

ЗАПЛІДНЕНІСТЬ ТА ЯКІСТЬ ЕМБРІОНІВ У КОРІВ-ДОНОРІВ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН ІЗ СПЕРМОЮ БУГАЇВ

М. М. Шаран, І. М. Яремчук

Інститут біології тварин УААН

Приведено дані про результати вивчення впливу біологічно активних речовин (БАР), введених із спермою бугаїв, на заплідненість та ембріопродуктивність у корів-донорів. Встановлено, що введення БАР (естрофан, інозин, унітіол, глутатіон, L-цистеїн) із спермою бугаїв підвищує відсоток запліднення корів на 11,8 %, збільшує кількість доброякісних ембріонів у корів-донорів на 15,5–19,0 % та суттєво зменшує частку незапліднених яйцеклітин на 30–40 %.

Одержання достатньої кількості морфологічно якісних ембріонів від корів-донорів значною мірою залежить від багатьох чинників: якість сперми, режим штучного осіменіння, нейрогуморальні процеси регуляції овуляції [1]. Численні дослідження свідчать про прямий зв'язок кількості спермій у дозі, їх якості з рівнем запліднення та ембріопродуктивністю [2, 3].

Одним із шляхів підвищення запліднення маточного поголів'я є введення у репродуктивні органи корів і телиць біологічно активних речовин (БАР). Введення БАР базується на тому факті, що при штучному осіменінні не тільки зменшується кількість спермій, введених у статеві шляхи самок, але й кількість плазми сперми, в якій знаходяться біологічно активні компоненти. Це призводить до зниження їх впливу на репродуктивні органи самок, оскільки плазма сперми створює сприятливі умови для їх виживання впродовж 1–2 діб у статевих органах [4]. Під час штучного осіменіння самок можна безпосередньо вплинути на обмінні процеси, що проходять у слизовій оболонці рогів матки за допомогою введення гормонів та інших БАР і таким чином створити сприятливі умови для розвитку зародка на ранніх його стадіях [5, 6].

Попередніми дослідженнями лабораторії встановлено, що додавання біологічно активних речовин (естрофан, інозин, унітіол, глутатіон, L-цистеїн) у визначених дозах позитивно впливають як окремо, так і в комплексі на активність та виживання спермій [7].

У зв'язку з цим метою досліджень було вивчити вплив введення вказаних БАР із спермою бугаїв-плідників на заплідненість та якість ембріонів у корів-донорів.

Матеріали і методи. Дослідження проведені у два етапи. На першому етапі експерименти проводилися у ПГ «Молочні ріки» Бродівського району Львівської області. Об'єктом дослідження були корови української чорно-рябої молочної породи. Для досліду було сформовано дві групи тварин: контрольна (n=50) та дослідна (n=65). Штучне осіменіння корів проводили спермою бугая-плідника голштинської породи Мотабо 7835. При осіменінні корів дослідної групи до розмороженої сперми додавали комплекс БАР (естрофан, інозин, унітіол, глутатіон, L-цистеїн). Комплекс БАР додавали до деконсервованої у 2,9 % розчині лимоннокислого натрію сперми бугаїв-плідників. Контрольних корів осіменяли спермою, розмороженою в 1 мл 2,9 % цитрату натрію.

Тварин осіменяли цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки через 10–12 годин після початку статевої охоти. В одній дозі сперми, яку вводили у тіло матки, було не менше 15 млн. активних спермій з прямолінійно-поступальним рухом.

Матеріалом біохімічних досліджень була кров корів обох груп відібрана на 3-й та 7-й дні після осіменіння. У крові піддослідних тварин визначали: вміст загального білка — за біуретовою реакцією, описаною І. П. Кондрахіним і іншими, 1985; фракційний склад білка — на ацетатцелюлозній плівці (І. П. Кондрахін і др., 1985); активність аспартат- і аланінамінотрансферази (АлАТ, АсАТ) — за методом

К. Г. Капетанакі, 1962; концентрацію глюкози — за методом Хултмана, 1959; загальний холестерин — за методом Ілька, описаним В. Й. Скороходом, М. Б. Стефанік, 1983.

