

На правах рукописи

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Сергей Васильевич', with a date '12' written above it.

Белик Сергей Васильевич

**РАЗРАБОТКА СПОСОБОВ ПОВЫШЕНИЯ ОПЛОДОТВОРЯЕМОСТИ
КОРОВ В УСЛОВИЯХ МОЛОЧНЫХ КОМПЛЕКСОВ**

Специальность 06.02.06 – ветеринарное акушерство и биотехника
репродукции животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой
степени кандидата ветеринарных наук

Саратов – 2016

Работа выполнена в Федеральном государственном общеобразовательном учреждении высшего образования «Воронежский государственный аграрный университет им. Петра I»

Научный руководитель: доктор ветеринарных наук, доцент
Лободин Константин Алексеевич

**Официальные
оппоненты:**

Михалев Виталий Иванович,
доктор ветеринарных наук,
главный научный сотрудник лаборатории
болезней органов размножения и молочной
железы ГНУ Всероссийский НИВИ патологии,
фармакологии и терапии

Племяшов Кирилл Владимирович,
доктор ветеринарных наук, профессор,
заведующий кафедрой акушерства и оперативной
хирургии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургская
государственная академия ветеринарной
медицины»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение «Краснодарский научно-
исследовательский ветеринарный институт»

Защита диссертации состоится «26» мая 2016 года в 13-00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.01 на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова» по адресу: г. Саратов, ул. Соколова, д.335, учебный комплекс № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ» и на сайте sgau.ru

Отзывы направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г. Саратов, Театральная площадь, 1. E-mail: vetdust@mail.ru

Автореферат разослан «__» _____ 2016 года.



Ученый секретарь
диссертационного совета

Егунова Алла Владимировна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Максимальное использование потенциала воспроизводительной способности самок крупного рогатого скота относится к наиболее значимым условиям высокой рентабельности молочного скотоводства. Но условия, создаваемые промышленными технологиями разведения крупного рогатого скота, в большинстве случаев не отвечают эволюционно сложившимся физиологическим особенностям организма, что приводит к серьезным нарушениям функции полового аппарата (Авдеенко В.С., 1993; Нежданов А.Г. и др., 2008; Племяшов К.В., Моисеенко Д.О., 2010; Черемисинов Г.А., 1992;).

Проблема воспроизводства и профилактики бесплодия у молочных коров в условиях современных промышленных технологий содержания и эксплуатации, невзирая на имеющиеся значительные достижения в вопросах репродуктивной физиологии, распространена повсеместно и является одной из главных, стоящих перед работниками животноводства и учеными (Кузьмич Р.Г., Клименко А.С., 2014; Белобороденко А.М. и др., 2013, Гавриш В.Г., 2009; Лободин К.А., 2010).

Для решения этой проблемы, помимо нормализации условий содержания, кормления и эксплуатации, предлагается применять различные биологически активные препараты (гормональные, гомеопатические, витаминсодержащие и др.) и физическое воздействие (электростимуляция, виброакустический массаж, ультразвук, лазеропунктура и др.). Однако остаются до конца не выясненными как механизмы нарушения плодовитости, так и оптимальные способы ее коррекции (Никитин В.Я. и др., 2010; Конопельцев И.Г. и др. 2005; Черемисинов Г.А., 1975).

В этой связи выявление причин низкой плодовитости и разработка эффективных методов повышения оплодотворяемости и профилактики эмбриональной смертности у коров является актуальной задачей ветеринарного акушерства.

Степень разработанности проблемы. Проблеме нарушения воспроизводительной функции молочных коров посвящены работы Нежданова А.Г., Никитина В.Я., Черемисинова Г.А., Полянцева Н.И., Белобороденко А.М., Butler W.R., Lucy M.C., Garcia-Ispuerto, Шипилова В.С., и др. Роль эндокринного статуса животных при оценке состояния репродуктивной

функции коров раскрывается в исследованиях Лободина А.С. (1982); Радченкова В.П. с соавт. (1985); Туркова В.Г. (1993, 1996); Нежданова А.Г. с соавт. (1987; 1989; 1998; 2010; 2012) и др.

