиція на основі натрієвої солі глутамінової кислоти, як збудливого нейротрансмітера і прикордонної сполуки між пластичними та енергетичними обмінними процесами і натрієвої солі бурштинової кислоти – як системи енергопродукування (рис.3).

Для контролю якості препарату перевіряли органолептичні, біологічні та фізико-хімічні показники, якість маркування та пакування кожної серії, комплектність.

Стерильність і токсикометричне оцінювання розробленого біологічно активного препарату Стимулін-Вет провели на лабораторних тваринах в умовах Херсонського державного підприємства – Біологічна фабрика.

Для дослідження стерильності біологічно активного препарату Стимулін-Вет використовували рідкі стандартні поживні середовища: тіогліколеве (рН 7,2) та середовище Сабуро (рН 5,6).

Біологічно активний препарат Стимулін-Вет витримав випробовування на стерильність – при візуальному обліку росту мікроорганізмів-контамінантів не виявлено.

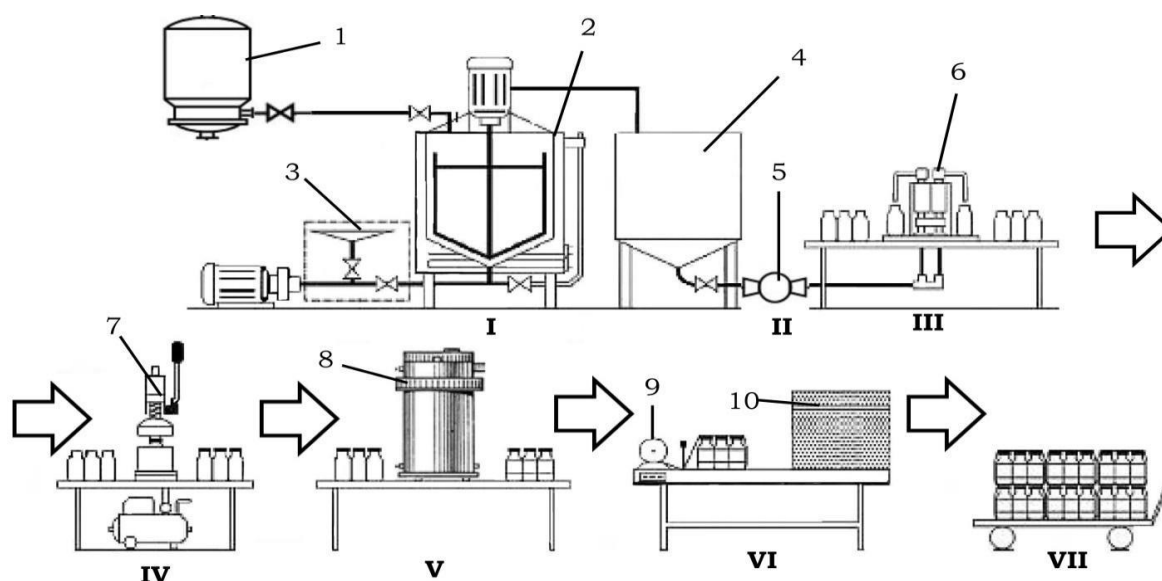


Рис. 3 Апаратурна схема технологічного процесу виробництва біологічно активного препарату Стимулін-Вет

I – підготовка води, сукцинату натрію, глутамінату натрію і приготування розчинну біологічно активної композиції (контроль: хімічний, мікробіологічний);
II – фільтрація ін'єкційного розчину (контроль: відсутність механічних включень);
III – наповнення флаконів (контроль: відсутність механічних включень, дозованого наповнення флаконів); **IV** – закатування ковпачків на флаконах з ін'єкційними

розчином (контроль: герметичність закупорки флаконів); V – стерилізація флаконів (контроль: температури, експозиції стерилізації, стерильності); VI – маркування і укладання в коробки флаконів (контроль: відповідність зовнішнього вигляду, відсутність механічних включень, герметичність упаковки, відхилення від номінального об'єму); VII – транспортування готової продукції на склад.

1 – ємкість з водою для ін'єкцій; 2 – реактор; 3 – прилад автоматичної дозації і завантаження сухих порошкоподібних компонентів; 4 – ємкість для готового ін'єкційного розчину; 5 – фільтр тонкого очищення ін'єкційних розчинів; 6 – дозатор готових рідких лікарських форм; 7 – пристрій для закупорювання флаконів; 8 – стерилізатор для флаконів; 9 – прилад етикетування та упаковки; 10 – пакувальна тара.

Для вивчення гострої токсичності препарату використовували білих нелінійних щурів, яким задавали різні дози і об'єми досліджуваного препарату. Потім впродовж 14 діб здійснювали спостереження за лабораторними тваринами. Загибелі та токсичних реакцій у досліджуваних тварин не спостерігали, дозозалежний вплив Стимуліну-Вет на різні функції організму не реєстрували.

Препарат відноситься до 4 класу небезпеки та є відносно нетоксичним згідно з класифікацією відповідно до ГОСТ 12.1.007-76.

Способи добору корів у донори ембріонів для трансплантації

Розроблення способу добору корів у донори на основі оцінки функціонування жовтого тіла яєчників.