Концентрацію прогестерону та естрадіолу визначали імуноферментним методом за допомогою приладу Sumal-PE2 німецької фірми Carlzeiss з використанням наборів ІммуноФА-ПГ (для прогестерону, російського виробництва) і ELISA (для естрадіолу, виробництва США).

Запліднення корів визначали за результатами ректального дослідження на 60-й день після осіменіння.

На другому етапі експерименти проводили у СТЗОВ «Городище» Луцького району Волинської області. Об'єктом дослідження були корови української чорно-рябої молочної породи. Для досліду було сформовано чотири групи: дві контрольні і дві дослідні по 6 голів у кожній.

Гормональну індукцію множинної овуляції проводили, використовуючи препарат ФСГ «Фолікотропін» (Чехія) коровам 1-ої контрольної і 1-ої дослідної груп за традиційною 4-денною схемою [8].

Коровам-донорам 2-ої контрольної і 2-ої дослідної груп індукцію суперовуляції проводили дворазовим введенням фолікотропіну з використанням ліпосомальної емульсії, у склад якої входили: тривіт — 4 мл, лецитин — 1 мл, твін — 0,2 мл (табл. 1).

Таблиця 1

Схема індукції множинної овуляції у корів-донорів

Показники	Групи тварин			
	1 контрольна	1 дослідна	2 контрольна	2 дослідна
Спосіб викликання множинної овуляції	400 ІО за вищевказаною схемою		200 ІО на 8-й день та 200 ІО на 10-й день	
Штучне осіменіння	—	Введення комплексу БАР із спермою	—	Введення комплексу БАР із спермою

Нехірургічне вимивання ембріонів проводили, застосовуючи катетери Minitüb (Німеччина) згідно з методикою, описаною у Довіднику з репродуктивної біотехнології [8]. Ембріони були використані у дослідженнях з кріоконсервації і трансплантації реципієнтам.

Отримані цифрові дані опрацьовували статистично за допомогою програми Microsoft Office Excel.

Результати та обговорення. У результаті проведених досліджень встановлено, що введення комплексу БАР у статеві шляхи корів разом із спермою бугаїв під час осіменіння підвищило відсоток запліднення корів дослідної групи на 11,8 %. Із 65-ти корів дослідної групи після першого осіменіння стали тільними 35 тварин (табл. 2).

Кількість позитивних осіменінь підвищилась на 11,1 %, при цьому індекс осіменіння зменшився з 1,8 до 1,5, тобто на 17,0 %. Кількість спермодоз на одне плідне осіменіння зменшилась на 21,8 %.

Біохімічними дослідженнями крові проведеними у динаміці встановлено певні розбіжності між групами корів. На третій день статевого циклу у крові корів дослідної групи спостерігався вищий рівень каротину на 6,7 %, холестерину — на 15,5 % та імуноглобулінів — на 22,2 %, ніж у тварин контрольної групи. Проте різниця була в межах похибки.

Водночас, дослідженнями концентрації стероїдних гормонів встановлено, що у корів дослідної групи рівень прогестерону в крові вищий на 36,5 %, а естрадіолу — на 14,9 % нижчий порівняно з контрольними тваринами.

Таблиця 2

Характеристика відтворювальної здатності корів

Досліджувані показники	Групи тварин	
	контрольна	дослідна
Кількість корів	50	65
З них запліднилося після першого осіменіння, гол / %	21–42,0	35–53,8
Всього осіменених	36–72,0	54–83,1
Індекс осіменіння	1,8±0,9	1,5±0,28
Використано спермодоз на одне	3,2	2,5

плідне осіменіння		
-------------------	--	--

Це може вказувати на те, що під впливом біологічно активних речовин, введених із спермою в матку корови, синхронізується овуляція і зростає синтез прогестерону яєчниками.

На сьомий день статевого циклу відмінності між біохімічними показниками крові корів дослідної і контрольної груп були більш вираженими. Так, у крові корів дослідної групи вміст γ -глобулінів був на 9,8 %, а імуноглобулінів — на 19,1 % ($p < 0,05$) більший порівняно з тваринами контрольної групи, що свідчить про підвищення імунного статусу тварин під впливом БАР (табл. 3).