Значительное число научных работ посвящено изучению влияния на воспроизводительную функцию молочных коров различных биологически активных веществ. Однако среди ученых и практиков до сих пор нет единого мнения, как о механизмах действия, так и эффективности применения этих препаратов. Поэтому требуется не только дальнейшее изучение уже существующих методов повышения оплодотворяемости животных, но и разработка новых.

Цель и задачи исследований. Целью работы являлось определение причин снижения результативности осеменений коров и разработка оптимального способа повышения их плодовитости. В связи с этим к разрешению были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние сезона года, возраста и уровня продуктивности на оплодотворяемость и эмбриональную смертность молочных коров;
2. Определить динамику концентрации стероидных гормонов в крови коров на ранних сроках гестации и при бесплодии;
3. Установить взаимосвязь между показателями концентрации стероидных гормонов в крови коров и их воспроизводительной функцией;
4. На основании оценки влияния биологически активных препаратов на гормональный гомеостаз коров и их репродуктивную функцию разработать оптимальный способ повышения оплодотворяемости и профилактики эмбриональной смертности молочных коров.

Объект исследования. Лактирующие молочные коровы красно-пестрой породы с отсутствием клинических признаков заболеваний.

Предмет исследования. Методы повышения воспроизводительной функции коров. Кровь, эндокринный статус исследуемых животных. Эффективность применения препаратов хорулон, сурфагон, прогестерон 2,5 %, оварин и флуниксин меглумин для восстановления репродуктивной функции.

Научная новизна. Впервые с помощью современных методов исследования дана сравнительная оценка препаратов хорулон, сурфагон, прогестерон 2,5 %, оварин и флуниксин меглумин с точки зрения их влияния на гормональный гомеостаз и функционирование репродуктивной системы молочных коров. Впервые определено и научно обосновано влияние препарата флуниксин меглумина при парентеральном введении на 15-16 день после искусственного осеменения на воспроизводительную функцию коров красно-пестрой породы. Показана взаимосвязь сезона года, уровня молочной продуктивности и возраста коров красно-пестрой породы с оплодотворяемостью и частотой проявления у этих животных эмбриональной смертности.

Выявлено различие гормонального статуса коров с развивающейся беременностью и неоплодотворенных коров. Определена зависимость результативности искусственного осеменения животных от концентрации в их крови кортизола, прогестерона, тестостерона и эстрадиола.

Практическая значимость. На основании результатов проведенных сравнительных исследований предложена производству эффективная схема повышения оплодотворяемости и снижения эмбриональных потерь у коров для профилактики многократных безрезультатных осеменений в условиях ЦЧЗ.

Полученные материалы и практические предложения диссертации используются:

- ветеринарными специалистами в условиях производства в хозяйствах ЦФО (СХА племенной завод «Дружба», Павловский район Воронежской области; ООО «Биопродукт Агро», Жиздринский район Калужской области);

- в учебном процессе студентов и на курсах повышения квалификации ветеринарных специалистов в ФГБОУ ВО «Воронежский государственный аграрный университет им. Петра I»;

На основе результатов проведенных исследований подготовлены методические указания по оценке эффективности гормональных программ контроля за воспроизводством молочного скота.

Методология и методы исследования. Экспериментальные и клинические исследования выполнены на основе методики планирования экспериментов

способом создания опытных и контрольных групп коров по принципу аналогов. С целью оценки состояния органов половой системы использовали общепринятые в ветеринарии клинико-гинекологические методы исследования. При исследовании крови использовались морфологические и биохимические методы.

Раннюю диагностику стельности (на 19 день после искусственного осеменения) проводили путем определения концентрации прогестерона в крови методом иммуноферментного анализа. На 32 день стельность диагностировали методом ультразвуковой сонографии (с помощью линейного ректального датчика, работающего на частоте 7,5 МГц) и подтверждали на 60 день методом трансректальной пальпации.

Исследование в сыворотке крови концентрации кортизола, прогестерона, тестостерона и эстрадиола проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью готовых реактивов производства фирмы «Хема - Медика» на спектрофотометре «Униплан».

Проведение расчетов и обработка статистической информации производилось с помощью программ персонального компьютера «Microsoft Office Excel» и «ExStat».

