

*THE PLACE OF BIOTECHNOLOGY IN THE EUROPEAN SCIENCE AND THE GLOBAL
ANIMAL BREEDING*

V.D.Gummenny, M.V.Kozlovskaya, V.O.Volivach

The institute of animal science of the central areas UAAS

The biotechnology problems solution are of high priority within the framework of the Sixth program of the European Union concerning the scientific and technological investigations. The rapid genetic progress in the selection of the North American meat breed and Holshtein milk stock is conditioned greatly by the development of this science. The national data base analysis of pedigree sires revealed the dominance of Holshtein, which is the prevailing milk breed in the world. ET Holshtein enjoyed the overwhelming majority.

УДК 636.2.082.4:612.646.591.31

**ВПЛИВ РЕЖИМУ ОСІМЕНІННЯ КОРІВ СПЕРМОЮ З
РІЗНОЮ АКТИВНІСТЮ ОКИСНИХ ФЕРМЕНТІВ НА
ВИХІД ПОВНОЦІННИХ ЕМБРІОНІВ**

В.О. Дудчак *

Інститут біології тварин УААН

У статті наведено дані запліднення яйцеклітин та одержання доброякісних ембріонів від корів-донорів при різних режимах і технології осіменіння з використанням сперми плідників з різною активністю окисних ферментів.

**корова-донор, штучне осіменіння, ембріон, яйцеклітина,
сукцинатдегідрогеназа, цитохромоксидаза**

Кількість та якість ембріонів після суперовуляції багато в чому визначається правильністю осіменіння корів-донорів. Запліднення яйцеклітин у донорів залежить від часу овуляції і штучного осіменіння з урахуванням тривалості овуляції [1].

Щодо режиму осіменіння більшість авторів рекомендують осіменити корів-донорів через 12-16 год. після початку статевої охоти [2, 10].

Немає єдиної думки у дослідників і про місце введення сперми при штучному осіменінні донорів. Так, ряд авторів одержали задовільні результати запліднення яйцеклітин при введенні суперовульованим коровам-донорам сперми в краніальну частину шийки матки [3-4]. Інші рекомендують коровам вводити сперму в тіло матки [5], чи безпосередньо в ріг матки [6].

Важливу роль в заплідненні яйцеклітини відіграє активність окисних ферментів сперми сукцинатдегідрогенази (СДГ) та цитохромоксидази (ЦХО) [7-9].

Виходячи з цього нашою метою було вивчити вплив режимів осіменіння корів-донорів спермою бугаїв з різною активністю СДГ і ЦХО на запліднення яйцеклітини та якісні характеристики ембріонів.

* Науковий керівник - доктор сільськогосподарських наук Шаловило С.Г.

Методика досліджень. Робота виконана на коровах української чорно-рябої молочної породи віком 4-7 років середньої вгодованості у господарстві ТзОВ племзаводу “Правда” Бродівського р-ну Львівської області. Групи тварин відбирали за принципом груп-аналогів, враховуючи зальний стан здоров’я, вгодованість, вік, живу масу, фізіологічний стан.

Для синхронізації статеві охоти у донорів застосовували простагландин F2 α (естрофан) в дозі 500мг, який вводили двічі з інтервалом 11 днів. Індукцію множинної овуляції проводили введенням на 8-10 дні синхронізованості статевого циклу ФСГ (фолікотропін, Чехія).

Дослідних корів розділили на три групи, в яких осіменяли спермою з різним ступенем активності окисних ферментів: **I** група – з високим; **II** група – з середнім; **III** група – з низьким.

Кожну групу тварин розділяли ще на дві - відповідно до експерименту і проводили дослідження, порівнюючи запліднення яйцеклітин та якості ембріонів у корів-донорів залежно від: кратності осіменіння (дворазове і триразове) – **I** дослід (n=40); місця введення сперми (шийка і тіло матки) - **II** дослід (n=48); часу осіменіння (56-та і 72-га год. після ін’єкції простагландину F2 α (естрофан) - **III**-дослід (n=57).

Гормонально оброблених корів-донорів штучно осіменяли цервікальним методом з ректальною фіксацією шийки матки з інтервалом 10-12 год. подвійною дозою сперми (30 млн. активних спермій).

