УДК 636. 2. 082. 4-089.843

ФІЗІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ КРОВІ ТА ЦЕРВІКАЛЬНОГО СЛИЗУ У КОРІВ ПРИ СПОНТАННІЙ ТА ІНДУКОВАНІЙ СТАТЕВІЙ ОХОТІ

Рецензенти: канд. с.-г.наук Сушко О.Б.; канд. с.-г.наук Гончаренко Л.В.

Г.С.Тихона, В.М.Хмельков
Інститут тваринництва НААНУ

У статті викладено результати взаємозв'язку гормональних змін в організмі корів під час спонтанної та індукованої охоти. Встановлено, що під впливом нейрогуморальних факторів відбуваються послідовні фізико-хімічні та цитологічні зміни у цервікальному слизу. Показано, що за допомогою аналізу цитологічного складу та феномену кристалоутворення в мазках цервікального слизу можна визначити стадію статевого циклу та придатність корів до проведення біотехнологічних робіт.

Ключові слова: **корова, фолікулогенез, суперовуляція, цервікальний слиз, кристалоутворення, цитологія, стероїдні гормони.**

На сьогодні в багатьох країнах спостерігається тенденція до інтенсивного ведення молочного скотарства. Використання високопродуктивної тварини навіть протягом трьох лактацій економічно вигідніше, ніж довготривале утримання низькопродуктивної худоби [1]. Розведення високопродуктивної молочної худоби традиційними методами - довготривалий селекційний процес, який можна прискорити у 6-7 разів методом трансплантації ембріонів при використанні як донорів корів із високим генетичним потенціалом. Гонадотропна стимуляція і техніка вилучення зародків у корів дає змогу довести отримання повноцінних ембріонів на 1 донора до 50-70 штук за рік [2-4].

Подальший розвиток науково-технічних робіт у галузі відтворення тварин неможливий без удосконалення біотехнологій. При цьому слід ураховувати і негативний досвід зниження ефективності робіт на етапі впровадження розробок у виробництво. За останні десять років практично зведено нанівець технологію отримання і трансплантації ембріонів великої рогатої худоби, яка була широко апробована і доведена науковцями до рівня практичного застосування в умовах підприємств із племінної справи і племзаводів [5-6]. І це в той час, коли в розвинених країнах на племпідприємствах використовується 80 % бугаїв-трансплантатів, а метод ембріотрансферу став звичним технологічним прийомом [7]. Невід'ємною частиною технології трансплантації ембріонів у корів є викликання множинної овуляції біологічно активними речовинами. Під час гормональної стимуляції в організмі самиць відбувається підвищення біосинтетичних процесів в організмі самиць [8].

Зусилля багатьох дослідників спрямовані на з'ясування впливу фізико-хімічних, біохімічних, біологічних та імунологічних властивостей і цитологічного складу виділень із матки під час стадії збудження статевого циклу на результативність осіменіння корів. Також проводиться вивчення з морфологічного стану вагінального слизу в корів післяпологового періоду з метою діагностики прихованих форм ендометритів [9-11]. Встановлено, що за цитологічним складом та феноменом кристалоутворення в мазках цервікального слизу можна визначити стадію статевого циклу [12]. Вивчення фізіологічних процесів, які відбуваються в організмі та в репродуктивних органах корів під дією

біологічно активних речовин та сприяють збільшенню рівня суперовуляції, а у подальшому - розвитку повноцінних ембріонів є актуальним.

Метою досліджень було встановлення взаємозв'язку цитологічних і фізико-хімічних властивостей цервікального слизу з гормональними та біохімічними показниками крові при овуляції та суперовуляції у корів-донорів.

Матеріали і методи досліджень. У дослідах були використані корови чорно-рябої молочної породи з продуктивністю не нижче 6000 кг ДП ДГ «Кутузівка» ІТ НААНУ. Відбір проб крові проводили у самиць під час спонтанної та індукованої охоти. У сироватці крові за допомогою імуноферментної тест-системи визначали концентрацію стероїдного гормону (прогестерону).

Протягом статевого циклу проводили відбір проб цервікального слизу корів. Для вивчення його властивостей робили два тонких мазки. Для цього на чисте знежирене предметне скло наносили краплю слизу і краєм шліфованого предметного скла робили мазки, які після висихання при кімнатній температурі (18-20 °С) переглядали під мікроскопом при збільшенні у 100 разів для вивчення форм кристалів, у другому мазку після фарбування за Романовським-Гімза визначали клітинний склад.