Спосіб добору корів у донори ембріонів розроблений нами на основі припущення даних, що реакція суперовуляції відбувається, якщо функціонування жовтого тіла яєчника забезпечує концентрацію прогестерону в організмі донорів на рівні більше 2 нг/мл. Виходячи з цього припущення, нами проведено серію досліджень реакції корів з різним станом жовтого тіла на введення гормонів і встановлення можливості прогнозування заплідненості корів за морфологічною структурою жовтих тіл. Результати досліджень показали, що введення PGF_{2a} Естрофан коровам з активно функціонуючим жовтим тілом яєчників, зумовлює у переважній більшості тварин (82,8%) появу ознак статевої охоти, що дозволяє отримати більшу кількість придатних до пересадження ембріонів.

Доведено, що корови-донори, у яких перед синхронізацією статевої охоти верхівка жовтого тіла виходила за межі яєчника на 0,5 см і більше, ліпше реагують на ГСЖК і при цьому від них можна отримати більшу кількість придатних до пересадження ембріонів.

Розроблення способу добору корів у донори ембріонів на основі біохімічних досліджень обміну Фосфору.

З метою удосконалення способів відбору корів у групу донорів ембріонів нами проведений пошук додаткових об'єктивних критеріїв оцінювання придатності тварини до участі у процесах трансплантації. Встановлено, що для добору корів у донори ембріонів можна використовувати величини коефіцієнту відношення неорганічного Фосфору до активності лужної фосфатази помноженого на сто,

оскільки придатні для трансплантації ембріони були отримані від корів, у яких він коливається в межах від 0,36 до 0,63. Цей висновок підтверджує позитивний високовірогідний взаємозв'язок між цими ознаками ($r=0,945$).

Вплив біологічно активного препарату Стимулін-Вет на індукування суперовуляції корів-донорів

Тваринам дослідної групи препарат Стимулін-Вет, об'ємом 50 мл/гол, вводили внутріматково на другу добу статевого циклу.

У дослідних тварин ефективність вимивання ембріонів була меншою на 16,4%, порівняно з контрольною групою (табл. 1). Тому внутріматкове введення препарату зумовило такий морфофункціональний стан рогів матки донорів, який був несприятливим для вимивання ембріонів.

Можна вказати на значні відмінності у дослідній та контрольній групах в стадіях розвитку ембріонів. Так, у контрольній групі тварин кількість ембріонів на стадії морули та бластоцисти була однаковою, тоді як у дослідних донорів отримали майже в чотири рази більше морул, ніж бластоцист.

Таблиця 1

Ефективність вимивання ембріонів, їх якість та стадії розвитку

Показники	Група	
	контрольна	дослідна
Позитивних донорів за вимиванням, n (%)	4 (100)	4 (100)
Індекс вимивання ембріонів, %	52,9	44,2
Придатних ембріонів, шт.	3,0±2,04	2,5±0,5
Із них :«відмінних»	1,75±1,436	0,75±0,479
«добрих»	1,25±0,629	1,75±0,250
«задовільних»	0,25±0,250	1,250±0,946
Непридатних ембріонів, шт.	1,25±0,250	1,0±0,577
Морул, шт.	2,3±0,63	4,0±1,91
Морул придатних, шт.	1,0±0,41	1,8±0,48
Морул непридатних, шт.	1,3±0,25	2,3±1,44
Бластоцист, шт.	2,3±1,93	0,8±0,25
Бластоцист придатних, шт.	2,0±2,00	0,8±0,25
Бластоцист непридатних, шт.	0,3±0,25	0

Отже, порівняльний аналіз показав, що від корів-донорів дослідної групи морул отримали більше на 42,5%, ніж у контрольних. Кількість бластоцист була втричі меншою, тобто у донорів контрольної групи ембріони в матці розвивалися інтенсивніше, ніж у дослідних тварин.

На першому етапі досліджень визначали оптимальну дозу застосування біологічно активного препарату Стимулін-Вет у вигляді внутрішньом'язових ін'єкцій в схемі стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} у корів-донорів. Із досліджуваних доз препарату Стимулін-Вет (10, 20 та 30 мл/гол/добу корові із масою тіла 470–560 кг) було встановлено, що ін'єкції в дозі 10 мл/гол/добу не

вплинули на ефективність суперовуляції у дослідних донорів у порівнянні з контролем. Використання у дослідних групах препарату в дозі 20 і 30 мл/гол/добу сприяло ефективності суперовуляції.

На цьому етапі між дослідними групами корів-донорів дозозалежний ефект від використаного препарату Стимулін-Вет у вибраному діапазоні доз 20 і 30 мл/гол/добу не проявлявся. Тому враховуючи, що для техніки виконання внутрішньом'язових ін'єкцій, а також з метою раціонального використання компонентів препарату Стимулін-Вет, найбільш оптимальною є доза препарату 20 мл/гол/добу.

Під час проведення дослідів у схему індукції суперовуляції внесли деякі зміни. Так, для збільшення рівня суперовуляції дозу гонадотропіну СЖК Folligon[®] збільшили до 3000 МО/гол., а синтетичний аналог простагландину F_{2α}-клопростенол у вигляді препарату Естрофан ін'єктували у дозі 2 мл (0,5 мг активної речовини) на одну голову двічі – на 12 та 13 добу статевого циклу. Коровам дослідної групи на 8, 9, 10, 11 добу статевого циклу ін'єктували препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл/гол/добу.

Результати проведених дослідів свідчать, що у донорів дослідної групи рівень суперовуляції був більший на 23,5 % порівняно з контрольними тваринами.

Аналіз лімітів показав, що велика похибка зумовлена варіабельністю цієї ознаки, та засвідчив наявність тенденції до збільшення кількості овульованих фолікулів, оскільки у дослідних донорів мінімальна та максимальна кількість овуляцій була відповідно більшою на 40% та 23,5%. Крім того, у дослідних донорів було на 64,7% менше неовульованих фолікулів, ніж у контрольній групі (табл.2).

