

Оценка действия гонадотропинов на коров-доноров при трансплантации зигот

Б.В. Гаврилов, к.в.н., **И.А. Родин**, д.в.н., профессор, **Л.П. Вишневская**, аспирантка, **М.И. Родин**, аспирант, **М.Г. Яковец**, аспирантка, ФГБОУ ВО Кубанский ГАУ

В настоящее время животноводство является приоритетной областью сельского хозяйства, требующей внедрения современных технологий. Увеличение производства животноводческой продукции рассматривается как важная народно-хозяйственная задача агропромышленного комплекса России [1–5]. При этом интенсификация воспроизводства в животноводстве и повышение продуктивности стада — основные направления в обеспечении населения мясной и молочной продукцией высокого качества [6, 7].

Скорость прироста продуктивности связана с плодовитостью и продолжительностью беременности. Трансплантация зигот — это метод, который поднимает животноводство на новый уровень. Метод позволяет максимально использовать генетический потенциал коров-доноров для создания в кратчайшие сроки высокопродуктивного стада, поскольку обеспечивает получение большого количества телят-трансплантантов от одного животного, наследующих необходимые племенные и продуктивные показатели.

Индукция полиовуляции — один из важных этапов трансплантации. В обычном половом цикле у коровы происходит чаще одна или две овуляции. Применение гонадотропинов в комбинации с простагландинами приводит к множественной овуляции.

Важнейшим условием проведения гормональной обработки коров-доноров является точность дозировки гормональных препаратов и четкое определение сроков их введения. Сейчас в животноводстве используют гонадотропины гипофизарного происхождения, которые получают из гипофиза свиней и овец, а также рекомбинантным способом [8].

Французские специалисты считают, что для успешного вызывания суперовуляции соотношение фракций ФСГ и ЛГ имеет большое значение.

Важно учитывать индивидуальную чувствительность, она наступает через 40–50 час. после инъекции простагландина F2. Овуляции у коров-доноров могут быть растянуты по времени и быть больше 24 час., они происходят приблизительно через 24 час. после наступления охоты [9–12].

Целью исследования стала оценка эффективности схем гормональной обработки коров-доноров для индукции полиовуляции, при которой достигаются наиболее высокие качественные и количественные показатели результативности извлечения зигот.

Материал и методы исследования. Работа выполнялась в 2016–2018 гг. в условиях МТФ № 10 АО «Агрообъединение «Кубань». Для исследования по принципу пар-аналогов были скомплектованы две подопытные группы по 10 гол. в каждой. В опыте использовали коров с массой 550–680 кг, успешно прошедших акушерско-гинекологическую диспансеризацию и имеющих годовой удой выше 12000 кг.

В ходе эксперимента животные находились под клиническим наблюдением. До и после эксперимента проводились морфологические и биохимические исследования крови по общепринятым методикам в Усть-Лабинской зональной ветеринарной лаборатории.

Для индукции полиовуляции у коров применяли гормональные препараты ФСГ-супер и Плюснет. Для обнуления полового цикла внутримышечно вводился препарат Эстрофантин, обладающий лютеолитическим действием. На 7-е сут. от начала схемы во влагалище коровам вводили капсулы СИДР, содержащие в качестве действующего вещества прогестерон. Действие препаратов приводит к синхронизации охоты. С 12-х сут. коровам-донорам 8 раз вводили гонадотропины с интервалом 12 час. Через 48 час. от начала применения гонадотропинов применяли простагландин Ф2б двукратно с интервалом 12 час. Уже через 40–48 час. у животного проявлялся эструс и ещё через 12 час. проводили первое искусственное осеменение. Всего осеменя-

ли трёхкратно с 12-часовым интервалом. На 7-е сут. от момента первого осеменения проводили вымывание зигот и вводили Эстрофантин для обнуления полового цикла. В контрольной группе в качестве гонадотропного препарата использовали гипофизарный гонадотропин ФСГ-супер, в опытной группе – зарубежный гонадотропный препарат Плюсет, также имеющий гипофизарное происхождение (табл. 1).

Результаты исследования. В результате проведённого анализа было установлено, что показатели крови коров-доноров обеих групп до опыта находились в пределах физиологической нормы. После окончания, в день вымывания зигот, у животных обеих групп, положительно отреагировавших на гормональную обработку, была диагностирована эозинофилия (табл. 2). Причиной повышения уровня эозинофилов в крови коров-доноров стало введение в организм чужеродного белка в виде гормональных препаратов. Однако в крови особей контрольной группы число эозинофилов было выше, чем у сверстниц опытной. Это может свидетельствовать о плохой переносимости коровами-донорами препарата ФСГ-супер.

