

THE STAINED TECHNIQUE APPLICATION OF THE X,Y FRACTIONS IN THE COLOR SORTER BY THE HOECHST 33342 PAINT

O. Chenetzov , V. Shigimaga , the Institute of animal science, UAAS

This article highlights the experimental research results on the stained technique application of the X,Y fractions in the color sorter by the HOECHST 33342 paint. The time cutback is needed by the stained cell technique application. The X,Y sperm fractions are stained by the HOECHST 33342 paint. Ultrasound was used by paint acceleration. Bull semen was ultra sounded by 0,4 w per sm² power during 5 minutes. The labeling procedure boosts DNA sperm coloring by the HOECHST 33342 paint.

Key words: X,Y sorting, color sorter, sperm, DNA.

УДК 636.2:612.621:591.147:57.017.642

ДОБІР ТЕЛИЦЬ-РЕЦИПІЄНТІВ ЗА АЛЕРГІЧНИМ МЕТОДОМ ВИЗНАЧЕННЯ ФУНКЦІЇ ЯЄЧНИКІВ

М.М.Шаран

Інститут біології тварин УААН, Львів

Наведено дані про результати вивчення алергічної реакції на введення статевих гормонів телицям. Встановлено залежність шкірної реакції з гормональним профілем крові, функціональним станом статевих органів і приживленню трансплантованих ембріонів у телиць-реципієнтів. Показано, що внутрішньошкірне введення стероїдних гормонів може бути важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патології яєчників у телиць із метою раціоналізації відбору потенційних реципієнтів ембріонів.

Ключові слова: телиці-реципієнти, шкірна реакція, стероїдні гормони, ембріон, трансплантація, статеві органи

Добір реципієнтів — це важливий лімітуючий фактор, який відіграє вирішальну роль у трансплантації ембріонів, недостатня ретельність у доборі є однією з головних причин низької приживлюваності [1]. Кількість реципієнтів планують, виходячи з того, що в процесі підготовки телиць до трансплантації близько 50 % їх не використовується через відсутність жовтого тіла в яєчниках [2]. За даними низки авторів приживлення ембріонів залежить від якості жовтого тіла у реципієнтів у день пересадки [3 - 4]. Якість жовтого тіла визначається, як правило, пальпацією. Однак, місце розташування жовтого тіла в яєчнику може призвести до помилкової оцінки його розмірів. Крім того, розміри жовтого тіла не завжди пов'язані з активністю цього органу.

Оскільки існує кореляція між наявністю і ростом жовтого тіла та рівнем прогестерону в крові тварин, дослідниками встановлена залежність приживлення ембріонів від концентрації гормону в крові реципієнта перед трансплантацією [5–8]. При цьому автори рекомендують відбирати телиць з рівнем прогестерону від 2 до 5 нг/мл при концентрації естрадіолу 15–25 пг/мл.

Необхідно відзначити, що майже всі вищезгадані автори у своїх дослідженнях використовували лабораторні методи визначення концентрації естрадіолу-17 β і прогестерону в біологічних рідинах, які вимагають значних витрат часу і досить складні для виконання в умовах виробництва. При

використанні цих методів дослідник може одержати інформацію, яка його цікавить, тільки після гонадотропної обробки, що для практики незручно.

У зв'язку з вищевказаним метою наших досліджень було вивчити місцеву реакцію на внутрішньошкірне введення статевих гормонів телицям, дослідити взаємозв'язок шкірної реакції з гормональним профілем крові, функціональним станом статевих органів, приживлюваністю трансплантованих ембріонів у телиць-реципієнтів.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведені на телицях української чорно-рябої молочної породи віком 15–18 місяців, живою масою 350–380 кг.

Метод добору телиць базується на шкірній реакції тварини при введенні препаратів. Він є модифікацією способу визначення функції яєчників жінок шляхом внутрішньошкірного введення гормонів [9]. Телицям внутрішньошкірно у верхній третині шиї після підготовки (вистригання шерсті, дезінфекційної обробки) одноразово, окремо вводили: 1%-й розчин прогестерону; 0,1%-й олійний розчин естрадіолу-дипропіонату і 0,05%-й олійний розчин естроу (фолікуліну) по 0,02 г/мл.