Таблиця 3

Біохімічні показники крові на 7-й день статевого циклу

Показники	Одиниці виміру	Групи тварин	
		контрольна	дослідна
Загальний білок	г/л	74,9±2,8	78,5±4,4
Альбуміни	%	52,6±1,9	51,0±2,2
Глобуліни: альфа- 1	%	5,8±0,45	5,5±0,36
альфа- 2	%	10,1±0,66	10,4±0,92
бета	%	13,2±0,92	13,0±1,23
гама	%	18,3±1,06	20,1±1,68
Сума цукрів	%	9,0±0,25	10,1±0,28
Гемоглобін	г/л	10,01±0,41	10,8±0,46
Еритроцити	Т/л	5,34±0,16	5,82±0,36
Лейкоцити	Г/л	5,72±0,53	6,78±1,57
Вільні SH-групи	мкг-мл	8,7±0,39	10,23±0,68*
АлАТ	мкмоль-мл	1,23±0,07	1,27±0,12
АсАТ	мкмоль-мл	3,82±0,10	3,92±0,23
Каротин	Мкг%	372,8±32,3	418,3±33,2*
Загальний холестерин	мг%	149,8±4,5	178,6±8,2*
Імуноглобуліни	мл	0,94±0,05	1,12±0,06*
Прогестерон	нмоль/л	8,36±0,92	10,02±0,84
Естрадіол	пмоль/л	35,87±3,23	28,36±3,12

Примітка: * — $p < 0,05$ — вірогідна різниця між дослідною і контрольною групами

Суттєву різницю встановлено і за іншими біохімічними показниками крові. Зокрема, вміст каротину і загального холестерину у крові корів дослідної групи був відповідно на 12,2 % і 19,2 % ($p < 0,05$) більший, ніж у контрольних тварин. Аналогічно сума цукрів і вміст вільних сульфгідрильних груп у крові дослідних корів були більшими відповідно на 12,2 % та 17,6 % ($p < 0,05$) порівняно з контрольними тваринами.

Концентрація прогестерону у крові дослідних корів була вищою на 19,9 %, а естрадіолу — на 20,1 % нижчою порівняно з тваринами контрольної групи, що вказує про вплив БАР, які, всмоктуючись у стінку матки, через систему матка–яєчники синхронізують овуляцію, внаслідок чого формується функціонально активне жовте тіло, здатне продукувати високий рівень прогестерону.

Збільшення вмісту окремих біохімічних показників крові дослідних корів свідчить про посилення метаболічних процесів та позитивні гормональні зміни в їх організмі під впливом БАР, введених коровам із спермою бугаїв-плідників, що в кінцевому результаті підвищує заплідненість. Це спонукало нас до вивчення ембріопродуктивності у корів-донорів під впливом БАР.

У результаті проведених досліджень встановлено, що при майже однаковому рівні полювання у корів усіх досліджуваних груп кількість одержаних ембріонів суттєво відрізнялася у групах тварин. Так, відсоток морфологічно якісних ембріонів, одержаних від корів 1- і 2-ої дослідних груп, вищий відповідно на 9,6 % та 6,9 % порівняно з 1- і 2-ою контрольними групами.

Таблиця 4

Якість ембріонів у корів-донорів

Показники	Групи тварин
-----------	--------------

	1 контрольна	1 дослідна	2 контрольна	2 дослідна
Кількість корів-донорів	6	6	6	6
Прореагувало поліовуляцією, n-%	4-66,7	5-83,3	5-83,3	4-66,7
Рівень поліовуляції, M±m	7,75±0,83	7,20±0,67	7,60±0,78	8,00±0,93
Одержано ембріонів, всього, n	26	33	30	26
У т.ч.: доброякісних, n-%	18-69,2	26-78,8	21-70,0	20-76,9
дегенерованих, n-%	4-15,4	4-12,1	5-16,7	4-15,4
яйцеклітин, n-%	4-15,4	3-9,1	4-13,3	2-7,7
Розподіл відмінних ембріонів, n-%	8-44,4	15-57,7	9-42,8	12-60,0
Одержано ембріонів на донора, всього M±m	6,5±0,50	6,6±0,58	6,0±0,40	6,5±0,50
доброякісних, M±m	4,5±0,50	5,2±0,32	4,2±0,32	5,0±0,50
дегенерованих, M±m	1,0±0,50	0,8±0,24	1,0±0,20	1,0±0,25
яйцеклітин, M±m	1,0±0,50	0,6±0,20	0,8±0,20	0,5±0,15