Результаты биохимического исследования крови до гормональной обработки показали, что у коров-доноров обеих групп они также были в пределах физиологической нормы. В день вымывания зигот у положительно отреагировавших коров-доноров в сыворотке крови были выявлены сопоставимо сходные показатели: общий белок – $72,65 \pm 0,09$ г/л, альбумины – $38,11 \pm 0,47$ г/л, глобулины – $44,16 \pm 0,78$ г/л, общий кальций – $2,98 \pm 0,23$ ммоль/л, неорганический фосфор – $1,89 \pm 0,26$ ммоль/л, резервная щёлочность – $48 \pm 0,11$ об.% CO_2 ; каротин – $11,59 \pm 0,09$ ммоль/л.

У коров-доноров контрольной и опытной групп было проведено для контроля ректальное обследование изменений в яичниках, определена реакция на гонадотропины в виде развития фолликулов разного диаметра, а перед вымыванием зигот установлено количество овуляторных ямок с формирующимися жёлтыми телами.

В случае положительной ответной реакции коров-доноров осеменяли. Для осеменения использовали замороженно-оттаянную сперму. Осеменение проводили ректоцервикальным способом трёхкратно с интервалами в 12 час. (табл. 3).

При вымывании зигот осуществляли учёт их количества, морфологические и качественные показатели. В контрольной группе, где производилась обработка гонадотропным препаратом ФСГ-супер, у 20% животных отсутствовала супер-овуляция, что характеризовалось наличием трёх и менее окулировавших фолликул. Вымывание зигот в этом случае проводить нецелесообразно, животные были исключены из опыта. В опытной группе, где в качестве гормонального препарата использовался Плюсет, отрицательная реакция яичников была отмечена у одной коровы-донора, что соответствовало 10%.

Отсутствие ответной реакции яичников предполагаемых коров-доноров может быть связано с различными факторами, как внешними стрессовыми, которым подвержены животные на производстве, так и состоянием организма животного и его индивидуальными особенностями, которые невозможно отследить на стадии формирования донорского стада. Также можно предположить, что на проявление полиовуляции у коров-доноров в группах оказывают влияние и гормональные препараты.

1. Гормональные схемы стимуляции коров-доноров

Период опыта, сут.	Время	Группа	
		контрольная	опытная
-7	07:00	Эстрофантин, 3 мл	Эстрофантин, 3 мл
0	07:00	СИДР, введение Фертагил, 2,5 мл	СИДР, введение Фертагил, 2,5 мл
4	19:00	ФСГ-супер, 2,5 мл в/м	Плюсет, 3,0 мл в/м
5	07:00	ФСГ-супер, 2,0 мл в/м	Плюсет, 3,0 мл в/м
	19:00	ФСГ-супер, 2,0 мл в/м	Плюсет, 2,0 мл в/м
6	07:00	ФСГ-супер, 1,5 мл в/м	Плюсет, 2,0 мл в/м
	19:00	ФСГ-супер, 1,5 мл в/м Эстрофантин, 2,0 мл в/м	Плюсет, 1,0 мл в/м Эстрофантин, 2,0 мл в/м
7	07:00	ФСГ-супер, 1,0 мл в/м Эстрофантин, 2,0 мл в/м	Плюсет, 1,0 мл в/м Эстрофантин, 2,0 мл в/м
	19:00	ФСГ-супер, 1,0 мл в/м	Плюсет, 0,5 мл в/м
8	07:00	ФСГ-супер, 1,0 мл в/м	Плюсет, 0,5 мл в/м
9	07:00	первое искусственное осеменение – Фертогил, 2,5 мл	первое искусственное осеменение – Фертогил, 2,5 мл
	19:00	второе искусственное осеменение – Фертогил, 2,5 мл	второе искусственное осеменение – Фертогил, 2,5 мл
10	7:00	третье искусственное осеменение	третье искусственное осеменение
16		вымывание зигот Эстрофантин, 3 мл	вымывание зигот Эстрофантин, 3 мл

2. Показатели лейкограммы коров-доноров в день вымывания зигот ($\bar{X} \pm S_x$)

