

Изложены результаты касательно определения биологической ценности рыбного силоса и его использования в кормлении свиней.

Results of biological value determination of a fish silage and its application in pig feeding are presented.

УДК 636.082.453.5

ВИКОРИСТАННЯ НЕТРАДИЦІЙНИХ БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН ДЛЯ СТИМУЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ФОЛІКУЛОГЕНЕЗУ

М.К.Дібіров, В.М.Хмельков
Харківський біотехнологічний центр

Викладено результати досліджень з використання сироватки крові тільних корів для відновлення відтворювальної функції у самиць великої рогатої худоби, з метою премедикації гормональних обробок корів-донорів та індукції поліовуляції.

**стимуляція, фолікулогенез, штучне осіменіння, заплідненість,
суперовуляція, корова-донор, ембріон**

Проблема нейрогуморальної регуляції відтворення сільськогосподарських тварин в останні роки є однією з провідних у тематиці дослідницьких центрів нашої держави та інших країн.

Після опанування та впровадження у практику тваринництва сучасних біотехнологічних засобів, особливо методу трансплантації ембріонів, стало можливим встановити чіткий контроль у механізмі взаємодії та взаєморегуляції гіпоталамо-гіпофізарної та статеві системи. Внаслідок цього зараз є можливість реального керування процесом розмноження в різних напрямках: підвищувати плодючість; керувати процесом отелень; профілакувати безпліддя [1].

Зміну умов утримання тварин та інші техногенні фактори, що можуть, певною мірою, викликати порушення обміну речовин, негативно позначаються на нейроендокринній регуляції організму самиць. Це, в свою чергу, сприяє виникненню дисфункції між гіпоталамо-гіпофізарною системою та статевими органами з одночасним зниженням репродуктивної функції [2].

З метою профілактики безпліддя та регуляції відтворювальної функції великої рогатої худоби фахівці почали застосовувати гормональні препарати як ефективні стимулюючі засоби. Їх дія спрямована на відновлення функції яєчників при порушеннях статевих циклів (атрофія та гіпофункція яєчників, фолікулярна й лютеїнова кісти, наявність персистентного жовтого тіла, ановуляторний статевий цикл). Але в деяких випадках застосування гормональних препаратів не дає очікуваних результатів. Причиною низької ефективності стимуляції й лікування тварин з функціональними порушеннями в яєчниках може бути:

- *по-перше*, відсутність чіткого уявлення про патогенез функціональних порушень системи відтворення та впливу того чи іншого гормонального препарату на генеративну та гормональну функції статевих залоз;

- *по-друге*, ті гормональні препарати, що використовуються для регуляції й стимуляції незалежно від дози й серії та стану статевих функцій, стимулюють не тільки морфогенну та секреторну реакцію поєднувальнотканинних елементів і ріст фолікулів у яєчниках, але й справляють аналогічний вплив на пластичні та секреторні процеси в інших органах (наприклад, щитовидну залозу та матку).

Тому тільки диференційоване застосування коровам та телицям гонадотропних і прогестагенних гормонів зможе забезпечити регуляцію та стимуляцію функцій репродуктивних органів, сприяти прояву повноцінних статевих циклів і високому рівню заплідненості.

Як відомо, індукція поліовуляції у корів-донорів відбувається шляхом використання гормональних препаратів. Для цього застосовують препарати, що мають фолікулостимулюючу дію в поєднанні з іншими біологічно-активними речовинами природного та синтетичного походження: сироватка крові жеребних кобил (СЖК), гонадотропін сироватки жеребних кобил (ГСЖК), фолікулостимулюючий гормон (ФСГ) та інші [3]. Але їх застосування на практиці є проблематичним через високі ціни. У зв'язку з цим є актуальним питання про пошук інших біологічно-активних речовин, що мають гонадотропну дію і, водночас, низьку вартість. Ця проблема може бути вирішена, на наш погляд, шляхом використання сироватки крові тільних корів (СТК), але за умови, що цей препарат містить у собі достатню кількість біологічно-активних речовин. У першу чергу необхідно визначити біологічну активність СТК. За деякими даними її гонадотропна активність досягає рівня 140 мишачих одиниць (МО) в 1 мл, в той час, як деякі серії нативної СЖК мають активність 200-220 МО/мл. Слід зазначити, що максимальний прояв біологічної активності СЖК зареєстровано в строк 60-110 днів вагітності, а СТК - в період 4-5-місячної тільності [4, 5].

