

Деякі аспекти використання та роль біологічно активних речовин у біотехнології відтворення тварин

Роботу виконано в НАУБП України

Встановлено, що попередньою підготовкою телиць-реципієнтів способом уведення в раціон та в організм біологічно активних речовин можна корегувати обмінні процеси і регулювальні системи, щоб створити кращі умови для росту і розвитку доімплантаційних ембріонів та їхнього приживлення в репродуктивних органах і так підвищити ефективність біотехнологічних методів відтворення.

Ключові слова: телиці-реципієнти, обмін речовин, глюкоза, мікроелементи, приживлюваність.

Шеремета В. І. Некоторые аспекты использования и роль биологически активных веществ в биотехнологии воспроизводства животных. Установлено, что предварительной подготовкой телок-реципиентов путем введения в рацион и в организм биологически активных веществ можно корректировать обменные процессы и регулирующие системы, с целью создания лучших условий для роста и развития доимплантационных эмбрионов и их приживления в репродуктивных органах и тем самым повысить эффективность биотехнологических методов воспроизведения.

Ключевые слова: телки-реципиенты, обмен веществ, глюкоза, микроэлементы, приживаемость.

Sheremeta V. I. Some Aspects of Using and the Role of Biologically Active Substances in Animal Reproduction Biotechnologies. We determined that the preliminary preparation of the recipient heifers can correct metabolic processes and regulatory systems by initiating of the diet and the body of biologically active substances. It is done in order to create better conditions for growth and development of doimlantatsiynih embryos and their implantation in the reproductive organs. Thereby it increases the efficiency of biotechnological reproductive methods.

Key words: heifer-recipients, metabolism, glucose, trace elements, survival.

Постановка наукової проблеми та її значення. Порушення відтворної функції тварин лише на 10 % зумовлено генетичними факторами, а на 90 % – факторами зовнішнього середовища, особливо повноцінністю годівлі. Дослідженнями було встановлено, що від умов зовнішнього середовища, які впливають на інтенсивність обмінних процесів в організмі тварин, вірогідно, залежить кількість і якість ембріонів.

Аналіз останніх досліджень із цієї проблеми. Численна інформація [1; 3; 4; 7] свідчить про залежність овогенезу, сперміогенезу, запліднюваності ооцитів, ембріональної смертності, виходу придатних ембріонів та їхньої приживлюваності в самиць у біотехнологічних методах відтворення від наявності в організмі біологічно активних речовин.

Метою дослідження було встановити роль біологічно активних речовин у процесах обміну і регуляції системи для створення кращих умов для росту і розвитку доімплантаційних ембріонів та їхнього приживлення в репродуктивних органах.

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. До біологічно активних речовин насамперед слід віднести глюкозу через важливу роль у морфофункціональних процесах в організмі тварин. Глюкоза – основний метаболіт обмінних процесів вуглеводів, функціонально пов'язаний з білково-жировим та енергетичним обмінами в організмі тварин загалом та в репродуктивній системі зокрема. У всіх видів тварин глюкоза є основною циркулюючою формою вуглеводів, причому її концентрація повинна підтримуватися в крові на достатньому рівні для забезпечення життєдіяльності мозку, жирової тканини і молочної залози. Тому циркуляція глюкози в організмі прямо пропорційна її вмісту в крові. Середня швидкість (г/хв) утворення та утилізації глюкози у корів складає: у нормі – 0,87, під час голодування – 0,36, після введення інсуліну – 0,83, у кетозі – 1,27 [8].

Регуляція обмінних процесів глюкози взаємозв'язана з гормональним фоном. У регуляції вмісту в крові самиць цукрів беруть участь статеві гормони яєчника. Так, в інтактних телиць їхній вміст у крові зі становленням статевої циклічності зменшується, тоді як їх оваріоектомія в 9, 12, 15 місяців гальмувала цей процес [4]. Крім того, естрогени збільшують тривалість секреції глікопротеїнів у яйцепроводі самиць на 1–2 дні.

Рівень глюкози в плазмі корів ($P < 0,01$) впливає на час, потрібний для відновлення активності яєчників після отелення [11], що, мабуть, пов'язане зі значним її вмістом у передовуляторних фолікулах [9].

Овуляція фолікулів як морфофункціональний процес значною мірою залежить від тріади біологічно активних речовин, а саме ЛГ–глюкози–інсуліну, і дисбаланс у концентрації цих інгредієнтів може бути однією з причин ановуляторного циклу, який спостерігається в 10–15 % корів.