У цей же час проводили вивчення біохімічного складу крові та слизу за загальноприйнятою методикою у лабораторії якості кормів і продуктів тваринного походження. Індукцію суперовуляції проводили за загальноприйнятою схемою з використанням ГСЖК «Фолігон». Реакцію суперовуляції визначали ректальним методом за кількістю жовтих тіл в яєчниках на 6-7-му добу після гормонального оброблення.

Результати досліджень. Проведені дослідження з вивчення цитологічного складу та фізико-хімічних показників цервікального слизу корів протягом статевого циклу.

Найбільш важливими морфологічними елементами цервікального слизу є епітеліальні клітини, на підставі яких базуються гормональні, цитологічні та функціональні характеристики стану тварини. Вивчення фарбованих мазків цервікального слизу показало наявність різних за розмірами та формою епітеліальних клітин (ЕК): молоді - парабазальні, проміжні; старі - поверхневі та «лусочки», які розташовуються поодинці або скупченнями. Залежно від ступеня зрілості епітеліальних клітин їх цитоплазма фарбується базофільно або еозинофільно. Молоді епітеліальні клітини фарбуються базофільно, старі - еозинофільно. Дані за формою та розмірами ЕК наведені у табл. 1.

1. Форми та розміри епітеліальних клітин у мазках цервікального слизу корів протягом статевого циклу

Епітеліальні клітини	Форма	Розмір клітини за діаметром, мкм	Розмір ядра, мкм
Парабазальні	Округла або овальна	20,0-30,0	7,5-12,5
Проміжні	Овальна	30,0-70,0	2,6-7,5
Поверхневі	Овальна або полігональна	70,0-85,0	до 2,0
Лусочки	Полігональна	70,0-85,0	-

Як свідчать отримані дані (див. табл. 1) молоді парабазальні ЕК округлої або овальної форми, дрібні за розмірами, але з крупним ядром. У міру старіння розмір ЕК збільшується, при цьому розмір ядра зменшується. Проміжні ЕК - овальної форми, крупнійших розмірів з меншим ядром, ніж парабазальні.

Поверхневі ЕК – великі клітини, полігональної форми з дрібними, пікнотичними або везикулярними ядрами.

Встановлено, що клітинний склад цервікального слизу змінюється протягом статевого циклу залежно від кількості статевих гормонів, які контролюються гіпоталамо-гіпофізарним зв'язком. Так, під час спонтанної статевої охоти у корів, коли відбувається швидкий ріст фолікулів, особливо домінуючого, збільшується кількість фолікулостимулюючого гормону, який у свою чергу збільшує рівень естрогенів, що підсилюють секрецію маткових залоз. В наслідок цього спостерігається накопичення слизу в статевих шляхах самиці.

Результати мікроскопічних досліджень фарбованих мазків показали, що у 100 % дослідних тварин під час тічки та охоти у цитологічному складі цервікального слизу трапляються одиночні проміжні та поверхневі ЕК, близько до овуляції в мазку перебільшує кількість без'ядерних епітеліальних клітин - майже 80 % (рис. 1).

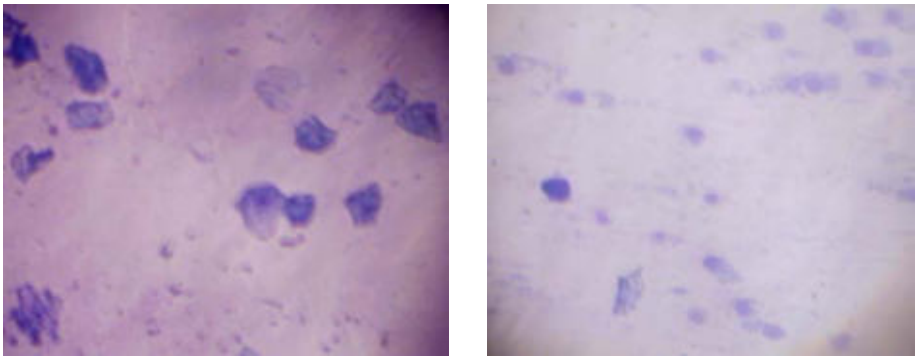


Рис. 1. Цервікальний слиз із перевищеною кількістю без'ядерних епітеліальних клітин.