На основі аналізу наукових даних можна припустити, що при екзогенному введенні в організм самиць СТК можна стимулювати фолікулогенез.

Метою досліджень було розробити засіб використання СТК для стимуляції фолікулогенезу при функціональних порушеннях в яєчниках та для премедикації корів-донорів при індукції суперовуляції..

Методика досліджень. Сироватку крові отримували від корів зі строком тільності 4-5 місяців. Кров одержували з дотриманням вимог асептики згідно з загальноприйнятою методикою. Виготовлену з крові сироватку розфасовували в скляні флакони об'ємом 30-60 мл й зберігали при температурі -12 – -18⁰С або консервували 0,5% розчином карболової кислоти з подальшим збереженням при 4⁰С. Біологічну активність СТК визначали за методикою М.М.Завадовського [4]. Для цього брали дві групи білих мишей по 5 голів в кожній з масою 9-10г, віком 21-27 днів. Першій групі тварин вводили СТК у розрідженнях від 1:1 до 1:5; контрольній – ін'єкували сироватку нетільних корів.

З метою відпрацювання методики використання СТК для стимуляції фолікулогенезу було відібрано 71 корова з різними функціональними порушеннями в яєчниках: персистентне жовте тіло, гіпофункція, кіста, ановуляторний цикл. Усі тварини були поділені на дві групи: дослідну з 35 корів та контрольну з 36 корів. Дослідним тваринам СТК вводили підшкірно у об'ємі 30 мл (актив-

ність препарату після тестування відповідала 100 МО/мл). Після ін'єкції у корів виявляли за клінічними ознаками статеву охоту й осіменяли ректоцервікальним засобом. Наявність тільності визначали по відсутності чергової статевої охоти та ректальним обстеженням через 2,5-3 місяці після осіменіння. Контрольним тваринам сироватку не вводили.

З метою використання СТК для премедикації корів-донорів було відібрано 6 дослідних та 6 контрольних тварин. Коровам дослідної групи сироватку вводили на другий день після зафіксованого статевого циклу підшкірно в дозі 30 мл, що відповідало 3000 МО. Потім з 11-го дня циклу всі тварини як дослідної, так і контрольної груп підлягали обробці на суперовуляцію шляхом використання препарату ФСГ-супер (Росія) за 4-денною схемою в загальній дозі 50мг. Далі, на 7-8 день після штучного осіменіння, проводили вилучення ембріонів вилучали нехірургічним методом.

Для індукції поліовуляції СТК була випробувана на чотирьох коровах-донорах з відповідним контролем. Дослідній групі тварин на 11-й день статевого циклу ін'єкували підшкірно 80 мл сироватки (активність препарату становила 80 МО/мл), через 48 годин вводили внутрішньом'язово 500 мкг естрофану. Штучне осіменіння здійснювали тричі, з інтервалом в 12 годин. Контрольним тваринам замість СТК було введено фабричний гонадотропний препарат "Фолігон" в дозі 2,5 тис. Ю. Вилучення ембріонів здійснювали згідно з вимогами інструкції по трансплантації ембріонів великої рогатої худоби.

Ефективність використання сироватки тільних корів як у випадках премедикації, так і з метою індукції поліовуляції визначали по рівню суперовуляційного відгуку (кількість жовтих тіл в яєчниках донорів) та наявності повноцінних ембріонів.

Результати досліджень. У результаті проведених дослідів встановлено, що СТК має гонадотропну дію, її біологічна активність знаходилась на рівні 80-100 МО/мл (табл.1).

Встановлено, що сироватка тільних корів має гонадотропну активність, в той час коли сироватка не-тільних корів такої дії не має. У подальших дослідженнях використовували СТК з активністю не нижче 80 МО/мл.

При екзогенному введенні в організм тварин, що мають морфофункціональні порушення в яєчниках, СТК стимулювала процес фолікулогенезу, особливо за наявності гіпофункції та персистентного жовтого тіла (табл.2).