Через 25 хвилин проводили клінічне обстеження, яке полягало у візуальному і пальпаторному дослідженні місця введення гормонів: відмічали наявність чи відсутність потовщення складки шкіри, набряку, почервоніння. У той же час проводили клініко-гінекологічні дослідження, визначали функціональний стан яєчників із діагностикою жовтого тіла, фолікулів, а також таких найбільш поширених патологій як фолікулярні і лютеїнові кісти, персистентне жовте тіло, гіпофункція яєчників. Паралельно проводили визначення концентрації прогестерону, естрадіолу-17 β та естроу в плазмі крові піддослідних телиць імунологічним методом [10].

Після цього тварини були використані як реципієнти ембріонів. Перед синхронізацією статевої охоти телицям із гінекологічною патологією провели лікування згідно зі загальноприйнятими схемами з використанням сучасних досягнень ветеринарної медицини і фармакології. Синхронізацію еструсу проводили дворазовою ін'єкцією простагландину F_{2 α} (estrofan) з інтервалом 11 діб у сумарній дозі 1 мг клопростенолу, трансплантацію деконсервованих ембріонів нехірургічним методом, використовуючи удосконалені нами біотехнологічні методи відтворення та інструменти німецької фірми "Minitüb" [11].

Завершили експеримент співставленням результатів біохімічних, радіоімунологічних, гінекологічних та біотехнологічних досліджень після їх статистичного опрацювання.

Результати досліджень. Аналізуючи результати шкірних реакцій на введення окремих гормонів слід відзначити, що при персистентному жовтому тілі позитивну реакцію (виражений набряк, потовщення складки шкіри, гіперемія, свербіння, в окремих випадках поверхневі некрози) спостерігали при введенні прогестерону (83,3 %) при від'ємній реакції на ін'єкції естрадіолу (91,7 %) та фолікуліну (58,3 %) (табл.1).

Наявність такої гінекологічної патології як лютеїнова кіста супроводжувалась позитивною реакцією на введення прогестерону (80,0 %) і фолікуліну (40,0 %) і відсутності реакції на естрадіол (80,0 %). При фолікулярних кістах відмічали позитивні шкірні реакції на ін'єкції естрогенів (естрадіол (92,0 %) і фолікулін (64,0 %)), у той час як вираженої чутливості шкіри на прогестерон не встановлено у 72 % телиць.

1. Функціональний стан яєчників і шкірна реакція у телиць

Функціональний стан яєчників	Кількість телиць	Шкірна реакція на гормони		
		прогестерон	естрадіол	естрон (фолікулін)
Персистентне жовте тіло	12	+ (10)	– (11)	– (7)
Лютеїнова кіста	10	+ (8)	– (8)	+ (4)
Фолікулярна кіста	25	– (18)	+ (23)	+ (16)
Гіпофункція яєчників	24	– (20)	– (19)	– (17)
Жовте тіло	18	+ (13)	– (12)	– (9)
Фолікулів	12	– (7)	+ (8)	+ (6)

Примітка. + — позитивна реакція; – негативна реакція.

При жовтому тілі у більшості випадків спостерігали позитивну реакцію на прогестерон (72,2 %) і негативну на естрадіол (66,7 %) і фолікулін (50,0 %). Однак, залежність шкірної реакції від функціонального стану виражена слабше, ніж при персистентному жовтому тілі. Аналогічну картину спостерігали при наявності фолікула в яєчнику — у цьому випадку спостерігали позитивну реакцію шкіри на естрадіол (58,3 %) і естрон (50,0 %) від'ємну на прогестерон (66,7 %).

Найменш інтенсивну шкірну реакцію спостерігали при гіпофункції яєчників. У цьому випадку реакції на введення прогестерону, естрадіолу і фолікуліну були від'ємними.

