Ю.А. ГОРБУНОВ, Н.Г. МИНИНА, А.А. КОЗЕЛ, Э.И. БАРИЕВА, В.Б. АНДАЛЮКЕВИЧ

АКУПУНКТУРНО-ГОРМОНАЛЬНЫЙ МЕТОД РЕГУЛЯЦИИ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ КОРОВ-ДОНОРОВ

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

Разработан метод акупунктурно-гормональной индукции полиовуляции фолликулов у коров после нормализации функции яичников, позволяющий увеличить число овуляций в расчёте на одного донора на 2,4, снизить количество ановуляторных фолликулов на 0,5, получить дополнительно 1,6 эмбрионов, пригодных для трансплантации, а также 5 телят-трансплантантов на каждые 100 эмбриопересадок.

Ключевые слова: телята-трансплантанты, коровы-доноры, эмбрионы, акупунктура, приживляемость, гормональный статус, фолликул, овуляция.

Y.A. GORBUNOV, N.G. MININA, A.A. KOZEL, E.I. BARIEVA, V.B. ANDALIUKEVICH

ACUPUNCTURE-HORMONAL METHOD OF DONOR COWS' REPRODUCTIVE ORGANS REGULATION

Grodno State Agrarian University

We have worked out the method of acupuncture-hormonal induction of follicle polyovulation among the cows after ovaries function normalization, which leads to the number of per donor ovulations growth by 2.4, to the number of anovulation follicles drop by 0.5, to extra 1.6 embryos suitable for transplantation and extra 5 calves-transplant per 100 embryotransplantation.

Key words: calves-transplantants, cows-donors, embryos, acupuncture, acceptance, hormonal status, follicle, ovulation.

Введение. В настоящее время большое распространение получило применение гормональных препаратов для регуляции воспроизводительной функции у коров-доноров эмбрионов. Широко используются гонадотропины, нейротропные препараты, простагландины, прогестагены и др. Однако применяемые медикаментозные методы не всегда эффективны, а в некоторых случаях оказывают побочное действие на организм животных, что приводит к гипертрофии яичников, снижению качества получаемых продуктов питания по причине накопления в организме остатков фармакологических средств. С другой стороны, наиболее эффективные препараты дорогостоящи и экономически невыгодны для хозяйств [1, 2].

В последние годы в медицине для профилактических, диагностических и стимулирующих функцию половых органов целей широкое применение получили такие методы как иглоукалывание, ультразвуко-

вое и лазерное воздействие [3]. Однако в животноводстве и, в частности, у коров-доноров физиотерапевтические методы биокоррекции репродуктивной функции посредством акупунктурного воздействия на биологически активные точки организма не отработаны. В этой связи перспективным представляется использование акупунктурного метода воздействия на организм животных, аналогичного тому, который распространён в практической медицине.

По данным А.В. Зенкина и др. [4], иглоукалывание и лазерное излучение оказывают нормализующее влияние на организм животного, способствуют восстановлению ослабленных функций органов, а также стимулируют регенеративные процессы. Авторы указывают на необходимость изучения вопросов, связанных с применением метода акупунктуры в животноводстве, дающих возможность уменьшить, а в некоторых случаях избежать негативного воздействия гормональных стимулирующих веществ, в основном импортного производства, на организм животных.

Проведение дальнейших научных исследований может быть направлено на изучение физиологических процессов, происходящих в организме генетически высокоценных коров-доноров эмбрионов, с целью более глубокого их понимания. В ряде стран становится актуальной разработка и практическое применение метода биокоррекции их репродуктивной функции [5].

Нерешённость этой проблемы в трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота обусловила проведение исследований. В связи с этим, целью исследований явилось научно обосновать и разработать метод повышения репродуктивной функции коров-доноров путём акупунктурно-гормональной регуляции полиовуляции фолликулов.

Материал и методика исследований. Исследования проведены в производственных условиях КСУП «Племзавод «Россь» Волковысского района Гродненской области. Лабораторные исследования выполняли в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет» и ГУ «НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси» (г. Гродно). Объектом исследований были коровы-доноры чёрно-пёстрой породы в возрасте 2-5 лактации, живой массой 580-630 кг, удоем по наивысшей лактации от 10 до 12,5 тыс. кг молока, жирностью 3,8-4,12 %; свежеполученные и замороженно-оттаянные эмбрионы; телята-трансплантанты.

Предмет исследований – степень эффективности воздействия лучом лазера и иглоукалыванием на биологически активные точки (БАТ) организма коров-доноров.