У більшості корів, хворих на кетоз у субклінічній формі, активізується гліконеогенез. Тривалий гліконеогенез може призвести до значних змін обміну речовин – гіпоглікемії, накопичення в крові кетонових тіл і порушення кислотно-лужного балансу в організмі тварин [6], зниження вмісту каротину, кальцію і збільшення фосфору, загального білка та γ -глобулінів [3], що в результаті веде до порушення відтворної функції тварини. Знижений рівень інсуліну та глюкози в крові часто спостерігається у корів впродовж 3–6 тижнів після отелення, коли секреція молока настільки інтенсивна, що потреба у глюкозі переважає її продукцію. У цей час гальмується гліконеогенез, що запобігає руйнуванню тканинних білків, а збільшення енергетичних затрат задовольняється збільшенням частотності використання кетонових тіл. У таких катаболічних умовах у крові різко знижується вміст глюкози й інсуліну і збільшується рівень кетонових тіл, які в нормі стимулюють синтез глюкози в печінці з певною початковою швидкістю β -окислення і кетогенезу довголанцюгових жирних кислот [10]. Продовження інтенсифікації ліполізу, призводить до подальшого зниження кількості глюкози, відношення інсулін/глюкагон та концентрації малоніл-КоА, що є першопричиною виникнення кетозу. Останній може спричинити гепатоз печінки, внаслідок чого порушується її білоксинтетична функція, що виражається у гіпоальбумінемії, диспротеїнемії та дисбалансі амінокислот [2]. Гіпоальбумінемія призводить до порушення транспортування стероїдів, що впливає на багатоплідність та може спричинювати анеструс у самиць [7]. У досліді обмежений рівень годівлі нелактуючих корів зумовив зниження в крові концентрації інсуліну та глюкози, що спричинило у 70 % тварин анеструс, виникнення якого, можливо, пов'язане з наведеним вище порушенням обмінних процесів в організмі [12].

Аналіз біохімічних показників крові, взятої на 7 день статевого циклу, проводили у двох групах телиць-реципієнтів: тільних та нетільних, розділених на підставі визначення вагітності способом ректального дослідження через три місяці після пересадження ембріонів. Загальна приживлюваність ембріонів у піддослідних телиць-реципієнтів виявилася на рівні 54,3 %. У реципієнтів, що стали тільними, рівень обмінних процесів глюкози та сечовини був меншим на 22,1 % та 7,2 % відповідно, а каротину – більшим на 14,8 % (табл. 1).

Таблиця 1

Біохімічні показники крові реципієнтів на 7 день статевого циклу

Інгредієнт	Тільні ($n = 19$)		Нетільні ($n = 16$)	
	$M \pm m$	$C_v, \%$	$M \pm m$	$C_v, \%$
Загальний білок, г/л	75,64 \pm 0,70	4,1	75,05 \pm 1,40	7,9
Альбуміни, %	49,35 \pm 1,60	15,5	45,75 \pm 1,50	11,7
Глобуліни, %	50,65 \pm 1,60	14,1	50,25 \pm 1,50	11,9
α -глобулін, %	10,70 \pm 1,10	49,8	10,75 \pm 1,00	37,3
β -глобулін, %	28,75 \pm 1,30	20,8	28,50 \pm 0,90	13,0
γ -глобулін, %	11,20 \pm 0,79	31,9	11,00 \pm 0,50	18,4
Ліпіди, ммоль/л	3,26 \pm 0,10	19,7	3,24 \pm 0,10	12,9
Сечовина, ммоль/л	3,91 \pm 0,10	19,0	4,21 \pm 0,10*	10,1
Глюкоза, ммоль/л	2,88 \pm 0,19	29,9	3,70 \pm 0,34*	38,9
Каротин, мкмоль/л	5,05 \pm 0,19	26,6	4,30 \pm 0,19**	29,8

Примітка: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Встановлена різниця за вмістом у крові концентрації глюкози на 7-й день статевого циклу між тільними та нетільними реципієнтами у значній варіабельності її вмісту, спонукали до більш детального аналізу приживлюваності ембріонів у реципієнтів залежно від рівня вмісту глюкози в крові. Для цього реципієнтів згрупували в класи, у яких обчислили приживлюваність ембріонів у телиць реципієнтів.

Отримані результати показали, що рівень приживлюваності трансплантованих ембріонів змінюється залежно від концентрації глюкози в крові. Найбільша приживлюваність ембріонів – 87,5 % спостерігається в реципієнтів з концентрацією глюкози в межах 2,22–2,78 ммоль/л, найменша – 16,7 % у тварин, що мали в крові глюкози більше 4,44 ммоль/л (табл. 2).

