



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **68687** (13) **U**  
(51) МПК (2012.01)  
**A61D 19/00**

## (12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: <b>u 2011 10300</b>	(72) Винахідник(и): <b>Тихона Галина Сергіївна (UA), Безвесільна Алла Володимирівна (UA), Хмельков Вячеслав Миколайович (UA), Помітун Іван Андрійович (UA)</b>
(22) Дата подання заявки: <b>23.08.2011</b>	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.04.2012</b>	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.04.2012, Бюл.№ 7</b>	(73) Власник(и): <b>ІНСТИТУТ ТВАРИННИЦТВА НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ, вул. 7-ї Гвардійської Армії, 3, смт Кулиничі, Харківський р-н, Харківська обл., 62404 (UA)</b>

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ІНДУКОВАНОЇ СТАТЕВОЇ ОХОТИ У ОВЕЦЬ В АНЕСТРАЛЬНИЙ ПЕРІОД

### (57) Реферат:

Спосіб визначення індукованої статевої охоти в анестральний період у овець включає гормональну обробку за однією із існуючих схем індукції статевої охоти з урахуванням годинних інтервалів між введенням препаратів, виготовлення та мікроскопію мазків із цервікального слизу вівцематок через 24 години після введення препарату простагландину F<sub>2α</sub> "Естрофан" для оцінки перебігу кристалоутворень в цервікальному слизі.

UA 68687 U



Корисна модель належить до галузі сільського господарства, а саме до біотехнології відтворення ссавців та може використовуватися для визначення індукованої охоти у вівцематок в анестральний період при штучному осіменінні та трансплантації ембріонів.

Відомим способом визначення статеві охоти у сільськогосподарських тварин, в тому числі у вівцематок, є встановлення її за клінічними ознаками (візуальний метод), рефlekсами (рефлексологічний) та сумісний (візуально-рефлексологічний) Суть способу полягає у візуальній оцінці зовнішніх статевих органів та поведінці вівцематки. При цьому визначають колір, набряк та вологість слизової оболонки зовнішніх статевих органів, наявність слизу та занепокоєння тварини [Родин І.І. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных. - М.: Колос, 1973. - С. 199-202; Ожин Ф.В., Паршутин Г.В., Родин И.И. и др. Справочник по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных. - М.: Россельхозиздат, 1983. - С. 129-132].

Недоліками цього способу є необхідність підтвердження отриманих результатів з застосуванням барана-пробника тому, що на відміну від корів, у вівцематок менш характерні зовнішні ознаки, за якими встановлюють статево охоту.

Найближчим по технічній суті є спосіб визначення статеві охоти у овець, який реалізується при застосуванні розрахунків при гормональній обробці тварин. Для цього використовується одна із існуючих схем індукції статеві охоти з урахуванням годинних інтервалів між введенням препаратів [Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных. - М.: Агропромиздат, 1988. - С. 181-188].

Недоліком цього способу є те, що він використовується без урахування індивідуальних властивостей протікання статеві охоти у тварини, що обмежує можливості їх штучного осіменіння та трансплантації ембріонів.

В основу корисної моделі поставлено задачу - визначення індукованої статеві охоти у вівцематок для подальшого штучного осіменіння та використання їх як донорів ембріонів або реципієнтів в анестральний сезон без використання баранів-пробників.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб визначення індукованої охоти у овець в анестральний період, який включає гормональну обробку за однією із існуючих схем індукції статеві охоти з урахуванням годинних інтервалів між введенням препаратів, включає виготовлення та мікроскопію мазків із цервікального слизу вівцематок через 24 години після введення препарату простагландину  $F_{2\alpha}$  "Естрофан" для оцінки перебігу кристалоутворень в цервікальному слизі.

Таким чином, перебіг кристалоутворень від дрібних до великих розмірів відбувається тільки під час статеві охоти, при цьому великими за розмірами кристали становляться близько до моменту овуляції. Такий підхід дає змогу визначити час початку гормональної обробки для проведення біотехнологічних робіт.

Для рішення цієї проблеми запропоновано спосіб визначення індукованої статеві охоти у овець сокільської породи в анестральний період за перебігом кристалоутворень у мазках цервікального слизу без використання баранів-пробників.

Заявлений спосіб здійснюють згідно з наступними етапами: відбір зразків цервікального слизу; маркування та виготовлення мазків; сушіння та мікроскопія мазків; вимірювання розмірів кристалів та визначення їх форм; контроль індукованої статеві охоти.