У цервікальному слизу під час тічки та охоти утворюються кристали у вигляді папороті, які видно при висиханні нефарбованого мазка. Кристалоутворення є результатом біофізичних та біохімічних змін у цервікальному слизу. Секреторна діяльність цервікального епітелію в період тічки та охоти у самиць контролюється в основному естрогенами. Найбільш сильна дія естрогенів починається за 2-3 доби до овуляції та досягає максимуму до моменту передбачуваної овуляції, що спричинює збільшення кількості цервікального слизу з підвищенням концентрації солей, перш за все хлориду натрію, який відповідає за феномен кристалізації.

За наявності в яєчнику зрілого фолікула у 100 % дослідних корів у мазках цервікального слизу відмічено кристалоутворення у вигляді листів папороті, які різнилися за розмірами (рис. 2).



1 2 3

Рис. 2. Кристали в мазках цервікального слизу під час тічки та охоти:
1 – великі, 2 - середні, 3 - дрібні.

Паралельні дослідження з визначення рівня прогестерону у сироватці крові та естральному слизі корів під час спонтанної охоти показали, що в період активізації фолікулогенезу рівень прогестерону в сироватці крові значно менший, ніж у естральному слизу (табл. 2).

2. Рівень прогестерону в сироватці крові та цервікальному слизу корів під час спонтанної тічки та охоти (*n=19)*

Проба	Кількість прогестерону, нмоль/л		
	у середньому	мінімальна	максимальна
Сироватка крові	3,99	0,8	9,4
Цервікальний слиз	15,29	1,61	19,64

Із табл. 2 видно, що кількість прогестерону в середньому у сироватці крові менше у 3,8 раза та становить 3,99 нмоль/л, у порівнянні з цервікальним слизом - 15,29 нмоль/л. Мінімальні та максимальні показники також відрізнялися: рівень прогестерону в сироватці крові знаходився на рівні 0,8-9,4 нмоль/л, а у естральному слизі - 1,61-19,64 нмоль/л. Різниця мінімальних показників становила 0,81 нмоль/л, тобто у 2 рази більше у цервікальному слизу, ніж у сироватці крові. Різниця за максимальними показниками рівня прогестерону становила 10,24 нмоль/л, що також у 2 рази більше у цервікальному слизу. Очевидні відмінності між кількісними показниками прогестерону у дослідних фізіологічних середовищах можна пояснити різницею за їх щільністю.

Також проведені дослідження з визначення біохімічних показників крові у тих самих дослідних тварин (табл. 3).

3. Біохімічні показники крові корів під час статевої охоти *(n=19)*

Показники	Загальний білок, г/л	Альбумін, г/л	Глобуліни, г/л				Відношення альбумінів до глобулінів	Загальний кальцій, моль/мл
			α	β	γ	всього		
У середньому	75,62	26,42	20,46	15,11	13,64	49,21	0,54	2,55
Мінімальна кількість	70,00	24,10	18,71	14,02	12,27	45,81	0,52	2,27
Максимальна кількість	79,00	28,19	21,63	16,78	14,89	52,02	0,58	2,93

Встановлено, що відхилень від норми за основними біохімічними показниками в дослідних тварин не зареєстровано. При цьому середня кількість на 1 голову загального білка не значно відрізнялася від максимальної та мінімальної кількості, різниця становила 3,38 та 5,62 г/л. Щодо білкових фракцій (альбумінів та глобулінів), то спостерігається аналогічна картина (г/л): середня кількість на 1 голову альбумінів 26,42, глобулінів 49,21, максимальна кількість - 28,19 і 52,02, мінімальна кількість - 24,10 і 45,81, відповідно. Середні показники на 1 голову загального кальцію були 2,55 моль/мл, максимальні - 2,93 моль/мл, мінімальні - 2,27 моль/мл.

Далі була вивчена залежність заплідненості корів після штучного осіменіння від кількості стероїдного гормону - прогестерону у сироватці крові та наявності кристалів у мазках цервікального слизу під час тічки та охоти (табл. 4).