Ембріони вимивали нехірургічним методом на 7-8-у добу після штучного осіменіння, двоходовим катетером німецької фірми “Rusch”, використовуючи для цього фосфатно сольовий буфер Дюльбекко з 0,4 % вмістом бичачого сироваткового альбуміну.

Після вимивання проводили морфологічну оцінку якості одержаних ембріонів. При класифікації ембріонів користувались чотирибальною системою. Однак для зручності при статистичних підрахунках їх ділили на дві групи. До першої відносили ембріони доброякісні, придатні до кріоконсервування та пересадки, до другої – неповноцінні, які за морфологічними ознаками були непридатні до трансплантації і заморожування, сюди включали і незапліднені яйцеклітини.

Результати досліджень. Вивчення впливу режиму осіменіння корів-донорів і місця введення сперми з високою активністю СДГ і ЦХО забезпечило одержання 58 ембріонів, з них доброякісних 43, що на 23,4 % та 38,7% більше, ніж при дворазовому осіменінні відповідно. Запліднення яйцеклітин при триразовому осіменінні становило 93,1%, що на 5,9% більше, ніж при дворазовому (табл.1).

Кількість незапліднених яйцеклітин при триразовому осіменінні була майже вдвоє менша, а кількість ембріонів доброї якості на одного донора на 21,2% більше ніж при дворазовому осіменінні. Кількість яйцеклітин на одного донора при триразовому осіменінні становила $0,50 \pm 0,08$ ($p < 0,01$), що на 58,1% менше, ніж при дворазовому осіменінні.

Приблизно така ж картина спостерігається і при середній, і при низькій активності окисних ферментів сперми.

**1. Запліднення яйцеклітин та якість ембріонів у корів-донорів
залежно від кратності осіменіння спермою з різною активністю СДГ і
ЦХО**

Показники	Висока активність		Середня активність		Низька активність	
	Осіменіння					
	двора- зове	трира- зове	двора- зове	трира- зове	двора- зове	трира- зове
Кількість тварин, гол.	7	8	9	6	6	4
Всього одержано ембріонів	47	58	53	39	33	44
із них: доброякісних, n—%	31-65,9	43-74,1	32-60,4	27-69,2	19-57,6	28-63,6
дегенерованих, n—%	10-21,3	11-19,0	11-20,7	6-15,4	7-21,2	8-18,2
яйцеклітин, n—%	6-12,8	4-6,9	10-18,9	6-15,4	7-21,2	8-18,2
Запліднення яйцеклітин, %	87,2	93,1	81,1	84,6	78,8	81,8
Кількість ембріонів на 1 донора, M±m	6,71 ±0,56	7,25 ±0,62	5,89 ±0,64	6,50 ±0,58	5,50 ±0,52	6,29 ±0,71
Кількість доброякісних ембріонів на 1 донора, M±m	4,43 ±0,41	5,37 ±0,61	3,55 ±0,47	4,50 ±0,62	3,17 ±0,28	4,00 ±0,52
Кількість дегенерованих ембріонів на 1 донора, M±m	1,43 ±0,12	1,37 ±0,11	1,22 ±0,14	1,00 ±0,12	1,17 ±0,15	2,00 ±0,23**
Кількість яйцеклітин на 1 донора, M±m	0,86 ±0,10	0,50 ±0,08**	1,11 ±0,13	1,00 ±0,10	1,17 ±0,19	2,00 ±0,28*

Триразове осіменіння корів-донорів забезпечує в обох випадках вищий рівень запліднення яйцеклітин та кращу якість одержаних ембріонів – більше доброякісних і менше дегенерованих ембріонів та яйцеклітин.

Так, кількість повноцінних ембріонів на одного донора при триразовому осіменінні корів-донорів спермою з середньою активністю СДГ і ЦХО на 26,7%, а з низькою на 26,2% більше ніж при дворазовому осіменінні.

Вихід дегенерованих ембріонів та яйцеклітин у корів-донорів осіменених спермою з низькою активністю окисних ферментів при триразовому осіменінні становив $2,0 \pm 0,23$ ($p < 0,01$) та $2,0 \pm 0,28$ ($p < 0,05$) що на 17,1% більше ніж при дворазовому.