Результати досліджень свідчать, що після ін'єкції СТК в стан статевої охоти прийшло 82,9% тварин дослідної групи, в той час як у контролі цей показник становив 16,7% ($p < 0,001$). Заплідненість у дослідній групі тварин досягла 79,6%, тоді як в контрольній групі жодна тварина не запліднилась. Час проя-

1. Біологічна активність сироватки крові тільних корів

Група тварин	Розрідження сироватки	Вага матки миші, мг	Оцінка реакції
Дослідна	1:1	67,0±15,13	позитивна
	1:2	52,4±6,29	позитивна
	1:3	44,0±3,4	позитивна
	1:4	33,2±3,43	100 МО/мл
	1:5	26,1±4,14	негативна
Контрольна	-	16,2±1,68	негативна

ву феноменів статевої охоти в дослідній групі тварин був у межах 3-11 днів після ін'єкції СТК і залежав від характеру порушень в яєчниках.

2. Вплив сироватки крові тільних корів на статеву циклічність та заплідненість при різних морфофункціональних змінах у геніталіях

Функціональні порушення в яєчниках	Кількість тварин, гол		Прийшло в охоту, гол (%)		Запліднилось, гол (%)	
Персистентне жовте тіло	Д [*]	6	5	83,3±15,23	4	80±16,33
	К ^{**}	7	-	-	-	-
Ановуляторний цикл	Д	10	9	90,0±9,49	8	87,8±10,35
	К	8	2	25,0±15,3	-	-
Гіпофункція яєчників	Д	12	10	83,3±10,77	8	80±11,55
	К	12	-	-	-	-
Фолікулярна кіста	Д	7	5	71,4±17,08	3	60±18,52
	К	9	4	44,4±16,56	-	-
Всього по групах	Д	35	29	82,9±6,36	23	79,6±6,81
	К	36	6	16,7±6,22	-	-

Примітка: Д - дослід, К - контроль.

Статева охота в дослідній групі тварин з діагнозом “гіпофункція” та “персистентне жовте тіло” спостерігалась у 83,3% корів, з них стали тільними після штучного осіменіння – 80%. У той же час, у контрольних групах тварин з відповідними порушеннями відтворювальної функції не було виявлено жодного випадку приходу в стан статевої охоти.

Про ефективність застосування сироватки тільних корів свідчать результати, що були одержані при обробці тварин СТК з діагнозом “*фолікулярна кіста*” та “*ановуляторний статевий цикл*”. У вказаних групах стан статевої охоти було зареєстровано у 71,4 і 90,0% тварин, а рівень заплідненості відповідно становив 60,0 та 87,8%. Особливо треба відзначити інтенсивність процесу відновлення функції яєчників у корів з ановуляторним циклом, де зафіксовано вірогідну різницю ($p<0,001$).

Відомо, що в регуляції ендокринного механізму статевого циклу тварин визначну роль відіграють біологічно-активні речовини стероїдного і нестероїдного походження. Фізіологічно необґрунтована премедикація біологічно-активними речовинами при індукції суперовуляції дає негативні результати. Виходячи з цього принципу, нами була використана СТК для премедикації корів-донорів ембріонів як сенсibilізаторний метод стимуляції фолікулогенезу перед індукцією поліовуляції.

У результаті проведених досліджень з використання сироватки тільних корів з метою премедикації гормональних обробок корів-донорів у дослідній групі тварин спостерігалось збільшення кількості отриманих повноцінних ембріонів у порівнянні з контрольною групою – 3,5 проти 1,67 (різниця вірогідна, $p<0,05$) (табл.3).

3. Вплив премедикації гормональної обробки сироваткою тільних корів на суперовуляційну відповідь донорів ембріонів

(у середньому на донора)

(n=6)

Групи тварин	Реакція суперовуляції, ж.т.	Кількість ембріонів та яйцеклітин, шт.			
		Всього	в тому числі		
			повноцінних	дегенерованих	яйцеклітин
Дослідна	7,17±0,75	5,83±0,7	3,5±0,62	1,83±0,87	0,33±0,21
Контрольна	3,83±0,65	3,0±1,03	1,67±0,71	0,66±0,33	1,0±0,82

Встановлено (див.табл.3), що в середньому на донора кількість жовтих тіл в яєчниках тварин дослідної групи становила 7,17, а в контролі – 3,83 ($p<0,01$); загальна кількість отриманих ембріонів становила 5,83 у досліді проти 3,0 у контролі ($p<0,05$). Частка дегенерованих ембріонів та яйцеклітин при застосуванні сироватки тільних корів була нижчою, ніж у випадку обробки корів-донорів за стандартною схемою – 37,0% проти 55,3%.