4. Запліднені корів залежно від кількості прогестерону в сироватці крові та наявності кристалів у мазках цервікального слизу під час тічки та охоти

(n=19)

Кількість прогестерону у середньому на 1 гол, нмоль/л	Наявність кристалів у мазках слизу, хрести	Група корів	Кількість корів, %
3,014	++++	Тільні	72,7
6,525	+ , ++	Нетільні	27,3

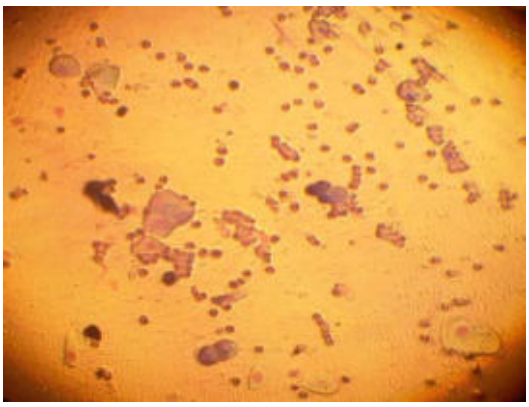
Із табл. 4 видно, що за результатами клініко-гінекологічних обстежень 72,7 % корів були тільними в тому випадку, коли середня кількість прогестерону у сироватці крови на момент осіменіння, тобто під час охоти, була у середньому на 1 голову 3,014 нмоль/л та у нефарбованих мазках спостерігалися великі, середні та дрібні кристали у вигляді листів папороті. У корів, які не запліднилися (27,3 %), кількість прогестерону під час охоти становила 6,525 нмоль/л, а в мазках цервікального слизу траплялися кристали не схожі на листя папороті, або їх не було взагалі.

Дослідження цитологічного складу цервікального слизу корів протягом статевого циклу показали, що у фолікулярну стадію відбуваються проліферативні зміни у слизових оболонках статевих шляхів. У фарбованих мазках виявлено незначну кількість проміжних ЕК із чіткими контурами, базофільно пофарбованими; більша кількість епітеліальних клітин представлена поверхневими, які розташовуються ізольовано одна від одної, переважно пофарбовані еозинофільно; розміри клітин досягають максимальної величини, спостерігаються також лусочки (клітини без ядра з прозорою цитоплазмою), які розташовуються на відстані одна від одної, або у вигляді черепиці.

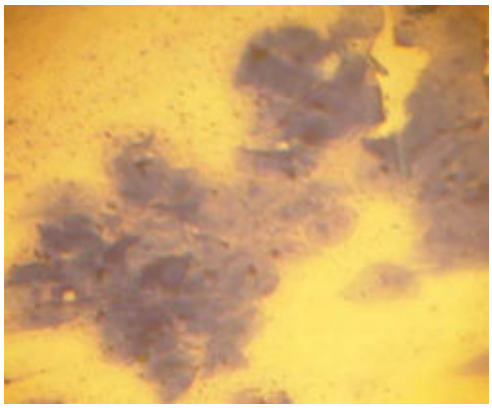
У ранню лютеальну фазу (на 7-8-у добу статевого циклу), коли здійснюється трансплантація ембріонів, зареєстровані ознаки прогестеронового виливу: у мазку зменшується кількість поверхневих ЕК та збільшується кількість проміжних ЕК, які менші за розмірами та розташовуються групами по 4-16 та більше клітин. Ближче до кінця лютеальної фази розмір проміжних та поверхневих клітин зменшується, вони розташовуються пластами, фарбуються в інтенсивні базофільні тони. За рахунок лейкоцитів фон мазка темний, «брудний» (рис. 3).

Під час стимулювання фолікулогенезу для викликання поліовуляції у корів-донорів шляхом уведення екзогенного гонадотропіну у 80 % оброблених тварин відбувалися ендокринні зміни. При цьому яєчники значно збільшувалися за масою та об’ємом за рахунок утворення 6-12 фолікулів.

Результати мікроскопічних досліджень мазків цервікального слизу також свідчать про зміни, які відбуваються при одиночній та множинній овуляції у корів під дією ендогенного та екзогенного фолікулостимулюючого гормону. У нефарбованих мазках слизу відмічено наявність кристалоутворень у вигляді листів папороті, які розташовані по всьому мазку при одиночній овуляції та смугами - при множинній овуляції (рис. 4).