Таблиця 2

Результати суперовуляції у корів-донорів, (M±m)

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Оброблено корів-донорів, гол.	5	5
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, n (%)	5 (100)	4 (80)
Овуляцій на одного реагуючого донора	7,8±1,88	10,2±2,69
Ліміт овуляції у донорів, lim _{min-max}	3-13	5-17
Неовульованих фолікулів, шт.	3,4±1,21	1,2±0,63
Відсоток неовульованих фолікулів, %	43,6	12,2
Позитивних донорів за вимиванням, n	4	4
Всього ембріонів на позитивного донора, шт.	7,0±2,27	5,2±0,48
Із них: придатних до пересадження	3,7±1,80	5,2±0,48
непридатних до пересадження	3,2±0,75	0

Порівняльний аналіз з дослідною групою показав, що у контрольній групі було на 20 % більше донорів, що прореагували на суперовуляцію, але на цю ж кількість менше тварин, у яких вимили ембріони.

У дослідних донорів було вимито ембріонів менше всього на 25,7%, ніж у контрольній групі, але якість ембріонів за морфологічними ознаками була вищою, оскільки придатних ембріонів отримали більше на 34,6%.

Таким чином, чотирикратне введення донорам препарату зумовлює зменшення кількості неовульованих фолікулів та збільшення виходу придатних до пересадження ембріонів.

У наступному досліді суперовуляцію у корів-донорів стимулювали за допомогою введення ГСЖК Folligon® (3,0 тис МО/гол.)-PGF_{2α} Естрофан (2 мл/гол.). На 10 і 11 добу статевого циклу коровам дослідної групи ін'єктували препарат Стимулін-Вет по 20 мл/гол/добу.

Результати проведених дослідів свідчать, що у донорів дослідної групи рівень суперовуляції був більший на 41,2% порівняно з контролем (табл.3). Аналіз лімітів показав, що у дослідних донорів мінімальна та максимальна кількість овуляцій була відповідно більшою на 28,6% та 41,0% порівняно з контролем. Крім того, у дослідних донорів було на 64,1% ($p < 0,05$) менше неовульованих фолікулів, ніж у контрольній групі.

Порівняльний аналіз дослідної групи із контрольною показав, що кількість донорів, які мали оптимальну суперовуляцію становила відповідно 57,1% та 28,6%.

Таблиця 3

Результати суперовуляції у корів-донорів, (M±m)

Показник	Група	
	контрольна	дослідна
Корови-донори, що реагували на індукцію суперовуляції, гол.	4	4
Овуляцій на одного реагуючого донора, шт.	8,0±1,05	11,3±1,92
Ліміт овуляції у донорів, lim _{min-max}	5–13	7–22
Неовульованих фолікулів на донора, шт.	3,9±0,83	1,4±0,37*
Відсоток неовульованих фолікулів, %	48,2	12,7
Кількість тварин, що мали оптимальну (10–15) суперовуляцію, гол.	2	4
Позитивних донорів за вимиванням, гол.	4	4
Всього ембріонів на позитивного донора, шт.	6,0±1,47	10,0±2,68
Із них: придатних до пересадження, шт.	3,8±1,18	7,2±1,25
непридатних до пересадження, шт.	2,2±1,03	2,8±1,49

Примітка:* $p < 0,05$

Отже, двократне ін'єктування донорам препарату Стимулін-Вет сприяє більш ефективній суперовуляції, індукованої гонадотропіном ГСЖК Folligon®. Крім того, у дослідних донорів загальна кількість вимитих ембріонів та придатних серед них до пересадження була більшою відповідно на 40 та 47,2 %, порівняно з контролем.

Динаміка активності ензимів у сироватці крові корів-донорів, у яких проводили стимуляцію суперовуляції

Аналіз активності ензимів у сироватці крові корів-донорів на 8-у добу статевого циклу перед введенням препарату Стимулін-Вет не виявив суттєвої різниці між дослідною і контрольною групами.

Після введення контрольним донорам ГСЖК Folligon® в крові на 4,7, 21,2 і 16,0 % збільшилась активність АсАТ, АлАТ, ГГТ та на 7,29 % зменшилась активність ЛФ порівняно з 8-ою добою циклу (табл. 4).

Ін'єктування дослідним донорам Стимуліну-Вет з гонадотропіном СЖК Folligon® зумовило зростання активності АлАТ, АсАТ на 12-у добу циклу порівняно з вихідним рівнем.

Причому активність АсАТ вірогідно збільшувалась на 7,7 %, відносно контролю. Активність ЛФ у дослідних донорів після ін'єкцій Стимуліну-Вет зросла на 3,25 та 7 %, а ГГТ – зменшилась на 6,7 та 16,3 % порівняно з 8 добою статевого циклу та контролем відповідно.

Співвідношення трансаміназ характеризує фізіологічну координованість катаболізму і анаболізму, яка відображається коефіцієнтом (індексом) де Рітіса.

На початку дослідження між дослідними групами донорів різниця за коефіцієнтом де Рітіса була незначною і, ймовірно, зумовлена індивідуальними особливостями тварин.