Таблиця 2

Приживлюваність ембріонів у реципієнтів залежно від класу за рівнем концентрації глюкози в крові

Клас, ммоль/л	Група	Всього, голів	Тільні, голів	Приживлюваність, %	p
1,67–2,22	I	9	4	44,4	< 0,05
2,225–2,775	II	8	7	87,5	< 0,001
2,78–3,33	III	5	3	60,0	> 0,05
3,89–4,44	IV	7	4	57,1	> 0,05
4,445 і більше	V	6	1	16,7	< 0,001

Отже, у самиць обмінні процеси глюкози значно впливають на результативність усіх етапів функції відтворення. Введення екзогенної глюкози в деяких випадках дає змогу коригувати порушення у статевій системі, пов'язані з розладом обмінних процесів цього метаболіту. Так, інтравенозна ін'єкція 200 мл 30 %-го етилалкоголю коровам, яких багаторазово осіменяли (більше 3-х разів), за 1–1,5 год перед осіменінням сприяла збільшенню запліднюваності у два рази. Але додавання 40 %-го розчину глюкози та 10 %-го хлористого кальцію до 30 %-го етилалкоголю знижувала ефективність осіменіння [1].

Для відтворювальної функції не менш важливим є наявність у кормах таких біологічно активних речовин, як мікроелементи. Вони у складних органічних сполуках або в розчинному стані в рідинах організму виконують різноманітну роль у життєзабезпеченні фізіологічних функцій, у тому числі й репродуктивної. У забезпеченні відтворної функції великого значення надають наявності в раціонах мікроелементів – міді, кобальту, йоду, цинку та марганцю.

Дефіцит або надлишок одного із мікроелементів може спричинити зміни вмісту іншого і так порушити обмін речовин. Цей постулат ми підтвердили експериментально.

Для цього, в основний період до раціону піддослідних телиць (II група) було включено мідь, кобальт, марганець та цинк, а тваринам III групи замість міді до раціону ввели йод; I група – контрольна. Враховуючи велике значення для приживлення ембріонів обміну глюкози та вітамінів, телицям усіх груп при синхронізації статевого циклу (2 рази) одночасно із внутрішньом'язовою ін'єкцією естрофана, під шкіру ін'єктували 10 мл тетравіту та 20 мл 40 %-ої глюкози.

Аналіз метаболічного профілю на початку основного періоду показав, що між дослідними групами вірогідної різниці за досліджуваними показниками виявлено не було. Виняток становила концентрація у крові білка та γ -глобулінів, яких у телиць III групи було менше на 8 % ($P < 0,001$) та на 4,9, 4,7 % ($P < 0,05$), ніж у тварин I та II груп.

У кінці основного періоду (7 день статевого циклу, день пересадження ембріонів) між дослідними групами проявилася різниця в показниках, але в межах похибки. Однак порівняно з початковим рівнем в метаболічному профілі крові простежуються значні зміни. Так, у піддослідних тварин спостерігалася зниження вдвічі вмісту каротину, збільшення ($P < 0,01$ – $0,001$) сечовини та загальних ліпідів. У тварин III групи також збільшилася концентрація загального білка та γ -глобулінів.

Після другої синхронізації статеве бажання було виявлено у всіх реципієнтів, за винятком однієї голови з контрольної групи. Між групами спостерігалася різниця за ступенем статевого збудження (у тому числі й феномен тички), яке кваліфікувалося: сильне – за неспокійної поведінки тварини, великій кількості слизу, значному почервонінню слизової передвір'я та значну гіперемію статевих губ; середнє – телиця спокійна за наявності інших ознак; слабке – інші ознаки мають меншу кількісну характеристику. У III дослідній групі у всіх телиць статеве збудження характеризувалося високим ступенем прояву, тоді як у контрольній так реагували лише 42,8 %, а в II групі 71,4 % тварин (табл. 3).

Таблиця 3

Рівень приживлюваності ембріонів та ступінь статевого збудження в піддослідних телиць-реципієнтів, голів

Група	Приживлюваність, %	Ступінь статевого збудження
-------	--------------------	-----------------------------

		сильне	середнє	слабке
I	50	3	1	3
II	50	5	1	1
III	33	7	1	–

Через три місяці після пересадження ембріонів ректальними дослідженнями було встановлено, що в контрольній та дослідній (II) групах їх приживлюваність становила 50 %, у тварин III групи – тільки 33 %. Нижчу приживлюваність ембріонів із більшим статевим збудженням можна пов'язати зі значним вимиванням йоду із щитовидної залози, яке, за даними [5], відбувається в організмі тварин за недостатньої кількості міді та достатньої кількості кобальту і марганцю. Можливо, застосована в досліді доза йоду за відсутності добавки міді була недостатньою, особливо в період приживлення ембріонів.

Біохімічні дослідження сироватки крові показали, що підгодівля реципієнтів мікроелементами повинна бути комплексною. У реципієнтів, в раціоні яких мікроелементні добавки були з йодом, але без міді, статеве збудження характеризувалося високим ступенем прояву. У них у крові на 7 день статевого циклу збільшилась концентрація γ -глобулінів на 6,4 % ($p < 0,05$), загального білка і ліпідів на 11,4 %, 25 % ($p < 0,01$) та вірогідно зменшився вміст каротину порівняно з початком основного періоду, що спричинило зниження на 16,7 % приживлюваності пересаджених ембріонів проти 50 % у контролі та II дослідній групі.