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Эритроциты, $10^{12}/л$	$6,6 \pm 0,75$	$6,8 \pm 0,45$
СОЭ	1,0	1,0
Лейкоциты, $10^9/л$	$6,07 \pm 0,12$	$6,83 \pm 0,17$
Базофилы, $10^9/л$	$1,16 \pm 0,05$	$1,09 \pm 0,04$
Эозинофилы, $10^9/л$	$9,75 \pm 0,9$	$8,49 \pm 0,11$
Нейтрофилы:		
юные, $10^9/л$	$0,73 \pm 0,08$	$0,66 \pm 0,10$
палочкоядерные	$4,09 \pm 0,07$	$4,16 \pm 0,12$
сегментоядерные	$23,49 \pm 0,51$	$21,32 \pm 0,21$
Лимфоциты, $10^9/л$	$63,73 \pm 1,25$	$65,49 \pm 1,13$
Моноциты, $10^9/л$	$3,10 \pm 0,16$	$3,79 \pm 0,06$

3. Результативность обработок в группах, шт.

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Положительно отреагировало	8	9
Количество жёлтых тел	68	75

На 7-е сут. от первого искусственного осеменения перед извлечением зигот коров-доноров фиксировали в станке, освобождали прямую кишку, наружные половые органы тщательно обмывали тёплой водой с мылом, дезинфицировали 70-процентным этанолом. Проводилась сакральная анестезия 2-процентным раствором новокаина. Вымывание зигот проводили посредством силиконового двуканального катетера, состоящего из трубки, конец которой имеет надувной баллончик для надёжной фиксации в роге матки, и шести отверстий, обеспечивающих введение промывной среды Дюльбекко в рог матки.

После извлечения зиготы с помощью бинокулярной лупы оценивали на пригодность для подсадки коровам-реципиентам по их морфологическим характеристикам, определяли стадии развития. Оценивали в соответствии с принятой классификацией и делили на пригодные (отличные, хорошие, удовлетворительные) и непригодные (неоплодотворённые и деформированные) (рис. 1).

У животных контрольной и опытной групп количество вымытых зигот от общего числа жёлтых

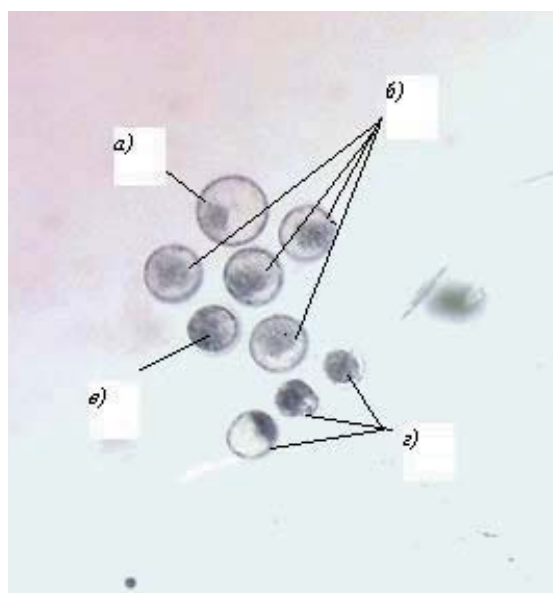


Рис. 1 – Оценка зигот:

а) отличные; б) хорошие; в) удовлетворительные; г) непригодные

тел на яичниках составляло соответственно 86,8 и 90,7% (табл. 4).

Число пригодных зигот было выше в опытной группе на 8 шт., непригодных оказалось меньше, чем в контрольной группе, на 1 зиготу.

Среди пригодных зигот преобладали зиготы хорошего качества и в контрольной и в опытной группе. В среднем число отличных и хороших зигот на 7 шт. больше было в опытной группе. Разница между числом удовлетворительных в обеих группах составляло 1 зиготу, с преобладанием их количества у животных в контрольной группе.

Среди непригодных зигот не выявлена существенная разница в количестве неоплодотворённых и дегенерированных.

Показатели эмбриопродуктивности в контрольной и опытной группах представлены на диаграммах (рис. 2).