Подопытные группы животных формировали с учётом живой массы, физиологического состояния, возраста и породы, которые находились в одинаковых условиях кормления и содержания, в соответствии с технологиями, принятыми в хозяйстве.

Для выполнения поставленных задач было проведено четыре научно-хозяйственных опыта. В первом опыте осуществляли поиск БАТ на теле животных, отражающих функцию половых органов. Для этого использовали ветеринарно-диагностический прибор (ВДП), согласно наставлению по применению [6]. Физико-биологические свойства течковой слизи, взятой у коров перед осеменением в стимулированную и спонтанную охоты, определяли с использованием двух объективных показателей: рефракции [7], а также по глубине проникновения сперматозоидов в цервикальной течковой слизи [8].

Во втором опыте проводили сравнительный анализ результативности вызывания полиовуляции животных I контрольной группы с использованием гонадотропина ФСГ-супер (Россия) в дозе 50 единиц по Арморовскому стандарту, а также дополнительным (животные опытных групп) магнито-инфракрасно-лазерным воздействием на БАТ № 35, 40, 41 и 45 аппаратом «Милта-МВ» (Россия), согласно инструкции по применению, и иглоукалыванием на БАТ № 7, отражающих функцию половых органов, на теле животного. Для изучения влияния различных режимов магнито-инфракрасно-лазерного воздействия (ЛВ) и иглоукалывания (ИУ) на 5 БАТ организма животных было сформировано 4 группы коров-доноров по 16 голов в каждой (3 опытных и 1 контрольная). Обработку животных проводили согласно разработанным схемам.

В третьем опыте определяли оптимальную интенсивность дополнительного комплексного магнито-инфракрасно-лазерного воздействия и акупунктурного иглоукалывания на организм доноров в связи со способностью эмбрионов к криоконсервации, а также концентрацию гормонов ФСГ и прогестерона [9, 10]. Криоконсервацию эмбрионов осуществляли с использованием высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации [6].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Результаты исследований, направленных на выявление БАТ, связанных с функциональным состоянием половых органов коров, представлены в таблице 1.

Установлено, что по мере приближения предстоящих родов активизация зарегистрирована в 22-х точках акупунктуры (ТА) на теле животных, что составляет 38 % от числа исследованных. При этом максимальная их трансформация в зону повышенного электрокожного сопротивления, измеренная прибором ВДП, характеризовалась размером 49 мм, а минимальная – 24 мм (в среднем 33 мм), в то время, как в контрольной (І группа – 60 дней после отёла) – лишь 9 (Р< 0,01).

Таблица 1 – Количество БАТ, отражающих состояние половых органов, при различной степени их функциональной активности

Группы (физиологическое состояние коров)	Всего коров	Чис- ло ТА	Обнаружено активных точек	Разме колеба- ния	р БАТ, мм
І контрольная (60 дн. после отёла) ІІ опытная (20 дней до отёла) ІІ опытная (в день отёла) ІV опытная (20 дн. после отёла) V опытная (перед извлечением эмбрионов)	32	57	16±1,23 / 28 22±1,70 / 38 57±3,34*/100 19±1,53 / 33 54±3,75*/95	4-16 24-49	9±0,42 33±1,82** 119±17,57*** 44±2,39**

У животных III опытной группы в день отёла наблюдалось наибольшее количество активных точек -57, размер которых колебался в пределах от 53 до 196 мм (в среднем 119 мм, P < 0.001), что указывает на значительную физиологическую нагрузку на половые органы самки. В послеродовой период (IV группа) число БАТ у животных снизилось до 19 при установленных колебаниях в размерах от 16 до 53 мм и средней величине 44 мм (P < 0.01). Результаты проведённых исследований показали, что различное их количество отражает индивидуальные особенности инволюционного процесса в половых органах самок. Чем быстрее заканчивается их инволюция, тем большее количество биологически активных точек снижают свою активность.

Комплексное стимулирующее воздействие на организм коров с гипофункцией яичников проводили по схеме: акупунктурное иглоукалывание в БАТ №7 (в течение трёх дней) и последующее инъецирование тетравита (на 4-й день) в дозе 10 мл. Это способствовало проявлению охоты дополнительно у 21 % животных и выразилось в сокращении периода от начала обработки до проявления охоты на 5,2 дня (Р<0,05).

Разработана схема акупунктурно-гормональной стимуляции полиовуляции фолликулов у коров-доноров после нормализации функции яичников. Результаты исследований показали, что её применение способствовало активизации роста и развития дополнительного количества фолликулов, по сравнению с контрольной группой. Это выразилось в увеличении числа овуляций в расчёте на 1 положительного донора на 2,4 (9,5 против 7,1, P<0,05) при одновременном снижении случаев ановуляторного состояния фолликулов на 0,5 (P<0,01).