Таблиця 4

Активність ензимів крові корів-донорів, $M \pm m$

Показники	День статевого циклу			
	Контроль, n=5		Дослід, n=5	
	8	12	8	12
АсАТ, од/л	59,4±1,96	62,2±1,36	59,8±2,01	67,0±1,45*
АлАТ, од/л	19,6±1,29	23,8±1,16	19,0±0,84	21,2±0,80
ЛФ, од/л	76,8±2,27	71,2±3,04	73,8±2,85	76,2±2,97
ГГТ, од/л	20,0±0,84	23,2±1,43	20,8±0,86	19,4±0,51
Коефіцієнт де Рітіса	3,0±0,13	2,62±0,06	3,2±0,05	3,2±0,07
АсАТ+АлАТ/ГГТ	4,0±0,29	3,7±0,10	3,8±0,13	4,6±0,24*

Примітка: *p < 0,05-порівняно з контролем

Після введення препаратів у дослідних корів-донорів коефіцієнт де Рітиса не змінився, а у контрольних – вірогідно знизився на 12,6 %. Тобто у контрольних донорів, очевидно, введення ГСЖК, що різко зумовлює збільшення енергетично-пластичних затрат в організмі на поліфолікулогенез, змінив метаболічну рівновагу в бік анаболізму, тоді як у дослідних тварин зберігається початкова координованість катаболізму та анаболізму за рахунок інгредієнтів препарату.

Ефективність використання амінокислот тканинного пула оцінюють за співвідношенням АсАТ+АлАТ/ГГТ (коефіцієнт ІВДТР), оскільки сума амінотрансфераз відносно ГГТ свідчить про інтенсивність використання допоміжного тканинного резерву.

У контрольних донорів індукція ГСЖК на 12-у добу циклу суперовуляції зумовила підвищення активності ГГТ на 16 %, що, в свою чергу, спричинило зниження на 6,8 % коефіцієнта ІВДТР порівняно з вихідним рівнем.

У дослідних донорів на 12-у добу статевого циклу активність ГГТ була нижчою на 6,7 %, ніж на початку дослідження. Така динаміка активності ГГТ і підвищення АсАТ сприяли зростанню на 21 та 23,3 % ($p < 0,05$) коефіцієнта ІВДТР порівняно з вихідним рівнем і контролем відповідно.

Вірогідне збільшення коефіцієнта ІВДТР свідчить, що у дослідних донорів інтенсивне використання внутрішніх резервів для забезпечення компенсаторних механізмів при зростаючій біоенергетиці організму, зумовленої введенням ГСЖК, було кориговане біологічно активним препаратом у напрямі їх економного та адаптивного використання.

Такі зміни активності досліджуваних ензимів та їх коефіцієнтів у дослідних донорів сприяли зменшенню кількості неовульованих фолікулів та одержанню більшої кількості придатних ембріонів.

Динаміка активності ензимів у сироватці крові корів-донорів за введення препарату Стимулін-Вет на 10 – 11 добу статевого циклу

У корів-донорів обох груп на 8-й день статевого циклу активність амінотрансаміназ була майже однаковою. Ін'єктування препарату Стимулін-Вет на 10-у та 11-у добу статевого циклу коровам-донорам дослідної групи зумовило на 12-й день зростання активності АсАт і АлАт відповідно на 4,7 % та 22,6 % порівняно з 8-ю добою циклу. Це сприяло статистично вірогідній ($p < 0,05$) різниці у активності АсАТ та АлАТ між дослідною та контрольною групами, яка зросла на 12-й день відповідно на 8,3% та 14,6 % (табл. 5).

Активність ензимів крові корів-донорів, М±m

Ферменти	День статевого циклу			
	Контроль, n = 4		Дослід, n = 4	
	8	12	8	12
АсАТ, од/л	59,7±1,25	58,2±1,11	60,5±0,65	63,5±1,04*
АлАТ, од/л	20,7±0,63	21,5±0,65	19,5±0,96	25,2±0,95*
ЛФ, од/л	65,2±1,38	64,7±1,89	63,0±1,08	70,0±2,2
Коефіцієнт де Рітіса	2,9±0,04	2,7±0,12	3,1±0,16	2,5±0,08

Примітка: *p < 0,05-порівняно з контролем.

Варто наголосити, що збільшення активності АлАТ та АсАТ у деяких випадках інтерпретують як діагностичні фактори фізіологічного стану організму та розвитку деяких патологій.

Для встановлення патологічного стану чи фізіологічної норми організму тварин за зміною активності амінотрансфераз використовують індекс де Рітіса, який, на думку деяких авторів, в стані фізіологічної норми має дорівнювати 2 із значним коливанням у бік зростання цього показника.

Збільшення активності обох амінотрансфераз у дослідних донорів на 12-й день статевого циклу зумовило зменшення коефіцієнта де Рітіса, порівняно з контролем, на 7,4 %. Отримані дані не слід трактувати як негативний фактор, оскільки різниця в середніх величинах коефіцієнтів була в межах похибки. Крім того, співвідношення цих ферментів було не нижче 2.

На початку дослідження різниця в активності ЛФ між дослідними та контрольними донорами була в межах 3,4 %. Після введення донорам Стимулін-Вет, активність ензиму на 12-й день статевого циклу зросла на 10 та 7,5 % порівняно з 8-м днем та контрольними тваринами.

Зростання активності АлАТ, АсАТ та ЛФ, очевидно, свідчить про спроможність компонентів препарату Стимулін-Вет регулювати енергетичний гомеостаз у тканинах статевої системи під час стимуляції супероуляції за рахунок активації ендогенних ферментних систем і транспорту в клітину екзогенних метаболітів.