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Влияние сезона года, возраста и уровня продуктивности на показатели репродуктивной функции молочных коров;
2. Динамика концентрации стероидных гормонов в крови коров на ранних сроках стельности и при бесплодии;
3. Гормональный статус здоровых коров и животных с внутриутробной гибелью зародыша;
4. Эффективность применения флуниксин меглума на 15-16 день после искусственного осеменения для повышения плодовитости коров красно-пестрой породы.

Степень достоверности, апробация и реализация результатов исследований. Основные положения, выводы и практические предложения, представленные в диссертации, соответствуют целям и задачам проведенного эксперимента. При проведении лабораторных исследований использовалось

современное сертифицированное оборудование. Достоверность результатов исследований подтверждается их статистической обработкой с помощью программы «ExStat».

Основные результаты диссертации доложены и обсуждены на: международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов по актуальным проблемам в АПК (Воронеж, 27-28 марта 2014г); международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы генетики и репродуктивной биологии животных» (Санкт-Петербург – Пушкин, 23–24 октября 2014г); научной и учебно-методической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства (Воронеж, 2015г).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 4 научные работы, из них 2 – в журналах, рецензируемых ВАК Минобрнауки РФ, общим объемом 2,5 печ. л., из них 1,1 печ. л. принадлежит лично соискателю.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 128 листах текста, набранного с помощью персонального компьютера. Работа содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследований, собственные исследования, обсуждение результатов собственных исследований, заключение, практические рекомендации и список литературы. В диссертацию включены 14 таблиц и 19 рисунков. Список литературы содержит 160 отечественных и 19 иностранных источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении дана краткая характеристика состояния проблемы низкого уровня воспроизводства и профилактики бесплодия у высокопродуктивных коров, обоснована актуальность темы, описана практическая значимость работы, сформулированы цель и задачи исследования, изложены основные положения, выносимые на защиту.

В первой главе приведен анализ литературы. Изложено современное представление о половом цикле у коров и механизмах его регуляции, описаны

факторы, влияющие на репродуктивную функцию молочных коров, рассмотрены различные способы и методы повышения оплодотворяемости молочных коров.

Во второй главе приведены сведения о материалах и методах проведенных экспериментальных, научно-производственного и лабораторных опытов. Научные исследования проводились в 2012-2015 гг. на кафедре акушерства и физиологии сельскохозяйственных животных Воронежского государственного аграрного университета им. императора Петра I, в научной лаборатории испытательного центра ГНУ Всероссийского НИВИ патологии, фармакологии и терапии, на базе племзавода «Дружба» Павловского района Воронежской области.

Подопытными животными служили коровы красно-пестрой породы со среднегодовой молочной продуктивностью 6-7 тыс. кг. Подбор животных проводился по принципу аналогов с учетом данных клинического обследования, физиологического состояния, возраста, продуктивности. Перед началом эксперимента все животные были подвергнуты тщательному акушерско-гинекологическому обследованию. Коровы с патологическими процессами в половых органах в опыт не включались.

Перед началом эксперимента у 10 коров было произведено взятие проб крови для определения некоторых морфологических и биохимических показателей. Установлено, что показатели крови исследуемых коров не выходят за пределы физиологических значений, что свидетельствует о сбалансированности рациона.

Экспериментальная часть исследования проводилась с июля по октябрь. Используя данные ветеринарного и зоотехнического отчетов о результатах хозяйственно-экономической деятельности племзавода «Дружба» за 2008-2013 гг., а также данные, полученные в ходе эксперимента, оценивали влияние сезона года, возраста и уровня молочной продуктивности на показатели репродуктивной функции высокопродуктивных молочных коров.

Диагностику стельности на 19 день после искусственного осеменения проводили методом определения в сыворотке крови содержания прогестерона. Стельными считались животные, у которых концентрация стероида была выше 12,7 нмоль/литр (≈ 4 нг/мл). На 32 день после осеменения стельность

диагностировали методом ультразвуковой сонографии (с помощью линейного ректального датчика, работающего на частоте 7,5 МГц) и подтверждали на 60 день методом трансректальной пальпации.