Оптимальный режим данной схемы подтверждён физикобиологическими показателями течковой слизи, взятой перед осеменением доноров, параметры которой составили: $nД = 1,3356 \ (P<0,01)$ и глубина проникновения в неё спермиев -67,1 мм (P<0,001). Таким образом, акупунктурно-гормональное воздействие на организм способствовало лучшему проявлению фолликулогенеза в яичниках коров опытной группы, что выразилось в дополнительном получении на 1 донора 2,1 эмбриона (6,6 против 4,5; P<0,05), в том числе $1,6 \ (P<0,05)$, пригодных для трансплантации.

Одной из задач исследований было изучение степени влияния различных режимов акупунктурно-гормонального воздействия на организм коров-доноров, в связи с выходом полноценных эмбрионов и их приживляемостью у реципиентов, а также показателями крови и течковой слизи (таблица 2).

Таблица 2 – Выход эмбрионов в зависимости от режима

акупунктурного воздействия

	китель- о доно-	Получено эмбрионов и яйцеклеток на 1 реагировавшего полиовуляцией донора					
			к и,	в т.ч. эмбрионов и яйцеклеток / %			
Группы	Количество положитель- ных по извлечению доно ров, гол. / %	всего, п	из них пригодных для трансплантации, n/%	всего, п	из них пригодных для транспланта- ции, п/ %	дегенерирован- ных, n/ %	яйцеклеток, п/ %
I (κ) n = 16	13/81	78	53/68	6,00± 0,39	4,08± 0,69 / 68	0,80± 0,57 / 13	1,12± 0,45/ 19
II опытная	15/94	5/94 130 78/60	120 78/60	8,67±	5,20±	2,04±	1,43±
n = 16	13/94		0,31***	0,72 / 60	0,43 / 24	0,47/16	
III опытная	13/81	13/81 121	121 77/64	9,31±	5,92±	2,15±	1,24±
n = 16	13/01			0,28***	0,79*/64	0,46 / 23	0,40/13
IV опытная	15/94 113	69/61	$7,53\pm$	$4,60 \pm$	1,60±	1,33±	
n = 16	13/74	113 09/01	0,31**	0,68 / 61	0,60 / 21	0,44/ 18	

Установлено, что в I контрольной группе получено 6,00 эмбрионов и яйцеклеток в расчёте на одного донора, в то время как во II, III и IV опытных группах соответственно на 2,67 (P<0,001), 3,31 (P<0,001) и 1,53 (P<0,01) больше. Из них с оценкой «пригодные для трансплантации» составили: в I контрольной группе – 68 %, а во II, III и IV опытных группах соответственно 60, 64 и 61 %. Число дегенерированных эмбрионов, наоборот, в контрольной группе было меньше, чем во II и III опытных группах на 14 и 11 п.п., в IV – больше на 3 п.п.

Результаты изучения показателей рефракции и глубины проникновения спермиев в течковой слизи, взятой у коров-доноров перед осе-

менением в связи с методом стимуляции полиовуляции, указывают, что во II и III опытных группах после обработки коров-доноров наблюдались достоверные изменения по показателю коэффициента рефракции (nД) слизи, взятой перед осеменением у коров-доноров.

Снижение пД составило по группам 0,0074 и 0,0098 (1,3466 против 1,3392 и 1,3368) соответственно (P<0,05 и P<0,01). Также установлено, что по показателю глубины продвижения спермиев в течковой слизи высоко достоверные различия установлены лишь в ІІІ опытной группе, где показатель был выше на 27 мм (68,7 против 42,2 мм, P<0,001). У животных IV опытной группы при использовании максимального воздействия на БАТ уровень изменения физико-биологических показателей цервикальной течковой слизи оставался близким к контрольной группе.

Следовательно, из изученных режимов наиболее соответствует готовности организма коров-доноров к зачатию вариант воздействия, характерный для III опытной группы, который обеспечивает дополнительный выход 1,84 пригодных для трансплантации эмбриона в расчёте на одного донора (P<0,05).