Динаміка обміну загального холестерину та його ліпопротеїдних фракцій у крові корів-донорів під час стимуляції у них супероуляції

Примусова зміна гормонального статусу в організмі донорів за стимуляції множинної оуляції вплинула на обмін холестеролу та спектр ліпопротеїнів. Використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет за індукції гонадотропіном СЖК супероуляції у корів-донорів інтенсифікувало біохімічні

процеси обміну холестерину та розподілу фракцій ліпопротеїнів під час поліфолікулогенезу, що сприяло поліпшенню поліовулятивної реакції.

У крові корів-донорів під час росту на яєчниках фолікулів, індукованого введенням 3000 М.О. екзогенного гонадотропіну СЖК Folligon[®], спостерігається зменшення концентрації холестеролу, Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ та збільшення вмісту триацилгліцеролу і Х-ЛДНЩ.

Нейротропно-метаболический препарат Стимулін-Вет, введений донорам під час стимуляції гонадотропіном СЖК суперовуляції, інтенсифікує процеси зменшення вмісту холестеролу, Х-ЛВЩ та Х-ЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації Х-ЛДНЩ.

У донорів через 48 год (12-а доба статевого циклу) після введення гонадотропіну СЖК між вмістом холестеролу та холестеролу ЛПВЩ спостерігається вірогідний прямий зв'язок ($r=0,827$).

Економічна ефективність використання препарату Стимулін-Вет

Розрахунок економічної ефективності використання біологічно активного препарату Стимулін-Вет здійснювали з урахуванням формування нормативної собівартості, ціни одержання та трансплантації ембріонів великої рогатої худоби (Шаран П.І., Кравченко Г.Г., Ковтун С.І. та ін., 2006р.), а також аналізу фактичних витрат.

Удосконалення схеми стимуляції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан у корів-донорів за використання препарату Стимулін-Вет на 10 і 11 добу статевого циклу, зумовлює економічний ефект на 1 грн витрат – 1,59 грн. Собівартість одержаних ембріонів знижується на 20,0 %.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі викладено теоретичне узагальнення способів стимуляції суперовуляції у корів-донорів ембріонів та наведено результати власних експериментальних досліджень щодо розробки біологічно активного препарату нейротропно-метаболическої дії та удосконалення за його участі схем індукції поліовулятивної реакції.

1. Розроблено біологічно активний препарат нейротропно-метаболическої дії Стимулін-Вет на основі сполук глутамінату натрію і сукцинату натрію та спосіб його застосування у схемі індукції суперовуляції ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан з метою збільшення кількості овульованих фолікулів та ембріонів, придатних до трансплантації.

2. Двократне введення коровам-донорам на 10-ту та 11-ту добу статевого циклу препарату Стимулін-Вет в дозі 20 мл/гол/добу за індукції суперовуляції за схемою ГСЖК Folligon[®] - PGF_{2α} Естрофан СЖК сприяє зростанню рівня суперовуляції на 41,2 %, зменшення кількості неовульованих фолікулів на 64,1% ($p<0,05$).

3. Доведено, що біологічно активний препарат нейротропно-метаболическої дії Стимулін-Вет, введений у період морфофункціональної активації статевої системи

корів-донорів, стимульованої дією екзогенного гонадотропіну, обумовлює зміни в ендометрії матки корів-донорів, що сприяє вимиванню більшої кількості ембріонів та зокрема придатних до пересадження на 47,5%, відносно показників у тварин контрольної групи.

4. Встановлено, що оптимальними коровами-донорами можуть бути ті тварини, у яких у сироватці крові коефіцієнт відношення неорганічного Фосфору до активності лужної фосфатази в межах від 0,36 до 0,63, а також у цих корів верхівка жовтого тіла виходить за межі яєчника на 0,5 см і більше.

5. Виявлено, що введення препарату Стимулін-Вет коровам-донорам дослідної групи на 10-й і 11-й дні статевого циклу зумовило зростання активності АсАТ, АлАТ і ЛФ відповідно на 8,3, 14,6 та 10,0% ($p < 0,05$) порівняно з контрольною групою, а також зумовило пролонгований ефект у збільшенні їх активності до 7-го дня в межах фізіологічної норми.

6. З'ясовано, що використання препарату Стимулін-Вет під час стимулювання суперовуляції ГСЖК зумовлює зменшення концентрації холестеролу його ліпопротеїнових фракцій Х-ЛВЩ, Х-ЛНЩ, не зумовлюючи змін у концентрації Х-ЛДНЩ. Встановлений вірогідний кореляційний зв'язок між вмістом холестеролу та холестеролу ліпідів високої щільності ($r = 0,827$).

7. Впровадження удосконаленої біотехнології індукції суперовуляції у самок великої рогатої худоби за використання біологічно активного препарату дозволяє знизити собівартість ембріонів на 20,0 %.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. Для виробництва біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії Стимулін-Вет необхідно керуватись нормативним документом Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010.

2. З метою підвищення відтворної здатності корів за використання біотехнологічної схеми індукції суперовуляції ГСЖК Folligon - $\text{PGF}_{2\alpha}$ Естрофан тваринам-донорам ембріонів необхідно на 10-ту і 11-ту добу статевого циклу внутрішньом'язово вводити препарат Стимулін-Вет у дозі 20 мл/гол/добу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Статті у наукових фахових виданнях

1. **Вергелес О.П.**, Шеремета В.І. Гормональна індукція суперовуляції у корів-донорів української чорно-рябої молочної породи з використанням біологічно активного препарату. Науково-технічний бюлетень Інституту тваринництва УААН. 2008; 97:96–102. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів та інтерпретації отриманих результатів дослідження).*

2. **Вергелес О.П.**, Шеремета В.І. Фізіологічна роль бурштинової та глютамінової кислоти в організмі тварин і створення на їх основі біологічно активних препаратів. Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. 2009. 138: 399–409. *(Здобувач брав участь у обробці та інтерпретації матеріалів до статті).*