С целью оценки состояния системы гормонального гомеостаза коров, находящихся на ранних сроках гестации и при бесплодии, а так же для определения влияния различных биологически активных препаратов на концентрацию стероидных гормонов, выполнены исследования крови от 42 коров на содержание кортизола, прогестерона, тестостерона и эстрадиола.

Взятие крови производилось из подхвостовой вены на 7, 9, 15 и 19 дни после искусственного осеменения в спонтанную охоту. Исследование полученной из крови сыворотки проводилось методом иммуноферментного анализа с помощью готовых реактивов производства фирмы «Хема-Медика» на спектрофотометре «Униплан» при длине волны 450 нм.

Для оценки эффективности применения биологически активных препаратов с целью повышения воспроизводительной функции высокопродуктивного скота были проведены два экспериментальных опыта и один научно-производственный.

В первом опыте было сформировано пять групп по 5-8 коров в каждой. В опыт были включены как первично осемененные коровы, так и с многократными безрезультатными осеменениями. Животным первой группы (n=5) в день осеменения вводили сурфагон в дозе 5 мл/гол однократно внутримышечно. Коровам второй группы (n=5) был назначен препарат хорулон в дозе 1500 Ед/гол однократно внутримышечно на 5 день после искусственного осеменения. Животным третьей группы (n=5) вводили внутримышечно сурфагон в дозе 5 мл/гол на 12 день после искусственного осеменения. Коровам четвертой группы (n=8) назначили гомеопатический препарат оварин в дозе 5 мл/гол трехкратно внутримышечно на 2, 4, 6 дни после осеменения. Животным пятой группы (n=5) препараты не назначали, и они служили контролем. От всех коров на 19 день после осеменения в спонтанную охоту из подхвостовой вены была взята кровь для определения концентрации кортизола, прогестерона, тестостерона и эстрадиола.

Во втором опыте была дана оценка эффективности применения препарата, содержащего в виде действующего вещества флуниксин меглумин, -

неселективного ингибитора циклооксигеназ (ЦОГ) для повышения оплодотворяемости и профилактики эмбриональной смертности у молочных коров. Были сформированы три группы животных по 5-6 коров в каждой. Животным первой группы на 15-16 день после первичного осеменения внутримышечно вводили препарат флуниксин меглумина в виде раствора концентрацией 83 мг/мл в дозе 20 мл/гол. Коровам второй группы был назначен препарат прогестерон 2,5 % на 7 день после первичного осеменения в дозе 2 мл/гол внутримышечно. Животные третьей группы не подвергались воздействию препаратов и служили контрольной группой.

С целью оценки влияния препаратов флуниксин меглумина и прогестерон 2,5 % на эндокринный статус коров, была взята кровь на 19 день после искусственного осеменения, получена сыворотка и определена в ней концентрация стероидных гормонов.

Полученные в ходе экспериментальных исследований данные стали основой научно-производственного опыта, выполненного с целью сравнительной оценки влияния препаратов хорулон и флуниксин меглумина на воспроизводительную функцию клинически здоровых коров при первичном осеменении. Были сформированы три группы животных по 50 коров в каждой. Животным первой группы был назначен препарат хорулон на 5 день после искусственного осеменения в дозе 1500 Ед/гол однократно внутримышечно. Коровам второй группы вводили препарат флуниксин меглумина на 15-16 день после искусственного осеменения в дозе 20 мл/гол однократно внутримышечно. Животные третьей группы служили контролем, поэтому препараты им не назначались.

За всеми животными был установлен тщательный контроль на протяжении 5 месяцев. Учитывали оплодотворяемость, процент эмбриональной смертности, коэффициент оплодотворения и продолжительность бесплодия. Процент эмбриональной смертности рассчитывали исходя из разницы между количеством животных, имеющих на 19 день после осеменения в крови концентрацию прогестерона выше 12,7 нмоль/литр и количеством коров со стельностью,

подтвержденной на 60 день после осеменения методом трансректальной пальпации.

Материалы полученных данных обрабатывали методом вариационной статистики на персональном компьютере с использованием «Microsoft Excel» и «ExStat».