Відбір зразків цервікального слизу здійснюють за допомогою пластикової прозорої трубки довжиною 10 см та одноразового шприца, які поєднані між собою перехідником; проводять відбір проб слизу із цервікальної частини піхви з попередньою санітарною обробкою зовнішніх статевих органів тварин.

Маркування та виготовлення мазків. На чистому знежиреному предметному склі зі зворотної сторони маркером наносять дату та інвентарний номер вівцематки, потім розміщують краплю слизу і краєм іншого предметного скла роблять тонкий мазок.

Сушіння та мікроскопія мазків. Мазки висушують при кімнатній температурі (18-22 °С) протягом 10-15 хв. та переглядають під мікроскопом при збільшенні у 112-280 разів для визначення форм кристалів.

Вимірювання розмірів кристалів та визначення їх форм. Розміри кристалів визначають під мікроскопом відповідно до загальноприйнятої методики за допомогою об'єктива (20<sup>x</sup>) та окуляра (16<sup>x</sup>) зі шкалою, де ціна поділки 5 мкм. Кут відгалуження відростків від основного стержня кристала вимірюють транспортером.

Форму кристалів визначають за методиками [Сысоев А.А. Теория воспроизводства скота - М.: Колос, 1965. - С. 102-105; Тихона Г.С. Деякі властивості цервікального слизу корів у залежності від фази статевого циклу /Тихона Г.С, Дібіров М.К. / НТБ, № 91 ІТ УААН. - Харків, 2005 - С. 102-106].

Контроль індукованої статевих охоти. Критерієм оцінки статевих охоти у вівцематок є вибрані якісні характеристики. За 2-3 доби до овуляції фолікула в яєчнику під впливом естрогенів у мазках цервікальному слизу утворюються кристали різних форм та розмірів, безпосередньо перед овуляцією слиз кристалізується, утворюючи характерний рисунок, подібний до листя папороті. Чим вище рівень естрогенів, тим крупніше та виразніше рисунок, при цьому відростки від основного його стержня відходять під кутом 90°. Після овуляції фолікула на фоні повноцінної функції жовтого тіла і певної прогестеронової насиченості кристалізація зникає і висушений слиз являє собою гомогенну масу. Феномен кристалізації дозволяє ретроспективно судити про овуляцію фолікула в яєчнику.

Приклад.

Об'єктом дослідження були мазки із цервікального слизу вівцематок сокільської породи в анестральний період та індуковану статеву охоту анестрального періоду.

За ознаками клініко-гінекологічного обстеження вівцематок встановлено, що в анестральний період також як і в естральний період, відбувається регенерація та десквамація епітеліальних клітин з виділенням у незначній кількості цервікального слизу. При мікроскопії виготовлених мазків кристалів не спостерігали - у полі зору була гомогенна маса.

При викликанні статевих охоти гормональними препаратами протягом доби спостерігали активізацію процесів проліферації та десквамації епітеліальних клітин, також збільшувалася секреція келихоподібних клітин слизової оболонки шийки матки, залоз матки та піхви, при цьому збільшувалася кількість слизу.

Результати досліджень показали, що у більшості вівцематок зовнішні ознаки прояву статевих охоти були слабвиражені, під час тички та охоти із каналу шийки матки виділявся прозорий тягучий слиз в незначному об'ємі, що спостерігали тільки через відкрите піхве дзеркало. Тому критерій оцінки прояву статевих охоти та безпосередній час овуляції визначали згідно з запропонованим способом за наявністю та вираженістю кристалічної структури в мазках із цервікального слизу, що є більш об'єктивнішим у порівнянні з аналогом.

При мікроскопії мазків цервікального слизу в цей період відмічено характерні форми кристалізації, які знаходяться залежно від взаємодії хлористого натрію й муцину, що обумовлено впливом естрогенів. Максимальна вираженість рисунка "папороті" відбувається в період овуляції, коли має місце найбільший вихід естрогенних гормонів.

Спочатку в мазках цервікального слизу вівцематок по всьому полю мікроскопа спостерігали дрібні кристали, що протягом 12 годин змінювалися на середні та великі. Після овуляції фолікула розміри кристалів швидко становилися дрібними або зовсім зникли, перетворюючись у гомогенну масу, на рис. представлено: Мікроскопічна картина мазків цервікального слизу вівцематок під час статевих охоти), де: 1 - дрібні кристали, 2 - середні кристали, 3 - великі папоротеподібні кристали з гострим кутом відгалуження відростків, 4 - дуже великі папоротеподібні кристали з прямим кутом відгалуження відростків, 5 - дрібні останки кристалів у вигляді колючок, 6-відсутність кристалів (гомогенна маса).