За майже однакової частки дегенерованих ембріонів у всіх групах тварин у загальній кількості вимитих ембріонів значні розбіжності отримали за відсотком яйцеклітин. У корів обох дослідних груп кількість яйцеклітин майже у 2 рази менша, ніж у контрольних тварин.

Збільшення кількості морфологічно якісних ембріонів з одночасним суттєвим зменшенням незапліднених яйцеклітин у корів дослідних груп, очевидно, пов'язано з дією біологічно активних компонентів, введених трансцервікально із спермою бугаїв. Про це свідчить і відсоток ембріонів відмінної якості від кількості доброякісних одержаних від корів дослідних груп — у 1-й дослідній групі 57,7 %, 2-й дослідній — 60,0 %, що більше відповідно на 13,3 % і 17,2 % порівняно з 1-ою і 2-ою контрольними групами.

Аналізуючи кількість одержаних ембріонів на одного позитивного донора, слід відзначити, що введення комплексу БАР із спермою бугаїв-плідників коровам-донорам з індукованою поліовуляцією як за стандартною методикою, так і з використанням ліпосомальної емульсії суттєво покращує якісні показники ембріопродуктивності. Так, кількість морфологічно якісних ембріонів в 1- і 2-й дослідних групах більша відповідно на 15,5 % і 19,0 %.

Протилежна ситуація спостерігалася за кількістю незапліднених яйцеклітин на донора при майже однаковому рівні дегенерованих ембріонів. Так, кількість яйцеклітин у корів 1- і 2-ої дослідних груп менша відповідно на 40 % і 30 % порівняно з 1- і 2-ою контрольними групами. Це вказує на те, що комплекс БАР, введений із спермою бугаїв, підвищує якість одержаних ембріонів у корів-донорів.

ВИСНОВКИ

1. Додавання комплексу БАР (естрофан, інозин, унітіол, глутатіон, L-цистеїн) до сперми бугаїв при осіменінні корів позитивно впливає на запліднюючу здатність спермій та підвищує показники відтворної здатності тварин (відсоток запліднення від першого осіменіння, кількість позитивних осіменінь, зменшує індекс осіменіння, їх кількість спермодоз на одне осіменіння), що має важливе значення для підвищення ефективності штучного осіменіння корів та телиць.

2. Введення комплексу БАР у статеві шляхи корів із спермою бугаїв підвищило відсоток запліднення від першого осіменіння на 11,8 %, кількість позитивних осіменінь на 11,1 %. Індекс осіменіння при цьому зменшився з 1,8 до 1,5, а кількість спермодоз на одне осіменіння з 3,2 до 2,5.

3. Біохімічними дослідженнями крові на 3-й і 7-й дні статевого циклу встановлено вірогідне зростання вмісту загального холестерину, вільних сульфгідрильних груп, імуноглобулінів та концентрації прогестерону ($p < 0,05$) у дослідних корів.

4. Введення комплексу БАР у статеві шляхи корів-донорів із спермою бугаїв підвищило кількість доброякісних ембріонів на 15,5–19,0 %, у тому числі відмінної якості — на 13,3–17,2 %.

5. Кількість незапліднених яйцеклітин під впливом БАР зменшилася на 30–40 % за однакової кількості дегенерованих ембріонів.

Перспективи подальших досліджень. Одержані результати досліджень вказують на можливість використання комплексу БАР для підвищення ефективності штучного

осіменіння і трансплантації ембріонів, а також необхідність поглиблення експериментів з вивчення механізму дії окремих компонентів на функціональні зміни у статевих органах корів. Результати досліджень можуть бути використані у роботі селекційно-генетичних центрів та господарств різних форм власності.