В третьей главе представлены результаты собственных исследований. В разделе «Влияние сезона года, возраста и уровня молочной продуктивности на показатели репродуктивной функции коров красно-пестрой породы» рассмотрена взаимосвязь показателей плодовитости животных с различными факторами.

Установлено, что оплодотворяемость коров постепенно достоверно ($P \leq 0,01$) снижается с максимального значения $56,9 \pm 3,9$ % в январе до минимального значения $31,0 \pm 4,5$ % в августе на 25,9 %. Затем, уровень оплодотворяемости с сентября ($31,2 \pm 4,7$ %) по декабрь ($53,5 \pm 2,8$ %) стремительно достоверно ($P \leq 0,01$) повышается в 1,6 раза. Такая динамика связана с температурным стрессом, который испытывают животные в летние жаркие месяцы.

Следовательно, климатический фактор оказывает значительное влияние на уровень оплодотворяемости. А одним из путей улучшения воспроизводства стада в молочном скотоводстве является осуществление комплекса зооветеринарных мероприятий, направленных на снижение стрессового воздействия высокой температуры на организм животных.

С целью диагностики гибели эмбриона в крови 42 животных определили концентрацию прогестерона на 19 день после искусственного осеменения. Из них 23 коровы осеменялись первично (первая группа), а у 19 наблюдались многократные безрезультатные осеменения (вторая группа). Выявлено, что при одинаковой оплодотворяемости к 19 дню у животных обеих групп, уровень эмбриональной смертности у коров первой группы составлял 47,1 %, что в 1,4 раза меньше, чем у животных второй группы (64,3 %). Следовательно, причиной многократных безрезультатных осеменений исследуемых животных является не их низкая оплодотворяемость, а высокий уровень эмбриональной смертности на ранних сроках гестации.

Показана степень распространения эмбриональных потерь у коров разных возрастных групп и при различной молочной продуктивности. Установлена обратная корреляционная зависимость между возрастом животных и уровнем эмбриональной смертности у них (-0,98), а также прямая корреляционная зависимость частоты эмбриональных потерь от уровня молочной продуктивности (+0,97). Таким образом, наиболее частое проявление данной патологии гестации отмечается у коров первой-второй лактации и при их молочной продуктивности более 7000 кг.

В разделе «Изменение концентрации стероидных гормонов в крови коров на ранних сроках гестации и при бесплодии» представлены результаты исследования крови на содержание стероидных гормонов (кортизол, прогестерон, тестостерон и эстрадиол), а также результаты теста на стельность. Взятие крови производилось на 7, 9, 15 и 19 дни после искусственного осеменения.

Из данных таблицы 1 следует, что для нестельных коров характерна более низкая концентрация гормонов во все дни исследования в сравнении со стельными животными (исключением стало содержание кортизола на 15 день).

Таблица 1 - Динамика изменения концентрации в крови гормонов стельных и бесплодных животных.

Гормон, нмоль/л		День взятия крови после осеменения			
		7	9	15	19
Кортизол	стел.	48,6±10,4**	28,4±8,4	20,4±2,8	36,8±4,6
	беспл.	14,7±3,2	16,3±2,1	23,8±6,1	27,7±8,4
Прогестерон	стел.	9,5±1,8	22,1±4,1**	14,4±1,7**	13,5±1,5***
	беспл.	6,6±1,5	3,7±1,5	7,3±0,8	1,9±0,1
Тестостерон	стел.	0,83±0,06	0,87±0,07	0,78±0,04	0,88±0,05
	беспл.	0,70±0,04	0,81±0,04	0,73±0,03	0,86±0,11
Эстрадиол	стел.	0,76±0,17**	0,62±0,21	0,52±0,14	0,63±0,16*
	беспл.	0,16±0,01	0,31±0,05	0,28±0,07	0,27±0,06

* - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

У бесплодных коров с 7 по 19 день наблюдается плавное стабильное повышение концентрации кортизола в крови с $14,7 \pm 3,2$ до $27,7 \pm 8,4$ нмоль/л (в 1,9 раз). У стельных животных концентрация кортизола на 7 день была максимальной ($48,6 \pm 10,4$ нмоль/л). К 15 дню она достоверно снизилась в 2,4 раза (до $20,4 \pm 2,8$ нмоль/л, $P \leq 0,05$) и затем, к 19 дню, достоверно повысилась в 1,8 раз (до $36,8 \pm 4,6$ нмоль/л, $P \leq 0,01$).