Результати внутрішньошкірних проб значною мірою підтверджуються дослідженням концентрації стероїдних гормонів у крові піддослідних телиць (табл. 2). Так, при персистентному жовтому тілі спостерігається високий рівень прогестерону ($5,7 \pm 0,92$ нг/мл) на фоні низького рівня естрогенів (естрадіол — $2,1 \pm 0,40$ нг/мл, естрон — $0,6 \pm 0,03$ нг/мл). Лютеїнові кісти супроводжуються аналогічними співвідношеннями досліджуваних гормонів, однак концентрація прогестерону вища на 82,4 %, естрадіолу — на 52,4 % та естрону — в 2,2 раза.

2. Вміст статевих гормонів у крові телиць

Функціональний стан яєчників	Досліджувані гормони в крові ($M \pm m$)		
	прогестерон	естрадіол	естрон
Персистентне жовте тіло	$5,7 \pm 0,92$	$2,1 \pm 0,40$	$0,6 \pm 0,03$
Лютеїнові кіста	$10,4 \pm 4,5$	$3,2 \pm 1,05$	$1,3 \pm 0,60$
Фолікулярна кіста	$1,6 \pm 0,33$	$17,2 \pm 3,35$	$5,2 \pm 0,63$
Гіпофункція яєчників	$1,2 \pm 0,05$	$2,2 \pm 0,05$	$0,4 \pm 0,01$
Жовте тіло	$2,1 \pm 0,12$	$0,7 \pm 0,10$	$0,5 \pm 0,08$
Фолікул	$1,0 \pm 0,22$	$7,6 \pm 0,98$	$3,4 \pm 0,32$

Зовсім протилежну картину спостерігали при фолікулярних кістах. Тут концентрація прогестерону становила $1,6 \pm 0,33$ нг/мл, що у 3,5–6,5 раза менша у порівнянні з кістами лютеїнового походження. У той же час концентрація естрадіолу була найвищою ($17,2 \pm 3,35$ нг/мл), що у 5,3–8,2 раза вища, ніж при персистентних жовтих тілах і лютеїнових кістах. Рівень естрону також був вищий відповідно у 4,0–8,6 раза. Найнижчі концентрації стероїдних гормонів виявлені при гіпофункції яєчників, що підтвердилося і відсутністю алергічних реакцій на введення цих гормонів.

Слід зазначити, що при інтенсивнішій шкірній реакції співвідношення між естрогенами і прогестероном більш виражене.

Таким чином, порушення продукції статевих гормонів і підвищена чутливість до них відіграють важливу роль у патогенезі функціональних

порушень яєчників. У той же час внутрішньошкірне введення стероїдних гормонів може бути важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патологій яєчників у телиць, з метою раціоналізації відбору потенційних реципієнтів ембріонів.

Аналізуючи результати синхронізації статеві охоти слід зазначити, що найкращі результати одержали у телиць з жовтим тілом яєчника. Це підтверджує думку низки вчених про необхідність добору телиць з жовтим тілом як реципієнтів ембріонів [12 - 13]. У цій групі телиць жовті тіла виявлені у 13 тварин, що становить 72,2 % від загальної кількості оброблених (табл. 3).

3. Приживлюваність ембріонів у телиць з різним функціональним станом яєчників

Показники	Функціональний стан яєчників					
	персистентне жовте тіло	лютеїнова кіста	фолікулярна кіста	гіпофункція	жовте тіло	фолікул
Оброблено телиць, n	10	9	20	18	18	12
Виявлено тварин з жовтим тілом, n-%	4-40,0	4-44,4	9-45,0	9-50,0	13-72,2	6-50,0
Пересаджено ембріони, n	4	4	9	8	13	6
Тільних реципієнтів, n-%	1-25,0	1-25,0	3-33,3	3-37,5	6-46,1	2-33,3

У телиць зі фолікулом та гіпофункцією яєчників прореагувало на синхронізацію лише по 50 відсотків з них. Ще меншу кількість жовтих тіл після синхронізації охоти виявили при таких гінекологічних патологіях як персистентне жовте тіло (40,0 %), лютеїнова кіста (44,4 %), фолікулярна кіста (45,0 %).