ОПЛОДОТВОРЯЕМОСТЬ И КАЧЕСТВО ЭМБРИОНОВ У КОРОВ-ДОНОРОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ СО СПЕРМОЙ БЫКОВ

Н. М. Шаран, И. М. Яремчук

А Н Н О Т А Ц И Я

Приведены данные о результатах изучения влияния биологически активных веществ (БАВ), введенных со спермой быков, на оплодотворяемость и эмбриопродукцию у коров-доноров. Установлено, что введение БАВ (эстрофан, инозин, унитиол, глутатион, L-цистеин) со спермой быков повышает процент оплодотворения коров на 11,8 %, увеличивает количество доброкачественных эмбрионов у коров-доноров на 15,5–19,0 % и уменьшает часть неоплодотворенных яйцеклеток на 30–40 %.

INCREASE OF FERTILISATION RATES IN COWS BY BIOLOGICALLY ACTIVE MATTERS WITH BULL SPERM

M. M. Sharan, I. M. Yaremchuk

S U M M A R Y

The results of biologically active matters (BAM) influence entered with sperm of stud bulls on fertilization rates in cows study are shown in this article. It is set, that entering BAM (oestrofan, inosin, unithiol, glutathione, L-cysteine) with bull sperm raises the indexes of animal reproductive function (percent of fertilizations after the first insemination, number of successful inseminations, insemination index, number of sperm doses for one insemination), that has the important value for improvement of efficiency of artificial insemination in cows and heifers.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Шаловило С. Г.* Розробка наукових і практичних методів підвищення ефективності трансплантації ембріонів у племінному скотарстві [Текст] : автореф. дис. ... д-ра с.-г. наук : 22.05.96 / Степан Григорович Шаловило ; [Українські технології]. — Чубинське, 1996.
2. *Foote R. H.* Motility and fertility of bull sperm in whole milk extender containing antioxidants [Text] : / Foote R. H., Brockett C. C., Kaproth M. T. — Anim Reprod Sci. 2002 May 15;71(1-2):13-23 Department of Animal Science, 204 Morrison Hall, Cornell University, Ithaca, NY 14853-4801, USA
3. *Bilodeau J. F.* Thiols prevent H₂O₂-mediated loss of sperm motility in cryopreserved bull semen [Text] : / Bilodeau J. F., Blanchette S., Gagnon C., Sirard M. A. — Theriogenology. 2001 Jul 15;56(2):275-86. Département des Sciences Animales, Université Laval, Quebec, Canada.
4. *Буров В. А.* Наукові аспекти підвищення заплідненості корів. Інститут тваринництва центральних районів [Текст] / В. А. Буров. — Сучасні проблеми тваринництва. — Дніпропетровськ, 2002. — 73 с.
5. *Качура В. С.* Використання пенетраційного тесту в біотехнологічних дослідженнях [Текст] / В. С. Качура., В. В. Служава. — Вісн. с.-г. науки. — 1988. — № 8. — С 50–53.
6. *Лесив М. Н.* Влияние биологически активных веществ на функцию органов размножения [Текст] / М. Н. Лесив, В. Е. Шавкун, А. Г. Скварук. / Научно-технический бюл. УНИИФиБ с. - х. животных. — 1982. — Вып. 3. — С. 65–67.
7. *Шаран М. М.* Біологічні показники деконсервованої сперми бугаїв при інкубації з

окремими біологічно активними речовинами [Текст] / М. М. Шаран, І. М. Яремчик / Наук.-тех.бюл. Інституту біології тварин УААН і ДНКІ ветпрепаратів та кормових добавок. — Львів, 2008. — Вип. 9. — № 3. — С. 231–237.

8. *Буркат В. П.* Довідник з репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби [Текст]: довідник / В. П. Буркат, Р. Й. Кравців, В. В. Влізло і співавт. ; за редакцією С. Г. Шаловила.. — Львів, 2004. —150 с.

Рецензент: доктор біологічних наук, професор І. І. Розгоні, Інститут біології тварин