3. **Вергелес О.П.**, Шеремета В.І. Використання біологічно активного препарату в схемі стимуляції поліовуляції у корів-донорів. Ветеринарна медицина України. 2009. 3: 22–3. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів, обробці експериментальних даних та описі результатів дослідження).*

4. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.** Використання препарату "Стимулін" у трансплантації ембріонів. Вісник аграрної науки. 2009. 10: 35–7. *(Здобувач брав участь у проведенні дослідів, обробці експериментальних даних та описі результатів дослідження).*

5. **Вергелес О.П.** Активність ферментів у крові корів-донорів за використання біологічно активних речовин. Тваринництво України. 2009. 9: 28–31. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

6. **Вергелес О.П.**, Шеремета В.І. Активність ферментів у крові корів-донорів під час стимуляції ГСЖК суперовуляції. Науковий вісник НУБіП України. 2009. 132: 33–8. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

7. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.**, Себа М.В. Новий спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Вісник аграрної науки. 2010. 12: 34–5. *(Здобувач виконав експериментальні дослідження, опрацював отримані дані і підготував статтю до друку).*

8. Шеремета В.І., **Вергелес А.П.**, Биланюк Л.М. Активність трансаминаз в крові корів-донорів. Вісник Українського товариства генетиків і селекціонерів. 2012. 10(2): 319–23. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

9. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.** Ліпідний профіль у крові корів-донорів за стимуляції суперовуляції гонадотропіном СЖК спільно з нейротропно-метаболічним препаратом. Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Розведення і генетика тварин». 2013. 47: 110–8. *(Здобувач брав участь у відборі біологічного матеріалу, проведенні експерименту та підготовці матеріалів до друку).*

10. **Вергелес О.П., Шеремета В.І., Джус П.П.** Динаміка обміну ліпідів у крові корів-донорів за використання біологічно активного препарату. Міжвідомчий тематичний науковий збірник «Розведення і генетика тварин». 2019; 58:80–5. *(Здобувач брав участь у проведенні експерименту, обробці отриманих результатів дослідження та підготовці матеріалів до друку).*

Наукові праці апробаційного характеру

11. **Вергелес О.П.** Індукція поліовуляції у корів-донорів з використанням гонадотропіну СЖК «Folligon» та біологічно активного препарату «Стимулін». Матеріали VII Міжнар. конф. молодих вчених та аспірантів. – Чубинське, 2009.

12. Шеремета В.І., **Вергелес А.П.** Трансплантація ембріонів в селекції крупного рогатого скота. Матеріали науч.-метод. конф., посвященної 200-летию со дня рождження Ч. Дарвина. – Брянск, 2009. – С. 271–7. *(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).*

13. Шеремета В.І., **Вергелес А.П.** Активність трансaminaз в крові на фоні применення нейрометаболического стимулятора при індукції суперовуляції у корів-донорів. Проблемы биологии продуктивных животных. ВНИИ физиологии, биохимии и питания с.-х. ж-х. – Боровск, 2011. 4: 162–3. *(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).*

14. Шеремета В.І., **Вергелес А.П.** Коррекція суперовуляції у корів-донорів препаратом метаболіческого нейротропного действия. Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – Беларусь. – Горки, 2013. 16 (2):41–8. *(Здобувачем отримано експериментальні дані та підготовлено матеріали до друку).*

15. **Вергелес О.П.** Гормональна індукція множинної овуляції у корів-донорів. «Наукові дослідження – теорія та експеримент-2009». Матеріали V Міжнародної науково-практичної конференції. – Полтава. 2009. – С. 25–8.

16. **Вергелес О.П.** Удосконалення схеми стимуляції суперовуляції у корів-донорів за використання біологічно активних речовин. Матеріали Міжнар. конф., присвяченої вшануванню 95-ї річниці від дня народження доктора сільськогосподарських наук, професора В.Ю. Недави. – Чубинське, 2020.

Рекомендації виробництву

17. **Вергелес О.П.** Стимуляція суперовуляції у корів-донорів за допомогою ГСЖК спільно з біологічно активним препаратом «Стимулін-Вет». Методичні рекомендації. – Київ .: АВІАЗ. 2013: 32.

Патенти і технічні умови

18. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.** Винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб відбору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент України №86165. 2009 берез. 25. *(Здобувач був співавтором ідеї винаходу і виконав експериментальні дослідження).*

19. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.** Винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації. Патент на корисну модель № 42098 2009 черв 25. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

20. Шеремета В.І., Мельничук С.Д., **Вергелес О.П.** Винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Спосіб добору корів у донори ембріонів для трансплантації. Патент на корисну модель №57835. 2011 берез 10. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

21. Шеремета В.І., **Вергелес О.П.** Винахідники; Національний університет біоресурсів і природокористування України, патентовласник. Препарат для стимулювання овуляції та спосіб одержання ембріонів великої рогатої худоби для трансплантації з його допомогою. Патент України №91772. 2010 серп. 25. *(Здобувач був співавтором ідеї корисної моделі і виконав експериментальні дослідження).*

22. **Вергелес О.П.**, Шеремета В.І., Опанасенко О.С. Біологічно активний препарат «Стимулін-Вет». Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010. *(Здобувач був співавтором ідеї препарату Стимулін-Вет і виконав експериментальні дослідження з визначення його окремих фармако-токсикологічних властивостей).*

АНОТАЦІЯ

Вергелес О.П. Удосконалення схеми стимуляції суперовуляції у корів-донорів за використання біологічно активних речовин. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Білоцерківський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України. – Біла Церква, 2020.