Мікроскопічний аналіз мазків цервікального слизу у 20 вівцематок, що проводилися в умовах відділу біотехнології репродукції сільськогосподарських тварин Інституту тваринництва НААН показав, що спочатку охоти спостерігали дрібні кристали, безпосередньо перед овуляцією по всьому полю були розташовані великі кристали у вигляді листя папороті, що змінювалися після овуляції знову на дрібні.

Усі кристали залежно від довжини та товщини основного стержня, кута відгалуження відростків, а також довжини відростків умовно поділили на три групи (таблиця).

Таблиця

Розміри та форми кристалів у мазках  
цервікального слизу вівцематок під час статевих охоти (n=89) M±m

Групи кристалів	Розміри кристалів, мкм			Форма кристалів	Кут відгалуження відростків, °
	Довжина основного стержня	Товщина основного стержня	Довжина відростків		
Великі (n=43)	472,21±6,14	9,14±0,77	254,19±12,84	Листя папороті	88,33±0,32
Середні (n=16)	345,00±19,20	4,19±0,59	181,88±28,18	Гілки дерев	65,19±2,24
Дрібні (n=30)	264,00±18,63	1,27±0,15	70,67±11,83	Різні	53,70±1,70

Тому у подальших дослідженнях поява у мазках дрібних кристалів нами приймалася за 0-й день для обробки вівцематок на суперовуляцію. Підтвердженням правильності тесту було отримання ембріонів, що вилучені на 6-й день після осіменіння вівцематок на відповідних стадіях розвитку. У цей час відбувався ріст жовтого тіла, а у каналі шийки матки спостерігали

5

незначну кількість клейкого слизу. При мікроскопії мазків із слизу було видно однорідну гомогенну масу без кристалів.

Порівняльні випробування стандартного методу (прототип) і запропонованого показали, що він дозволяє абсолютно точно визначити статеву охоту з урахуванням індивідуальних особливостей самиці без використання барана-пробника.

10

Випробування запропонованого способу визначення індукованої статевої охоти в анемстральний період у овець було здійснено та використовується у дослідному господарстві Інституту тваринництва НААН України "Гонтарівка". Як показали випробування запропонований спосіб визначення охоти за феноменом кристалізації цервікального слизу у вівцематок є технологічним у виконанні. Він дозволяє ретроспективно визначати минулу овуляцію, що дає

15

можливість з урахуванням індивідуальних властивостей тварин проводити біотехнологічні роботи протягом року, та може застосовуватися як експрес-тест. Ефективність способу підвищується до 95 % за рахунок визначення у вівцематок початку статевої охоти з наступною овуляцією фолікула та економії на утриманні баранів-пробників.

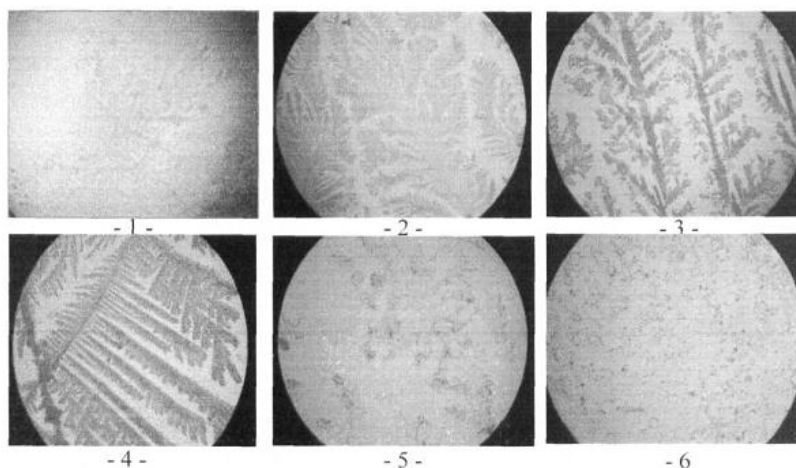
20

#### ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення індукованої статевої охоти в анемстральний період у овець, який включає гормональну обробку за однією із існуючих схем індукції статевої охоти з урахуванням годинних інтервалів між введенням препаратів, який **відрізняється** тим, що включає виготовлення та

25

мікроскопію мазків із цервікального слизу вівцематок через 24 години після введення препарату простагландину  $F_{2\alpha}$  "Естрофан" для оцінки перебігу кристалоутворень в цервікальному слизі.




---

Комп'ютерна верстка Л. Купенко

---

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

---

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601