Отже, на 7-й день статевого циклу в піддослідних реципієнтів, яким у період стимуляції статевого збудження аналогом простагландину $F_{2\alpha}$, вводили 40 %-ву глюкозу разом із вітамінами, спостерігається 50 % приживлюваність пересаджених ембріонів на фоні вірогідного зниження концентрації каротину та збільшення вмісту сечовини і загальних ліпідів, на що не вплинув рівень мінеральної підгодівлі.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Попередньою підготовкою самиць шляхом введення в раціон та в організм біологічно активних речовин можна провести корекцію обмінних процесів і регулюючих систем, щоб створити кращі умови для росту і розвитку доімплантаційних ембріонів та їхнього приживлення в репродуктивних органах і так підвищити ефективність штучного запліднення та трансплантації ембріонів. У зв'язку з цим, нині актуальним питанням залишається розробка методів, способів і створення преміксів на основі використання біологічно активних речовин, а також схем їхнього використання для підвищення ефективності біотехнологічних методів відтворення в різних геохімічних зонах і біохімічних провінціях.

Список використаної літератури

1. Баумане А. А. Стимуляция оплодотворения у коров / А. А. Баумане // Использование гормональных препаратов в животноводстве : тезисы докл. Всесоюз. науч.-техн. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения акад. М. М. Завадовского (пос. Дубровицы, Моск. обл. 1–2 окт. 1991 г.). – М. : [б. и.], 1991. – С. 122–123.
2. Влізло В. В. Ураження печінки у корів, хворих на кетоз / В. В. Влізло // Вісн. Білоцерків. держ. аграр. ун-ту : зб. наук. пр. – Біла Церква, 1997. – Вип. 2, Ч. 1. – С. 19–22.
3. Ермолаев Г. Ф. Обмен веществ у высокопродуктивных коров с субклиническим кетозом / Г. Ф. Ермолаев, В. С. Литвак, Т. В. Коломайчук, Г. Я. Савченко // Вет. наука производству. – 1990. – № 28. – С. 221–228.
4. Зверева Г. В. Некоторые показатели углеводного обмена в тканях молочной железы телок разного возраста в связи с гормональной функцией яичников / Г. В. Зверева, В. Н. Олексив, Д. Е. Качур // Тезисы докл. 8 Всесоюз. симпозиума по физиол. и биохимии лактации, посвящ. 100-летию со дня рожд. проф. Г. И. Азимова (Баку, 2–4 окт. 1990 г.). – М. : [б. и.], 1990. – Ч. 1. – С. 64–65.
5. Микроэлементозы сельскохозяйственных животных / [Н. А. Судаков и др.]; под ред. Н. А. Судакова. – Киев : Урожай, 1974. – 152 с.
6. Савойский А. Г. Адаптационное значение гликонеогенеза в организме больного животного / А. Г. Савойский // Моск. вет. акад. – М. : [б. и.], 1993. – С. 90–94.
7. Шевченко Л. А. Белковый состав крови супоросных свиной и их многоплодие / Л. А. Шевченко // Тр. Межвуз. науч. конф. по индив. развитию с.-х. животных. – Киев : [б. и.], 1966. – С. 302.
8. Bergman E. N. The pools cellular nutrients: glucose / E. N. Bergman // Dyn. Biochem. Anim. Prod. – Amsterdam, 1983. – P. 173–196.
9. Boryczko Z. Comparison of the hormonal and chemical composition of the fluid from bovine ovarian follicles and cysts / Z. Boryczko, H. Bostedt, B. Hoffmann // Reprod. Domest. Anim. – 1995. – Vol. 30, № 1. – P. 36–28.

10. Le Bars H. Interrelations entre glycogenese et lipogenese chez les ruminants / H. Le Bars // Bull. Acad. vet Fr. – 1991. – Vol. 64, № 2. – P. 193–206.
11. Merelles C. F. Beproductive performance and nutritional status of holtein cows in Brazil / C. F Merelles, D. M. S. S. Vitti, A. L. Abdalla // Livestock Reprod. Lat Amer. : Proc. Fin. Res. Co-ord Meet. FAO / IAEA / ARCA III Reg. Network Improv. Reprod. Manag. Meat-and Milk Prod. Livestok Lat. Amer. AID Radio-immunoassay (Bogota, 19–23 Sept., 1988). – Vienna, 1990. – P. 73–80.
12. Richards M. W. Relationships between plasma glucose and insulin, and anestrus in nutritionally restricted beef cows / M. W. Richards, R. P. Wettemman, H. M. Schoenemman // J. Anim. Sci. – 1987. – 65, Suppl 1. – P. 64.

Статтю подано до редколегії
06.09.2012 р.