Аналізуючи запліднення яйцеклітин та якість ембріонів при різній кратності осіменіння, слід відмітити, що найвищі показники одержано внаслідок використання сперми з високою активністю СДГ і ЦХО. Так, у цій групі спостерігався найвищий рівень запліднення яйцеклітин 93,1% та кількість доброякісних ембріонів на донора ($5,37 \pm 0,61$). Порівнюючи вказані показники за активністю окисних ферментів сперми, видно, що вихід доброякісних ембріонів при дворазовому осіменінні корів спермою з високою активністю СДГ і ЦХО на 24,8% вищий порівняно з таким від сперми з середньою активністю ферментів ($p < 0,05$), ніж від сперми з низькою активністю. Кількість якісних ембріонів на одного донора при триразовому осіменінні спермою з високою активністю СДГ і ЦХО на 19,3% і 34,2% вища, ніж при середній та низькій активності ферментів відповідно, а кіль-

кість дегенерованих ембріонів на одного донора при триразовому осіменінні спермою з низькою активністю СДГ і ЦХО на 46% більше, ніж аналогічної групи осімененої спермою з високою активністю ферментів. Щодо яйцеклітин, то їх кількість теж була більша на 40% у корів при осіменінні спермою з низькою та високою активністю СДГ і ЦХО.

Отже, найвищий рівень запліднення яйцеклітин та найбільшу кількість доброякісних ембріонів одержано при триразовому осіменінні корів-донорів спермою з високою активністю ферментів СДГ і ЦХО.

Аналіз отриманих даних показав (табл.2), що осіменіння корів-донорів спермою з високою активністю ферментів СДГ і ЦХО у тіло матки забезпечило 90,0% запліднення яйцеклітин, що на 5,4% більше, ніж при введенні сперми в шийку матки.

2. Запліднення яйцеклітин та якість ембріонів у корів-донорів залежно від місця введення сперми з різною активністю СДГ і ЦХО

Показники	Висока активність		Середня активність		Низька активність	
	місце введення сперми в матку					
	шийка	тіло	шийка	тіло	шийка	тіло
Кількість тварин, гол.	8	9	10	8	7	6
Всього одержано ембріонів	52	60	63	53	39	35
із них: доброякісних, n—%	37-71,1	46-76,7	42-66,6	36-67,9	24-61,5	23-65,7
дегенерованих, n—%	7-13,5	8-13,3	10-15,9	9-17,0	6-15,4	5-14,3
яйцеклітин, n—%	8-15,4	6-10,0	11-17,5	8-15,1	9-23,1	7-20,0
Запліднення яйцеклітин, %	84,6	90,0	82,5	84,9	76,9	80,0
Кількість ембріонів на 1 донора, M±m	6,50 ±0,82	6,66 ±0,76	6,30 ±0,73	6,62 ±0,64	5,57 ±0,72	5,83 ±0,65
Кількість доброякісних ембріонів на 1 донора, M±m	4,62 ±0,43	5,11 ±0,48	4,20 ±0,41	4,50 ±0,36	3,43 ±0,35	3,83 ±0,40
Кількість дегенерованих ембріонів на 1 донора, M±m	0,87 ±0,10	0,89 ±0,09	1,00 ±0,13	1,12 ±0,12	0,86 ±0,09	0,83 ±0,08
Кількість яйцеклітин на 1 донора, M±m	1,00 ±0,12	0,67 ±0,07*	1,10 ±0,15	1,00 ±0,11	1,28 ±0,14	1,17 ±0,11

Кількість доброякісних ембріонів на одного донора при цервікальному введенні сперми на 10,6% менша, ніж при осіменінні в тіло матки. Встановлено статистично достовірно нижчий показник ($p<0,05$) кількості яйцеклітин на одного донора осіменених спермою з високою активністю СДГ і ЦХО, введеною в тіло матки у порівнянні з шийкою.

Аналогічну картину спостерігали і при осіменінні корів спермою з середньою і низькою активністю окисних ферментів, однак абсолютні величини досліджуваних показників були нижчі, ніж при використанні сперми з високою активністю СДГ і ЦХО. Кількість доброякісних ембріонів при осіменінні корів-донорів у тіло матки у всіх групах приблизно на 10% вища, ніж при введенні сперми в шийку матки.

Аналізуючи запліднення яйцеклітин та якість ембріонів у корів-донорів залежно від місця введення сперми з різною активністю СДГ і ЦХО,

слід відмітити, що найвищі показники одержано при введенні сперми з високою активністю окисних ферментів, як у шийку, так і у тіло матки.