Установлены также существенные достоверные ($P \leq 0,01$) различия в динамике изменения концентрации прогестерона в сыворотке крови стельных и неоплодотворившихся животных. Так, на 7 день после осеменения содержание прогестерона в крови стельных коров находилось на минимальном уровне $9,5 \pm 1,8$ нмоль/л (но на 30,5 % больше, чем у неоплодотворившихся коров). Затем к 9 дню его количество достоверно возрастает в 2,3 раза ($P \leq 0,05$) и достигает максимального значения $22,1 \pm 4,1$ нмоль/л, что достоверно ($P \leq 0,01$) в 6 раз выше, чем у нестельных животных. Концентрация прогестерона на 19 день взятия крови у стельных коров равнялась $13,5 \pm 1,5$ нмоль/л, а у неоплодотворившихся – всего лишь $1,9 \pm 0,10$ нмоль/л. Так, достоверная разница ($P \leq 0,001$) в концентрации прогестерона в крови на 19 день между беременными и нестельными коровами составила 7,1 раза.

Изменения концентрации тестостерона в крови стельных и нестельных животных имеют сходную направленность. На 7 и 15 дни наблюдалось низкое значение концентрации этого гормона ($0,70 \pm 0,04$ и $0,73 \pm 0,03$ нмоль/л соответственно), а повышалось к 9 и 19 дням ($0,81 \pm 0,04$ и $0,86 \pm 0,11$ нмоль/л). У стельных коров каждое из значений этого гормона превышает значение аналогичного дня у нестельных животных на 0,02-0,13 нмоль/л.

Более низкая концентрация тестостерона в крови бесплодных коров, в сравнении со стельными животными, может свидетельствовать о гипофункциональном состоянии сетчатой зоны коркового слоя надпочечных желез, так как именно она является местом синтеза половых стероидов в надпочечниках.

Анализ концентрации эстрадиола показал, что у стельных коров концентрация этого гормона на 7 день наоборот была максимальной

($0,76 \pm 0,17$ нмоль/л), что в 4,75 раза достоверно больше, чем у нестельных животных ($P \leq 0,05$). К 15 дню содержание эстрадиола постепенно снижалось до $0,52 \pm 0,14$ нмоль/л (что в 1,86 раза больше аналогичного показателя у нестельных коров, который равнялся $0,28 \pm 0,07$ нмоль/л). А на 19 день у стельных животных концентрация данного гормона увеличилась до $0,63 \pm 0,16$ нмоль/л (на 21,2 %) и достоверно превышала аналогичный показатель у нестельных коров в 2,3 раза ($P \leq 0,05$).

Таким образом, концентрация прогестерона и эстрадиола у нестельных животных в среднем на момент каждого дня взятия крови была достоверно ниже, чем у стельных, в 3 ($P \leq 0,01$) и 2,5 раза ($P \leq 0,001$) соответственно. Средняя концентрация тестостерона и кортизола у нестельных животных была на 8 и 38,5 % ниже, чем у стельных.

Различия в динамике изменения концентраций тестостерона и эстрадиола у стельных и нестельных коров позволяют сделать предположение о нарушении процессов ароматизации тестостерона в текальных структурах фолликулов неоплодотворившихся животных.

Установлено, что формирование стельности происходит на фоне активизации биосинтеза стероидных гормонов. А низкий уровень содержания в крови животных кортизола, прогестерона, тестостерона и эстрадиола на ранних сроках гестации указывают на нарушение эндокринной функции надпочечников и половых желез.

Предположительно, нормализация эндокринного статуса животных на этапе формирования беременности может способствовать повышению их оплодотворяемости и снижению эмбриональной смертности.