З урахуванням отриманих даних з премедикації корів-донорів напередодні проведення загальноприйнятої гормональної обробки, були проведені наступні дослідження з використання СТК для викликання суперовуляції.

Після екзогенного введення коровам-донорам сироватки тільних корів з метою індукції суперовуляції відмічено, що всі показники були значно вищими в контрольній групі тварин у порівнянні з дослідною групою (табл.4).

4. Використання сироватки тільних корів для індукції суперовуляції (n=4)

Групи тварин	Реакція суперовуляції, ж.т.	Кількість ембріонів та яйцеклітин, шт.			
		всього	в тому числі		
			повноцінних	дегенерованих	яйцеклітин
Дослідна	3,0±0,6	1,0±0,41	0,75±0,25	0,25±0,25	0
Контрольна	18,25±5,85	10,75±3,84	4,75±2,81	2,5±0,65	3,5±1,66

Одержані результати свідчать, що використання СТК для викликання поліовуляції є неефективним у порівнянні з застосуванням стандартизованих гонадотропних препаратів. Так, в окремих випадках, при індукції множиної овуляції сироваткою тільних корів максимальний рівень суперовуляції становив 4 жовтих тіла, в той час як “Фолігон” сприяв формуванню до 31 жовтого тіла. У середньому показники з вилучення ембріонів були набагато вищими у контролі, ніж у досліді: загальний вихід – 10,75; повноцінних – 4,75 проти 1,0 та 0,75, відповідно ($p<0,05$). Однак, частка дегенерованих ембріонів та яйцеклітин у досліді по відношенню до загальної кількості отриманих становила 25%, у той час як у контролі – 55,8%.

На нашу думку, різницю між результатами гормональних обробок дослідної та контрольної груп тварин можна пояснити різним співвідношенням фолікулостимулюючого та лютеїнізуючого гормонів у препаратах, що були використані в дослідженнях. Можна припустити, що сироватка тільних корів має не стільки гонадотропну, скільки гестагенну дію.

Висновки:

1.Застосування сироватки тільних корів при морфофункціональних порушеннях в яєчниках стимулює фолікулогенез, відновлює зв'язки між нейроендокринною системою і статевими органами.

2.СТК можна використовувати для премедикації корів-донорів перед індукцією суперовуляції як сенсibiliзаторний метод, що стимулює фолікулогенез та сприяє підвищенню рівня ембріопродукції.

3.Застосування сироватки тільних корів для індукції суперовуляції корів-донорів значно поступається за ефективністю в порівнянні зі стандартизованими гонадотропними препаратами.

Бібліографічний список

1.Прокофьев М.И. Регуляция размножения сельскохозяйственных животных, - Ленинград: Наука, 1983. – С.126, 163.

2.Справочник по ветеринарному акушерству /Сост. Зверева Г.В, Олескив В.Н, Хомин С.П. и др.– К.: Урожай, 1985.– С. 208-229.

3.Гордон А. Контроль воспроизводства сельскохозяйственных животных. - М.: ВО «Агропромиздат», 1988. - С.87-91.

4. Завадовский М.М. Теория и практика гормонального метода стимуляции многоплодия сельскохозяйственных животных.– М.: Сельхозиздат, 1963. -С.67-69.

5.Тростянецкая М.Н., Сегал Л.С. Определение биологической активности сывороточного гонадотропина на разных стадиях стельности// Труды ХЗВИ . – Том V (XVI). – Харьков: ХЗВИ. – 1970. – С.36.

Изложены результаты исследований по использованию сыворотки крови стельных коров для восстановления воспроизводительной функции у самок крупного рогатого скота, с целью премедикации гормональных обработок коров-доноров и индукции полиовуляции.

Results of the study of pregnant cow blood serum treatment for recovery of female reproduction function to provide hormonal treatment premedication in donor cows and polyovulation induction are presented.