Кількість доброякісних ембріонів на донора при осіменінні спермою з високою активністю СДГ і ЦХО в шийку матки становила $4,62 \pm 0,43$, що відповідно на 11,0% та 34,7% вище, ніж при використанні сперми з середньою та низькою активністю ферментів. Таку ж закономірність спостерігали і при осіменінні корів у тіло матки. Вихід якісних ембріонів на донора при введенні сперми з високою активністю СДГ і ЦХО в тіло матки становив $5,11 \pm 0,48$, що відповідно 13,5% та 33,4% вище ніж при осіменінні спермою з середньою і низькою активністю ферментів, відповідно.

Таким чином, при осіменінні корів-донорів у тіло матки спермою з високою активністю окисних ферментів одержано найвищий рівень запліднення яйцеклітин (90,0%) та вихід повноцінних ембріонів на донора ($5,11 \pm 0,48$).

Відомо, що час осіменіння корів-донорів відіграє важливу роль в одержанні доброякісних ембріонів. Для проведення наших досліджень ми використовували синтетичний аналог простагландину $F_{2\alpha}$ (естрофан, Чехія).

При осіменінні корів-донорів спермою з високою активністю СДГ і ЦХО через 56 год. після ін'єкції простагландину $F_{2\alpha}$ запліднення яйцеклітин становило 90,1%, що на 8,5% вище, ніж під час введення сперми через 48 год. після ін'єкції естрофану (рис.).

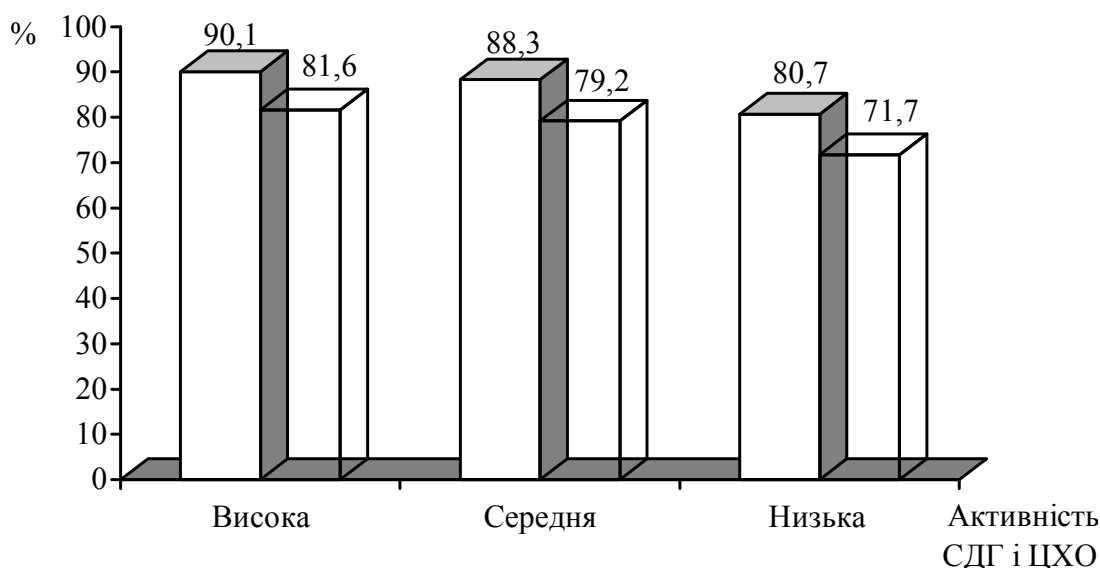


Рис. Запліднення яйцеклітин залежно від часу осіменіння корів спермою з різною активністю окисних ферментів

□ Осіменіння після ін'єкції простагландину $F_{2\alpha}$ через 56 год
 □ Осіменіння - 48 год

Кількість доброякісних ембріонів на одного донора була статистично достовірно вищою ($p < 0,05$) і становила $5,36 \pm 0,29$, що на 24,6% вище у порівнянні з введенням естрофану через 48 год. (табл.3).