Такий функціональний стан негативно вплинув на результати нехірургічної трансплантації ембріонів. Приживлюваність ембріонів у цих групах тварин була невисокою — від 25 до 33 відсотків, що на 13–21 % нижче ніж у телиць-реципієнтів із жовтим тілом.

Висновки:

1. Внутрішньошкірне введення стероїдних гормонів (прогестерону, естрадіолу-дипропінату і фолікуліну) може бути важливим додатковим діагностичним тестом для виявлення патології яєчників у телиць з метою підвищення ефективності відбору потенційних реципієнтів ембріонів.

2. Результати внутрішньошкірних проб відповідають окремим патологіям яєчників і залежать від концентрації стероїдних гормонів у крові піддослідних телиць. При персистентному жовтому тілі спостерігається високий рівень прогестерону ($7,6 \pm 1,2$ нг/мл) на фоні низького рівня естрогенів. Лютеїнові кісти супроводжуються аналогічними співвідношеннями досліджуваних гормонів, однак концентрація прогестерону вища на 82,4 %, естрадіолу — на 52,4 % та естрогену — у 2,2 раза.

3. Використання телиць з патологією яєчників як реципієнтів ембріонів з економічної точки зору нерентабельне через низький рівень приживлення (на 13–21 % менше ніж у клінічно здорових тварин) та додаткові витрати на лікування гінекологічних захворювань.

Бібліографічний список

1. Методические указания по использованию французской технологии трансплантации эмбрионов /Н.З.Жильцов, В.А.Старкин, П.П.Кундышев и др. — Москва: Госагропром СССР. - 1986.- 323 с.
2. Мадисон В.В., Мадисон В.Л. Трансплантация эмбрионов в практике разведения молочного скота.— Москва: Агропромиздат, 1988. —128 с.
3. Хмельков В.Н., Невинный Н.А. Приживляемость эмбрионов в зависимости от их качества и состояния желтого тела у реципиента // Применение биотехнологии в животноводстве, растениеводстве и ветмедицине: Тез. док. Всесоюзной науч.-техн. конф. 1988. — С.45–47.
4. Шеремета В., Опанасенко В. Морфологічна оцінка яєчників телиць-реципієнтів //Тваринництво України.— 1995.— № 6.— С.17.
5. Смыслова Н.И., Ефремова М.Н., Петряков Ю.Н. Приживляемость эмбрионов в зависимости от гормонального профиля крови телок-реципиентов // Бюл. науч. работ ВИЖа.— 1987.— №87.— С.50–52.
6. Курикін Є.В. Вплив якості та функціональної активності жовтих тіл реципієнтів на приживлюваність ембріонів //Біотехнологічні дослідження і перспективи їх розвитку: Тез.доп. І Респ.наук. конф. Львів.— 1990.— С.57–58.
- 7.Бушманов В.И. Усовершенствование метода получения криоконсервации и пересадки эмбрионов крупного рогатого скота: Автореф.дис.канд.биол.наук.— Дубровицы, 1992. — 22 с.
8. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle./ Spell AR, Beal WE, Corah LR at al. — Theriogenology. 2001 — V.56(2).— P.287-97.
9. Говорухина Е. М. Способ определения функции яичников. — 1980. — АС 724127. — Бюл. № 12.
10. Резников А. Г. Методы определения гормонов. — К.: Наук. Думка. — 1980. — 400 с.
11. Довідник з репродуктивної біотехнології великої рогатої худоби / Буркат В. П., Влізло В. В., Кравців Р. Й. та ін. — Львів, 2004. — 150 с.
12. Use of synchronized heifer-recipients in view of the effectiveness of embryo transfer in cattle./ Holy L, Lopatarova M, Krontorad P et al. — Vet Med (Praha). 1990 V35(1). — P.1-10.
13. Embryonic and calving losses in bovine mixed-breed twins induced by transfer of in vitro-produced embryos to bred recipients/ Sakaguchi M, Geshi M, Hamano S at al. // Anim. Reprod. Sci. 2002.— V.72(3-4). — P.209-210.