В обеих группах коров-доноров преобладали стадия морулы и ранней бластоцисты, так как вымывание оплодотворённых яйцеклеток проводится на 7-е сут. после оплодотворения, а стадия ранней бластоцисты оплодотворённая яйцеклетка

4. Показатели эмбриопродуктивности в группах

Показатель	Группа	
	контрольная	опытная
Количество положительно реагирующих коров-доноров, гол.	8	9
Количество жёлтых тел, шт.	68	75
Извлечено зигот всего, шт.	59	68
Извлечено зигот на одного донора, шт.	7,4	7,6
Всего пригодных зигот, шт.	40	48
В том числе, шт.:		
отличных	13	16
хороших	19	23
удовлетворительных	8	9
Всего непригодных, шт.	19	20
Неоплодотворённых, шт.	4	5
Дегенерированных, шт.	15	15



Рис. 2 – Показатели эмбриопродуктивности

достигается на 7-е сут. Наличие же остальных стадий развития зигот, начиная от ранней морулы и до бластоцисты, также объяснимо. Это происходит в результате трёхкратного осеменения коров-доноров, в результате оплодотворение всех вышедших из фолликулов яйцеклеток может растянуться на двое суток.

Существенной разницы в количестве зигот, находящихся в разной стадии развития, полученных от коров-доноров обеих групп, не установлено.

После проведения оценки жизнеспособности зигот на основании морфологических показателей уровня развития все отличные зиготы были подвергнуты криоконсервации. Зиготы с оценкой качества хорошие и удовлетворительные были подсажены в день вымывания животным-реципиентам, к которым предварительно была применена схема синхронизации полового цикла.

Выводы

1. Применение гормональных гонадотропных препаратов для эмбриопродукции является необходимым условием для организации трансплантации с целью производства ценного потомства с высокими генетически обусловленными продуктивными качествами.

2. Помимо теоретического обоснования способы стимуляции при трансплантации нуждаются в постоянном производственном изучении и сравнении с целью повышения рентабельности биотехнологического приёма.

3. Выход полноценных зигот у коров-доноров при применении препарата Плюсет на 8 зигот (16,7%) больше, чем при применении препарата ФСГ-супер.

4. Целесообразно более широкое применение препарата Плюсет как более эффективного при стимуляции коров-доноров.

Литература

1. Гизатова Н.В. Эффективность использования питательных веществ рациона телками казахской белоголовой породы при скормливании им пробиотической добавки БиоДарин / Н.В. Гизатова, И.В. Миронова, Г.М. Долженкова [и др.] // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2016. № 2 (58). С. 104–106.
2. Косилов В.И. Влияние пробиотической добавки Биогумитель 2г на эффективность использования питательных веществ кормов рационов / В.И. Косилов, Е.А. Никонова, Д.С. Вильвер [и др.] // АПК России. 2016. Т. 23. № 5. С. 1016–1021.
3. Бозымов К.К. Технология производства продуктов животноводства / К.К. Бозымов, Е.Г. Насамбаев, В.И. Косилов [и др.] / Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана. Уральск, 2016. Т. 2. 530 с.
4. Косилов В., Мироненко С., Литвинов К. Мясная продукция красного степного молодняка при интенсивном выращивании и откорме // Молочное и мясное скотоводство. 2008. № 7. С. 27–28.
5. Мироненко С. Качество мяса молодняка казахской белоголовой породы и ее помесей / С. Мироненко, В. Крылов, С. Жаймышева [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. 2010. № 5. С. 13–18.
6. Перевойко Ж.А., Косилов В.И. Воспроизводительная способность свиноматок крупной белой породы и её двух-трёхпородных помесей // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 161–163.
7. Косилов В.И., Перевойко Ж.А. Воспроизводительные качества свиноматок крупной белой породы при сочетании с хряками разных линий // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2014. № 6 (50). С. 122–126.
8. Назаров М.В., Гаврилов Б.В., Кондратьев А.В. Использование простагландинов и гормонов при искусственном осеменении коров // Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2006. № 2. С. 52.
9. Бабенков В.Ю. Биотехнологические методы интенсификации воспроизводства молочного и мясного скота: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Дубровицы, 2004. 46 с.
10. Мороз Т.А., Блохин С.Н. Реакция суперовуляции у коров костромской породы при применении высокоочищенного препарата ФСГ и суперфана // Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения: сб. научн. трудов ВНИИплем. М., 1992. С. 32–37.
11. Иванова Т.П., Мадисон Л.В. Качество эмбрионов в зависимости от сроков их извлечения и стадии развития // Биология воспроизведения и биотехнологические методы разведения: сб. трудов ВНИИплем. М., 1992. С. 46–49.
12. Гавриков А.М. Технология трансплантации эмбрионов в мясном скотоводстве: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Дубровицы, 1995. 46 с.