3. Запліднення яйцеклітин та якість ембріонів у корів-донорів залежно від режиму осіменіння спермою з різною активністю СДГ і ЦХО

Показники	Висока активність		Середня активність		Низька активність	
	режим осіменіння, год після ін'єкції простагландину F ₂ альфа					
	56	48	56	48	56	48
Кількість тварин, гол.	11	10	10	9	9	8
Всього одержано ембріонів	71	67	60	53	52	46
Із них: доброякісних, n—%	59-83,1	43-64,2	46-76,7	34-64,1	32-61,5	26-56,5
дегенерованих, n—%	5-7,0	11-16,4	7-11,6	8-15,1	10-19,2	7-15,2
яйцеклітин, n—%	7-9,9	13-19,4	7-11,7	11-20,8	10-19,2	13-28,3
Кількість ембріонів на 1 донора, M±m	6,45 ±0,88	6,70 ±0,56	6,00 ±0,76	5,89 ±0,75	5,78 ±0,66	5,75 ±0,54
Кількість доброякісних ембріонів на 1 донора, M±m	5,36 ±0,29	4,30 ±0,41*	4,60 ±0,48	3,78 ±0,44	3,55 ±0,32	3,25 ±0,26
Кількість дегенерованих ембріонів на 1 донора, M±m	0,45 ±0,09	1,10 ±0,15 ***	0,70 ±0,08	0,89 ±0,10	1,11 ±0,10	0,87 ±0,09
Кількість яйцеклітин на 1 донора, M±m	0,64 ±0,12	1,30 ±0,22**	0,70 ±0,11	1,22 ±0,19*	1,11 ±0,09	1,62 ±0,20

А у корів, осіменених спермою з високою активністю СДГ і ЦХО через 48 год. після ін'єкції простагландину F_{2α} спостерігалось збільшення дегенерованих ембріонів на 24,4% (p<0,001) та кількість яйцеклітин – на 20,3 (p<0,01).

Аналогічні результати були і в корів-донорів осіменених спермою з середньою та низькою активністю ферментів СДГ і ЦХО через 48 год. після ін'єкції простагландину F_{2α} кількість яйцеклітин збільшилась на 74,3% (p<0,05) та 45,9% (p<0,05) відповідно.

Приблизно така ж закономірність спостерігалась і щодо запліднення яйцеклітин при осіменінні корів спермою з середньою і низькою активністю СДГ і ЦХО через 56 год. після ін'єкції простагландину F_{2α} відповідно на 9,1% та 9,0 вище, ніж при введенні сперми через 48 год. після ін'єкції естрофану.

Кількість доброякісних ембріонів відповідно по групах з середньою і низькою активністю окисних ферментів сперми була вищою при осіменінні корів-донорів через 56 год. після ін'єкції простагландину F_{2α} відповідно на 21,7% та 9,2% порівняно з осіменінням через 48 год. після введення естрофану. Крім того, осіменіння корів-донорів через 56 год. Після ін'єкції простагландину F_{2α} у всіх групах тварин спричинило зростання кількості яйцеклітин та дегенерованих ембріонів у 1,5 –2 рази.

Аналізуючи вихід доброякісних ембріонів слід відмітити, що найбільшу кількість їх одержано при осіменінні спермою з високою активністю СДГ і ЦХО через 56 год. після введення естрофану ($5,36 \pm 0,56$), що відповідно на 16,5% і 50,9% більше, ніж при використанні сперми з середньою і низькою активністю ферментів. Осіменіння корів-донорів спермою з високою активністю СДГ і ЦХО через 48 год. після ін'єкції естрофану забезпечило одержання $4,30 \pm 0,52$ доброякісних ембріонів на донора, що відповідно на 13,7 - 32,3 та статистично достовірно вище ($p < 0,05$), ніж при використанні сперми з середньою і низькою активністю ферментів.

Отже, найвищий рівень запліднення (90,1%) і вихід доброякісних ембріонів на одного донора ($5,36 \pm 0,56$) одержано при осіменінні корів-донорів спермою з високою активністю СДГ і ЦХО через 56 год. після ін'єкції простагландину $F_{2\alpha}$.

Висновки:

1. Високий рівень запліднення яйцеклітин (до 93,1%) та кількість доброякісних ембріонів ($5,37 \pm 0,61$) одержано в наслідок триразового осіменіння корів-донорів спермою бугаїв з високою активністю СДГ і ЦХО.

2. При осіменінні корів спермою з високою активністю окисних ферментів у тіло матки через 56 год. після ін'єкції простагландину $F_{2\alpha}$ запліднення яйцеклітин становить 90,0%, а вихід доброякісних ембріонів на донора – $5,11 \pm 0,48$.