Уровни прогестерона и ФСГ в период акупунктурно-гормональной обработки представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Гормональный состав крови коров-доноров

	т оригональный состав прови поров допоров					
Дни по-	Группы животных					
лового	I контроль-	II опытная,	III опытная,	IV опытная,		
цикла	ная, n=16	n=16	n=16	n=16		
ФСГ, нг/мл						
5-й день	9,71±0,521	9,24±0,639	9,86±0,463	9,74±0,386		
10-й день	12,94±0,435	$13,27\pm0,598$	$13,82\pm0,356$	$13,20\pm0,394$		
15-й день	13,85±0,389	$14,32\pm0,460$	14,91±0,265*	$14,08\pm0,434$		
ПРОГЕСТЕРОН, нг/мл						
5-й день	2,48±0,189	2,44±0,321	2,46±0,221	2,38±0,294		
10-й день	4,58±0,232	$4,64\pm0,473$	$4,73\pm0,243$	$4,46\pm0,295$		
15-й день	$0,86\pm0,174$	$0,90\pm0,264$	$0,82\pm0,223$	$0,85\pm0,140$		

Установлено, что концентрация $\Phi C\Gamma$ в крови коров-доноров значительно изменяется в зависимости от режимов индукции полиовуляции. Статистически достоверный рост концентрации $\Phi C\Gamma$ установлен по группам на 15-й день полового цикла, т. е. через 10 дней после начала обработки (непосредственно перед осеменением). Максимальное её значение отмечено при использовании режима обработки по III опытной группе и составило 14,91нг/мл (P<0,05), а также по II опытной группе – 14,32 против 13,85 нг/мл в контрольной.

Одновременно проведены исследования по содержанию гормона прогестерона у животных I (контрольной), II, III и IV опытных групп. При этом установлено, что на 5-й день полового цикла перед курсом гормональной и гормонально-акупунктурной обработки показатели концентрации гормона имели одинаковый уровень и находились в пределах 2,38-2,48 нг/мл. На 10-й день указанные показатели возросли вдвое во всех группах с последующим снижением концентрации гормона в плазме крови коров-доноров на 15-й день полового цикла.

Для установления степени влияния комплексного акупунктурногормонального метода индукции полиовуляции на выход эмбрионов сравнивали данные по двум группам животных – І контрольной и ІІІ опытной. Коров опытной группы предварительно, перед традиционным применением ФСГ, обрабатывали по оптимальной схеме комплексного акупунктурного воздействия. Результаты исследований представлены в таблице 4. Установлено, что предварительное акупунктурно-гормональное воздействие на коров перед проведением традиционной гормональной обработки способствовало увеличению числа овуляций в расчёте на донора на 1,5 (10,1 против 8,6). Одновременно выявлено снижение случаев ановуляторного состояния фолликулов на 0,6 (0,2 против 0,8; P<0,01), возрастание общего выхода эмбриопродукции на 3,3 (9,3 против 6,0; P<0,001), в том числе пригодных к трансплантации зародышей на 1,84 (P<0,05) – у животных опытной группы по сравнению с контрольной.

Таблица 4 – Реакция полиовуляции и выход эмбрионов у коров-доноров в связи с комплексной акупунктурно-гормональной обработкой

	Группы			
	контрольная, тра-	опытная,		
Показатели	диционная обра-	акупунктурная		
	ботка (ФСГ-	обработка + ФСГ-		
	супер)	супер		
Обработано коров, п	16	16		
Количество положительных по				
извлечению доноров, п/%	13/81	13/81		
Количество овуляций на донора, п	8,6±0,81	10,1±0,93		
Количество ановуляторных фол-				
ликулов, n	0.8 ± 0.014	0,2±0,012**		
Общий выход эмбриопродукции				
на донора, п	6,0±0,39 / - 3,3	9,3±0,28***		
в т. ч. пригодных к транспланта-				
ции, n/%	4,08±0,51 / 68	5,92±0,69 / 64*		

При выяснении результативности применения акупунктурно-

гормонального и традиционного методов воздействия на организм коров-доноров не установлено достоверных различий по показателю приживляемости свежеполученных эмбрионов у реципиентов (52 % в опытной против 47 % в контрольной). Одновременно доказана возможность дополнительного получения 5 телят-трансплантантов на каждые 100 эмбриопересадок.

Для сравнительного изучения способности зародышей (полученных методом акупунктурно-гормональной индукции полиовуляции) к криоконсервации применили прогрессивный способ, предусматривающий использование высококонцентрированных защитных сред и процесса витрификации.

Исследования показали, что после размораживания пригодных для пересадки реципиентов оказались 79,4 и 76,5 % соответственно в контрольной и опытной группах. По результатам ректального обследования, проведённого через 3 месяца после пересадки, стельность установлена соответственно у 48,1 и 46,2 % животных. Следовательно, применяя комплексный метод акупунктурно-гормональной обработки коров-доноров, можно получать оптимальное количество эмбрионов для криоконсервации при сохранении их высокой оплодотворяющей способности.