Теоретично та експериментально обґрунтовано ефективність застосування розробленого препарату метаболічного типу дії на основі солей бурштинової і глутамінової кислот Стимулін-Вет, що підтверджено об'єктивними критеріями біотехнологічних і біохімічних досліджень.

Розроблено технологію створення біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії Стимулін Вет та нормативний регламентуючий на нього документ «Технічні умови ТУ У 24.4-33295412-001:2010».

Досліджено ефективність відбору корів у донори ембріонів за результатами трансректального пальпаторного дослідження розміру та форми яєчників, а також наявності та стану активного жовтого тіла яєчника. Розроблено об'єктивний спосіб оцінювання придатності самок великої рогатої худоби до участі у процесах трансплантації на основі специфічного показника відношення концентрації Фосфору неорганічного до активності лужної фосфатази.

Удосконалена схема індукції поліовулятивної реакції у корів донорів за дії біологічно активного препарату нейротропно-метаболічної дії Стимулін Вет.

Розширено наукові дані щодо впливу індукторів суперовуляції та біологічно активних препаратів на стан фізіологічного гомеостазу корів-донорів, фізіологічну координованість трансаміназ, лужної фосфатази та процеси обміну холестерину і розподілу фракцій ліпопротеїдів під час поліфолікулогенезу.

Експериментально підтверджено теоретичний прогноз, що сполуки метаболічної нейротропної дії, які поєднані в препараті Стимулін-Вет, регулюють енергетичний та пластичний обмін у системі гіпоталамус-гіпофіз, корегуючи співвідношення між ФСГ і ЛГ і сприяють збільшенню рівня овуляцій та інтенсифікації білкового і енергетичного обмінів.

Ключові слова: корова-донор ембріонів, суперовуляція, гонадотропін СЖК, нейротропно-метаболічний препарат Стимулін-Вет, трансамінази, холестерин.

АННОТАЦИЯ

Вергелес А.П. Совершенствование схемы стимуляции суперовуляции у коров-доноров за использование биологически активных веществ.

Квалификационная научная работа на правах рукописи. Диссертация на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Белоцерковский национальный аграрный университет Министерства образования и науки Украины. – Белая Церковь, 2020.

Теоретически и экспериментально обоснована эффективность применение разработанного препарата метаболического типа действия на основе солей янтарной и глютаминовой кислот Стимулин-Вет, что подтверждено объективными критериями биотехнологических и биохимических исследований.

Разработана технология создания биологически активного препарата нейротропного-метаболического действия Стимулин-Вет и нормативный регламентирующий на него документ «Технические условия ТУ У 24.4-33295412-001: 2010».

Исследована эффективность отбора коров в доноры эмбрионов по результатам трансректально пальпаторного исследования размера и формы яичников, а также наличия и состояния активного желтого тела яичника. Разработан объективный способ оценки пригодности самок крупного рогатого скота к участию в процессах трансплантации на основе специфического показателя отношения концентрации фосфора неорганического к активности щелочной фосфатазы.

Усовершенствованная схема индукции суперовуляции у коров доноров за действия биологически активного препарата нейротропного-метаболического действия Стимулин Вет.

Расширенные научные данные о влиянии индукторов суперовуляции и биологически активных препаратов на состояние физиологического гомеостаза коров-доноров, физиологическую скоординированность трансаміназ, щелочной фосфатазы и процессы обмена холестерина и распределения фракций липопротеидов при полифолікулогенезе.

Экспериментально подтверждено теоретическое предсказание, что соединения метаболическо-нейротропного действия, которые объединены в препарате Стимулин-Вет, регулируют энергетический и пластический обмен в системе гипоталамус-гипофиз, корректируя соотношение между ФСГ и ЛГ, а также и способствуют увеличению уровня овуляций и интенсификации белкового и энергетического обменов.

Ключевые слова: корова-донор эмбрионов, суперовуляция, гонадотропин СЖК, нейротропный-метаболический препарат Стимулин-Вет, трансаминазы, холестерин.

ANNOTATION

Vergeles O. P. The improvement of scheme of stimulation of donor cow's superovulation by biologically active substances. – The qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation is for a Candidate Degree in Agricultural Sciences, specialty 03.00.02 – biotechnology. – Bila Tserkva National Agricultural University of the Ministry of Education of Ukraine, Bila Tserkva, 2020.

Dissertation work is devoted to improvement of hormone preparation schemes of donor cows' embryos by finding and development of biologically active medication, which gives the opportunity to increase the output of suitable embryos without additional using of hormonal medications in the schemes of superovulation. The efficiency of using of developed metabolic type of medication based on amber salt and glutamic acid Stimulin -Vet is justified theoretically and experimentally. It's confirmed by objective criteriums of biotechnical and biochemical researches. Scientific novelty of development is confirmed by the patent for the invention «Preparation for induce of ovulation and method of cattle's embryos obtaining for transplantation with the help of it» (91772 Ukraine, МОК А61К31/194, 2010).

Dissertation thesis have been done in the laboratory of animal biotechnology, which belongs to department of animal breeding and genetics in National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine and on the base on separated subdivision of NULES of Ukraine Muzychenko Velykosnitnyzke education and research farm, separated subdivision of NULES of Ukraine Education and Research Farm «Vorzel», open joint-stock company «Puscha Vodytsya» Kyiv-Svyatoshyn district of Kyiv region.