Бібліографічний список

1. Мингазов Т.А., Бабышева Л.В. Оплодотворяемость коров при использовании гормональных препаратов // Зоотехния.-1994.-№5.-С.29-30.
2. Peter W., Jenichen W. Brunsbeobachtung, Brunskontrolle sowie optimaler dessemungszeitpunkt – voraussetzungen furhehe befruchtungsergebnisse in der kunstlichen basamung bein ring /KBB// Tierzucht., - 1983.-J.37-№17. – s.449-453.
3. Осташко Ф.И., Исаченко В.В. Миграция сперматозоидов в половых путях суперовулированных самок// Весник с.- х. науки.- 1986. -№10. – С.53-54.
4. Песочкий В.В., Исаченко В.В. К вопросу о месте введения спермы в половой тракт при осеменении суперовулированных коров и телок //Разведение и искусственное осеменение крупного рогатого скота.. – 1988.- №20.- С.56-57.
5. Шеховцов С.Ю. Искусственное осеменение коров доноров ембрионов //Состояние и перспективы развития биотехнологии в животноводстве.-1988.- С.110-111.
6. Senger P.L., Becker W.C., Davidge S.T. et al. Influence of cornual insemination on dairy cattle //J.Anim. Sc.-1988.-V.66.-№11.-p3010-3016.
7. Зверева Г.В., Чухрий Б.М., Клевец Л.А. Активность окислительно восстановительных ферментов в сперме быков // Доклады ВАСХНИЛ.- 1977.-№7.- С.19-21.
8. Чухрий Б.М., Клевец Л.О., Остапів Д.Д. Колориметричний спосіб визначення активності сукцинатдегідрогеназу в спермі бугаїв //Вісник аграрної науки.- 1995.-№1.-С.73-75.
9. Чухрий Б.М., Клевец Л.О. До методики визначення активності окислювальних ферментів у спермі бугаїв.// Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби.-1978.-Вип.10-С.42-45.

10.Шаловило С.Г., Шаран М.М., Пасіцький М.Д. Запліднення яйцеклітин у корів-донорів залежно від часу осіменіння їх і кількості сперміїв //Розведення і генетика тварин. - 1999.- №30.- С.113-116.

ВЛИЯНИЕ ИСККУСТВЕННОГО ОСЕМЕНЕНИЯ КОРОВ СПЕРМОЙ С РАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ НА ВЫХОД ПОЛНОЦЕННЫХ ЭМБРИОНОВ

В.О.Дудчак

Институт биологии животных УААН

В статье представлено данные оплодотворения яйцеклеток и выход качественных эмбрионов от коров-доноров при разных режимах и технологии осеменения с использованием спермы быков с разной активностью окислительных ферментов

INFLUENCE OF COW INSEMINATION BY SPERMS WITH DIFFERENT ACTIVITY OF OXYGEN ENZYMES ON OUTLET OF EMBRYOS OF FULL VALUE

V. Dudchak

Institute of animals biology UAAS

The article gives data of ovule conception and obtaining good embryos from donors cows at various regimes and insemination technology using sperms of sires with various activity of oxidative enzymes.

УДК 636.082:575

ІМУНОГЕНЕТИЧНИЙ МОНІТОРИНГ ПРИ ФОРМУВАННІ ГЕНОФОНДУ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

М.Я.Єфіменко, Б.Є.Подоба, О.Д.Бірюкова

Інститут розведення і генетики тварин УААН

Подано нові підходи до використання імуногенетичних маркерів для добору тварин бажаного типу і спрямованої структуризації породи. У плідників української чорно-рябої молочної породи встановлено залежність оцінки препотентності від успадкування дочками алелів системи В груп крові.

велика рогата худоба, препотентність, імуногенетичні маркери, генотип

Сучасна племінна база української чорно-рябої молочної породи характеризується високим генетичним потенціалом у провідних господарствах завдяки широкому використанню кращого світового генетичного матеріалу. Подальша робота з породою спрямовується на її консолідацію з відтворенням високопродуктивних, добре пристосованих до місцевих умов генотипів [4], що вирішується шляхом побудови ефективної системи племінної роботи. Істотними елементами цієї системи є інформаційне забезпечення і селекційно-генетичний моніторинг, в основу якого покладено визначення племінної цінності тварин з залученням генетичних тестів [11].