Заключение. Доказаны оптимальные режимы метода акупунктурно-гормональной регуляции полиовуляции на основании достоверного снижения коэффициента рефракции (пД) течковой слизи на 0,0129, увеличения показателя глубины проникновения цервикальной течковой слизи на 25 мм (P<0,001), роста концентрации ФСГ в плазме крови коров-доноров до 14,91 нг/мл (P<0,05).

Регуляция репродуктивной функции у коров-доноров акупунктурно-гормональным методом позволяет увеличить число овуляций в расчёте на одного донора на 2,4, получить дополнительно 1,6 эмбрионов, пригодных для трансплантации, а также 5 телят-трансплантантов на каждые 100 эмбриопересадок.

Литература

- 1. Коронец, И. П. Эффективность гормональных методов повышения многоплодия крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. с.-х. Наук: 06.02.01 / И. П. Коронец; БелНИИЖ. Жодино, 1991. 24 с.
- 2. Effect of calf isolation on follicular wave dynamics, gonadotropin and metabolic hormone changes, and to interval to first ovulation in beef cows fed either of two energy levels postpartum / K. Sagge [et al.] // Biology of Reproduction. 1998. Vol. 59. P. 777-783.
- 3. Иноземцев, В. П. Лазеры в ветеринарную практику / В. П. Иноземцев, И. И. Балковой // Ветеринария. 1997. № 4. С. 3-6.
- 4. Зенкин, А. В. Практика применения безмемедикаментозной терапии / А. В. Зенкин, Д. Н. Волойшников // Молочное и мясное скотоводство. 2001. № 4. С. 34-36.
 - 5. Метод диагностики патологии органов воспроизведения у коров и свиноматок :

утв. научно-техническим советом Минсельхозпрода Респ. Беларусь 10.06.98 / И. П. Шейко [и др.]. – Жодино, 1998. – 6 с. – Авт. также : Горбунов Ю.А. Зубова Т.У., Зацпин П.Ф.

- 6. Способ глубокого замораживания эмбрионов крупного рогатого скота: пат. 9315 ВУ: С1 МПК А 61 D 19/20 / Шейко И.П., Горбунов Ю.А., Шелудяков М.В., Минина Н.Г., Будевич А.И.; заявитель и патентообладатель Науч.-исслед. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству. № а20040754; заявл. 09.08.2004; опубл. 30.06.2007, Афіц. бюл. № 2. 3 с.: ил.
- 7. Способ определения оптимального времени осеменения крупного рогатого скота: пат. 1146036 SU : С1 МПК А 61 D 7/02 / Горбунов Ю.А., Антонюк В.С., Жаркин В.В.; заявитель и патентообладатель Бел. науч.-исслед. ин-т животноводства. № 375068; заявл. 25.07.1983; опубл. 23.03.1985, Бюл. № 11. 3 с. : ил.
- 8. Соколовская, И. И. Зависимость эффективности осеменения коров от физико-биологических свойств цервикальной слизи в период течки / И. И. Соколовская, Б. Г. Скопец // Сельскохозяйственная биология. 1986. № 12. C. 17-18.
- 9. Медведев, Г. Ф. Эндокринный статус коров-доноров эмбрионов в период вызова суперовуляции / Г. Ф. Медведев, Н. И. Гавриченко // Современные проблемы и достижения аграрной науки в животноводстве и растениеводстве : юбилейная Междунар. науч.-практ. конф. / АГАУ. Барнаул : Изд-во АГАУ, 2003. Ч. 3. С. 237-243.
- 10. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Е. Ермолаев. Москва : Урожай, 1988. 168 с.

(поступила 11.03.2009 г.)

УДК 636.476.082.2

Е.С. ГРИДЮШКО 1 , И.Ф. ГРИДЮШКО 1 , А.А. БАЛЬНИКОВ 1 , Е.С. СРЕЛА 2

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ МАТЕРИНСКИХ ЛИНИЙ В БЕЛОРУССКОМ ЗАВОДСКОМ ТИПЕ СВИНЕЙ ПОРОДЫ ЙОРКШИР

¹РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству» ²КСУП «СГЦ Заднепровский»

Разработана карта генетического профиля животных специализированных материнских линий в белорусском заводском типе свиней породы йоркшир на основе частоты встречаемости аллелей генов маркеров продуктивных качеств. Установлено, что животные материнских линий имеют высокую частоту встречаемости предпочтительных аллелей по генам: RYR1, IGF-2 - 1,0; среднюю - ESR, PRLR, MUC4 - 0,420 - 0,530.

Ключевые слова: специализированные материнские линий в белорусском заводском типе свиней породы йоркшир, генетический профиль, гены-маркеры.