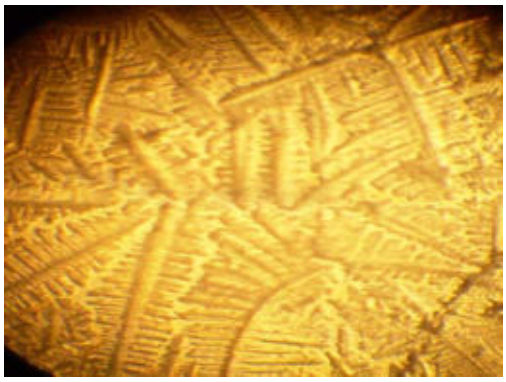


1

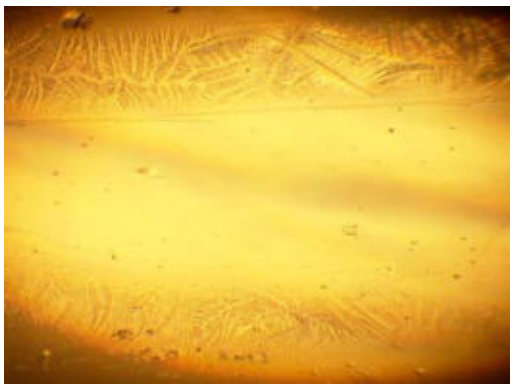


2

Рис. 3. Розташування епітеліальних клітин у мазках цервікального слизу:
1 - у фолікулярну фазу епітеліальні клітини, які розташовані по одинці;
2 – в лютеальную фазу епітеліальні клітини, які розташовані групами.



1



2

Рис. 4. Кристали у мазках цервікального слизу:
1 – при одиночній овуляції кристали розташовані по всьому мазку;
2 – при множинній овуляції кристали розташовані смугами.

Цитологічна картина фарбованих мазків цервікального слизу в корів при одиночній та множинній овуляції близька до ідентичності.

Висновки:

1. Встановлено, що протягом статевого циклу відбуваються зміни в організмі корів на гормональному рівні, які можна визначити по мазках цервікального слизу.
2. Показано зміни у цервікальному слизу та сироватці крові корів при одиночній та множинній овуляції.
3. За допомогою феномену кристалізації та цитологічного складу мазків цервікального слизу корів можна встановити стадію статевого циклу, що важливо при виконанні біотехнологічних робіт.

Бібліографічний список

1.Оборин А.Е. Роль прогестерона в регуляции воспроизводительной функции у коров /Оборин А.Е., Лиэпа В.Л., Харламов Ю.Е. //Мат.межд.научн.-практ. конф. «Проблемы увеличения производства продуктивности животноводства и пути их решения»/ ВИЖ. - Дубровицы, 2008. – Вып.64. - С.427-428.

2.Menwissen T.N.E. Optimizing puse line breeding strategies utilizing reproductive technologles /Menwissen T.N.E// J Dairy Sci. - 1998. - Vol. 81, Suppl. 2. - P. 47-54.

3.Будевич А.И. Биотехнгологические приемы и методы нтенсификации воспроизводства стада в животноводстве: [Монографія] /А.И. Будевич. - Минск, 2004. - 94 с.

4.Сергеев Н.И. Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота - настоящее и будуще / Сергеев Н.И. //ВИЖ: Матер. конф. «Актуальные проблемы биологии воспроизводства». - Дубровици-Быково, 2007. - С. 424-429.

5.Осташко Ф.І. Підсумки та перспективи трансплантації ембріонів у скотарстві / Ф.І.Осташко [та ін.] //Вісник аграрної науки. - Київ, 2004. - С. 5-8.

6.Хмельков В.Н. Трансплантация эмбрионов в молочном скотоводстве /Хмельков В.Н., Луценко М.Н., Мечта Н.П. // Науч.- произв. конф. «Новые методы селекции и биотехнологии в животноводстве». - Ч. 2. - Киев, 1991. - С.75.

7.Буркат В.П. Світові тенденції розвитку репродуктивної біотехнології у скотарстві / Буркат В.П., Кофтун С.І., Басовський Д.М //Міжвідомчій тем. наук.зб. - Вип.40. - К.: Аграрна наука, 2006. - С. 5-11.

8.Гевкан І.І. Регуляція репродуктивної функції корів та телиць гормональними препаратами: [Методичні рекомендації] /[Гевкан І.І., Мадіч А.В. та ін.]/ Інститут біології тварин УААН. - Львів, 2005. – 24 с.

9.Калиновський Г.М.. Внутрішнє середовище матки і його вплив на запліднення корів. / Калиновський Г.М., Афанасієва Л.П., Омеляненко М.М. //НТБ, №90 /ІТ УААН. - Харків, 2005. - С.147-152.

10.Чичилов А.В. Характеристика биохимических показателей цервикальной слизи высокопродуктивных коров в связи с результативностью осеменений /Чичилов А.В., Субботин А.Д. //Мат. межд. научно-практич. конф. «Актуальные проблемы биологии воспроизводства»). - Дубровицы-Быково, 2007. - С.359-363.