ОТБОР ТЕЛОК-РЕЦИПИЕНТОВ ПО АЛЛЕРГИЧЕСКОМУ МЕТОДУ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФУНКЦИИ ЯИЧНИКОВ

Н.М.Шаран, Институт биологии животных УААН

Приведены данные о результатах изучения аллергической реакции на введение половых гормонов телкам. Установлено зависимость кожной реакции с гормональным профилем крови, функциональным состоянием половых органов и приживаемостью трансплантированных эмбрионов у телок-реципиентов. Показано, что внутрикожное введение стероидных гормонов может быть дополнительным диагностическим тестом для выявления патологии яичников у телок в целях рационализации отбора реципиентов эмбрионов.

Ключевые слова: телка-реципиент, кожная реакция, стероидные гормоны, эмбрион, трансплантация, половые органы.

SELECTION OF HEIFER-RECIPIENTS WITH ALLERGENIC METHODS FOR OVARIAN FUNCTION ASSESSMENT

M.M.Sharan, The Institute of Animal Biology of the UAAS

The findings of the study of allergenic reaction on sexual hormones injection in heifers have been shown. Revealed the correlation between the skin reaction and hormonal blood plateau, functional state of reproductive organs, nidation of transplantation embryos in heifer-recipients. Has been shown, that intracutaneous injection of steroid hormones can be an important diagnostic test for revealing of ovarian pathology in heifers in order to optimize the selection of potential embryo-recipients.

Key words: heifer-recipient, skins reaction, steroid hormones, embryo, transplantation, reproductive organs.

УДК 57. 08.: 636. 2. 082. 4

ЗМІНИ У ЯЄЧНИКАХ КОРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕСТРОФАНУ

Ю.Ю. Шахова, О.Д. Бугров
Інститут тваринництва УААН

У статті наведено зміни у яєчниках корів під впливом естрофану. Встановлено, що упродовж 48 год після його введення відбувається незначне збільшення їх розмірів, ваги та об'єму. При цьому жовті тіла зменшуються, а величина і кількість фолікулів збільшується на достовірну величину. ($P>0,95$). Визначено точність ректального методу дослідження яєчників при індукції статевої охоти.

Ключові слова: корова, яєчники, синхронізація охоти, площа поперечного зрізу яєчника, об'єм, вага, фолікули, жовте тіло.

Індукція статевої охоти у корів та телиць використовується при трансплантації ембріонів для синхронізації статевих циклів донора та реципієнта, а також для отримання запланованих розтёлів. [1-2]. Кращим способом для індукції статевої охоти є використання препаратів ПГФ_{2α}. Особливість простагландинів (у даному випадку естрофану) полягає у тому, що їх дія проявляється лише у фазу активного жовтого тіла (8-13 доба статевого циклу). Після лютеолізу характерною є активізація фолікулогенезу [3-5]. Але дослідження методом ректальної пальпації змін, що відбуваються у яєчниках під впливом естрофану, у літературі описані дуже стисло. А візуально не розглядається взагалі, хоча відомо, що точність ректального дослідження на наявність чи відсутність функціональних утворень яєчника при суперовуляції становить 50 % [6], при індукованій овуляції такі відомості відсутні.

Метою нашої роботи були дослідження зміни яєчників під впливом естрофану методом ректальної пальпації та візуально на матеріалі забою худоби. Порівняння результатів цих методів.

Завдання досліджень:

1. Встановити довжину, ширину, товщину яєчників, величину фолікулів і жовтих тіл на 10 добу статевого циклу та через 24, 48 год після введення естрофану методом ректальної пальпації.