The superovulation of cows was stimulated by injection of medication gonadotropin of foal mares PMSG Folligon[®] («INTERVET», Netherlands) and prostaglandin F_{2a} Oestrophan. It was studied the influence of medication Stimulin-Vet on the efficiency of superovulation.

Doses and frequency of injections of exogenous hormones and the medication Stimulin-Vet were differed depending on the series of studies.

Studies the superovulation in the cows was stimulated on the 10th day of sexual cycle by gonadotropin PMSG Folligon[®] at a dose of 3000 IU, and by injections after 48 and 72 hours of prostaglandin F_{2a} Oestrophan. The medication Stimulin-Vet at a dose of

20 ml per head was injected to the cows of experimental group on the 10th and 11th days of sexual cycle.

In all series of studies, the artificial insemination of donor cows was made three times with an interval of 12 hours by thawed sperm of one bull in the cervical way. The production of embryos was made on the 7th day of sexual cycle by non-surgical method.

The quality of the embryos was determined by morphological features on four points scoring system: «perfectly», «good», «satisfactory», «unsuitable». By the stage of development seven days' the preimplantation embryos were divided into early morula and morula, early blastocyst and blastocyst and late blastocyst.

The fit embryos were the embryos with the «perfectly» point and «good» point in which the stage of development confirm their age.

It is proven that using of drug Stimulin-Vet is the most effective on 10, 11 days of the sexual cycle in the dose of 20 ml per head by Folligon stimulation of the superovulation in cow donors.

After all the level of superovulation in donors of the research group was bigger 41,2% comparatively with control animals. In addition, the limit analysis showed that in research donors minimum and maximum number of ovulation was bigger on 28,6% and 41% comparatively with control.

In experimental donors the unovulated follicles was probably ($P < 0,05$) less 64,1% too than in control group.

The comparative analysis of experimental group with the control group showed that the donors' numbers, which had optimal superovulation 57,1% and 28,6%.

Experimentally substantiated method of selection of cows into donors of embryos occurs due to the state of ovary.

After all the cow donors which top of the corpus luteum before before the synchronization of sexual hunting corpus luteum the ovary in 0,5 centimeters and more reacted better on PMSG and it can be get more numbers of suitable transplant embryos.

The objective way of cow's selection into donors was elaborated on the basis of biochemical research of phosphorus metabolism because the suitable embryos for transplantation were received from cows which it fluctuates from 0,36 to 0,63 or has the quantity magnitude 2,0 and more. The conclusion confirms the positive highly reliable interconnection between these indications ($r=0,945$).

It's proved, that injection of biologically active medication Stimulin-Vet to the donor cows in the period of morpho functional activation of the genital system by the exogenous gonadotropin PMSG Folligon[®] causes the changes in activity of transaminase AsAT, AlAT and alkaline phosphatase (AP) which is indicating the intensification of protein and energy metabolism. The indicator of activity of transpheras were increased in the blood of both groups of cows compared to the start of the cycle. The cows of control group had accordingly increased on 21,24% and 4,7% ($p < 0,05$) indicator of activity ALAT and ASAT while the cows of experimental group after the four times of injection of gonadotropin Stimulin-Vet had accordingly increased on 12,00% and 11,6%. Double-injections of medication Stimulin-Vet on the 10th and 11th days of sexual cycle to the

donor cows of experimental group in a third series of studies caused the increasing of ASAt and ALAt on the 12th day accordingly on 17% and 22,6% comparatively to 8th day of cycle and decreasing in the end of study on 1,8 and 1,4 units comparatively to control ($p < 0,05$).

The activity of alkaline phosphatase (AP) after the using of medication Stimulin-Vet on the 12th of sexual cycle increased on 10% and 7,5% ($p < 0,05$) comparatively with the start of sexual cycle and control animals. So, in donor cows biologically active medication Stimulin-Vet causes increased activity of transaminases and alkaline phosphatase (AP), causes them by prolonged effect in the changing of their activity.

It is defined that during the stimulation of the growth of ovarians of follicles by the extracting of 3000 IU of exogenous gonadotropin PMSG Folligon[®] and prostaglandin Oestrophan to donor cows, there is a decrease in the concentration of cholesterol, HDL, LDL and the increasing in the content of triacylglycerol and VLDL. Neutropenic metabolic medication Stimulin-Vet which was injected to donor cows during the stimulation of superovulation intensifies the process of reduction of cholesterol HDL, LDL not causing the changing VLDL concentration.

It is observed a probable direct correlative connection ($r = 0,827$) in donor cows in 48 hours after using of gonadotropin PMSG between the content of cholesterol and HDL.

According to the results of research it proven that the improved stimulation scheme of superovulation in cow donors with the using of Stimulin-Vet allows to shorten the cost of the obtained suitable preimplantation embryos at the expense of increasing of level of superovulation and embryos productivity of donors which formed the economic efficiency in amount of 1,59 UAH per 1 UAH of costs. The cost of the obtained embryos is reduced by 20,0%.

Key words: cow donor of embryos, superovulation, neutropenic metabolic medication Stimulin-Vet, gonadotropin PMSG, transaminases, cholesterol.

Підписано до друку 23.11.2020 р. Формат 60x90/16.

Ум. друк. арк. 0,9. Обл.-вид. арк. 0,9.

Тираж 100. Зам. 27.

«Видавництво Науково-методичний центр ВФПО»[®]

Свідоцтво ДК № 1310 від 16.11.2000 р.

м. Київ, вул. Смілянська, 11

(044) 242-35-68

E-mail: nmc.vfpo@ukr.net

Сайт: nmc.vfpo