11.Панков Б.Г. Цитологическая диагностика состояния половых органов коров / Панков Б.Г., Жаров А.В. // Доклады РАСХН. - Москва, 2003. - №3. – С.43-47.

12.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.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ И ЦЕРВИКАЛЬНОЙ СЛИЗИ У КОРОВ ПРИ СПОНТАННОЙ И ИНДУЦИРОВАННОЙ ПОЛОВОЙ ОХОТЕ

Тихона Г.С., Хмельков В.М., Институт животноводства НААНУ

В статье изложены результаты взаимосвязи гормональных изменений в организме коров во время спонтанной и индуцированной охоты. Установлено, что под влиянием нейрогуморальных факторов происходят последовательные физико-химические и цитологические изменения в цервикальной слизи. Показано, что с помощью анализа цитологического состава и феномена кристаллообразования в мазках цервикальной слизи можно определить стадию полового цикла и пригодность коров к проведению биотехнологических робот.

Ключевые слова: корова, фолликулогенез, суперовуляция, цервикальная слизь, кристаллообразование, цитология, стероидные гормоны.

HEMATOLOGICAL AND CERVIX MUCUS PARAMETERS IDENTIFICATION IN THE COWS DURING SPONTANEOUS AND INDUCED HEAT

Tykhona G., Khmelkov V.; Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on hematological and cervix mucus parameters identification in the cows during spontaneous and induced heat. Correlation analysis was fulfilled for hormonal status swap detection in the cow organism during spontaneous and induced heat. Neuro genetic and humoral factors proved to affect physical, chemical, cytological characteristics and they provoke changes in cervix mucus. Cytological composition and crystal formation examination of cervix mucus probes results in sexual cycle stage detection and cows fitness for bio-technological procedures.

Key words: cow, follicle genesis, super-ovulation, cervix mucus, crystal formation, cytology, steroid hormones.

УДК 636.4.082.013

ВПЛИВ РІЗНИХ СТУПЕНІВ ІНБРИДИНГУ НА ВІДТВОРЮВАЛЬНІ ЯКОСТІ СВИНЕЙ ПРИ РОЗВЕДЕННІ МЕТОДОМ „ЗАКРИТОЇ ПОПУЛЯЦІЇ”

Рецензенти: канд. с.-г. наук Россоха В. І.; канд. с.-г. наук Ткачова І. В.

М.А.Хватова
Інститут тваринництва НААНУ

Вивчено вплив різних ступенів інбридингу на відтворювальні якості свиноматок уельської породи, яку протягом 34 років розводили методом „закритої популяції”.

Встановлено, що інбридинг найбільше впливає на багатоплідність маток і менше – на масу гнізда при відлученні. Зі збільшенням коефіцієнту інбридингу на один відсоток багатоплідність зменшувалася на 0,1 голови, кількість поросят у 21 і 60 діб – відповідно на 0,8 і 0,7 голови.

Коефіцієнти мінливості відтворювальних ознак зменшувалися при збільшенні ступеня інбридингу на 0,2-7,3 %, що свідчить про зростання їх консолідованості.

Ключові слова: **свиноматки, уельська порода, багатоплідність, маса гнізда поросят, ступінь інбридингу, коефіцієнти мінливості.**

Не дивлячись на те, що явище інбридингу було відоме і використовувалось на початку 18 століття англійськими заводчиками і вітчизняними вченими при виведенні порід худоби, інтерес до нього не зникає і не всі питання вирішені.

Однозначно встановлено, що інбридинг має позитивні й негативні сторони.

У дослідженнях Єрохіна А., Солдатова А. і Філатова А. [1] при використанні тісного інбридингу 25 і 37,5 % типу „брат-сестра” відмічено зниження багатоплідності маток з 11,0 до 8,0 поросят, маси гнізда при відлученні у 2 місяці з 184,9 до 104,6 кг у порівнянні з аутбредним розведенням.

Крім того, неконтрольований інбридинг призводить до послаблення консолідації, зниження життєздатності, тобто внутрішньопородної депресії.

З іншої сторони, тісний інбридинг створює нові високопродуктивні комбінації з високою гомозиготністю, які неможливо отримати іншим шляхом. Таким чином, він вкрай необхідний для ломки типу і створення в ньому нових якостей.

Помірний інбридинг дає змогу тривалий час підтримувати в потомстві схожість та консолідованість з родоначальником, тобто він необхідний для закріплення уже досягнутого рівня. На думку М. Кравченка [2] це означає не