В разделе «Изменение концентрации стероидных гормонов в крови коров в зависимости от их возраста» приведены данные содержания стероидных гормонов в сыворотке крови коров разного возраста на 7-9 и 15-19 дни после осеменения. Выявлено, что для коров 1-2 отелов характерны более высокий уровень содержания кортизола на 7-9 день (в 1,37 раза), а также эстрадиола на 7-9 и 15-19 дни после осеменения (в 1,42-1,66 раза) в сравнении с животными 3 и более отела, у которых наблюдалась более высокая концентрация прогестерона и тестостерона

на 7-9 и 15-19 дни исследования крови (в 1,12-1,37 и в 1,18-1,22 раза соответственно).

В разделе «Изменение концентрации стероидных гормонов в крови коров с нормально протекающей беременностью и коров с погибшим эмбрионом» описан в сравнительном аспекте гормональный статус животных с нормально протекающей беременностью и с наступившей внутриутробной гибелью эмбриона. Выяснили, что гормональный статус коров с эмбриональной смертностью характеризовался гипопрогестероно- и гипоандрогемией, а также гиперэстрогемией. Концентрация прогестерона в сыворотке их крови по сравнению с животными с развивающейся беременностью была ниже в 1,56 раза, тестостерона – в 1,27 раза, а эстрадиола – выше в 1,45 раза.

В разделе «Влияние биологически активных препаратов на показатели концентрации стероидных гормонов в крови коров и их репродуктивную функцию» описаны данные первого опыта. Его суть заключалась в проведении сравнительной оценки эффективности применения препаратов сурфагон, хорулон и оварин для оптимизации эндокринного статуса, повышения оплодотворяемости и профилактики эмбриональной смертности у молочных коров.

Было сформировано пять групп по 5-8 коров (как первично осемененных, так и с многократными безрезультатными осеменениями). Животным первой группы (n=5) в день осеменения вводили сурфагон в дозе 5 мл/гол однократно внутримышечно. Коровам второй группы (n=5) был назначен препарат хорулон в дозе 1500 Ед/гол однократно внутримышечно на 5 день после искусственного осеменения. Животным третьей группы (n=5) вводили внутримышечно сурфагон в дозе 5 мл/гол на 12 день после искусственного осеменения. Коровам четвертой группы (n=8) назначили оварин в дозе 5 мл/гол трехкратно внутримышечно на 2, 4, 6 дни после осеменения. Животным пятой группы (n=5) препараты не назначали, и они служили контролем.

Коэффициент оплодотворения во всех группах существенно различался и находился в пределах от 1,3 до 6,0. Продолжительность бесплодия колебалась от $105 \pm 22,9$ до $144 \pm 6,3$ дней.

Наилучшие показатели оплодотворяемости (100 %) и коэффициент оплодотворения (1,3), а также наименьшие эмбриональную смертность (20 %) и продолжительность бесплодия ($105 \pm 22,9$ дней) наблюдали у животных в группе, которой назначали хорулон. Наименьшее количество стельных коров ко второму месяцу (20 %), наиболее высокий коэффициент оплодотворения (6,0) и самая высокая эмбриональная смертность (75 %) выявлена в контрольной группе. Оплодотворяемость животных в других группах составляла в среднем $79 \pm 1,3$ %, средний уровень эмбриональной смертности был равен 50 %, продолжительность бесплодия в среднем равнялась $140 \pm 6,2$ дням, а коэффициент оплодотворения составлял от 3,0 до 3,3. Причем для всех групп выявляется обратная корреляционная зависимость между оплодотворяемостью и эмбриональной смертностью (-0,77).

Таким образом, назначение хорулона привело к повышению оплодотворяемости в сравнении с контрольной и другими экспериментальными группами на 20 – 25 %, увеличению количества стельных на 2 месяц после искусственного осеменения коров на 40 – 60 %, снижению эмбриональной смертности на 25 – 55 %, коэффициента оплодотворяемости на 1,7 - 4,7 и сокращению продолжительности бесплодия на 24 - 39 дней.

Таблица 2 - Влияние различных биологически активных препаратов на показатели концентрации стероидных гормонов в сыворотке крови коров.

Группа	Препарат	Гормон, нмоль/л			
		Кортизол	Прогестерон	Тестостерон	Эстрадиол
1	Сурфагон в день и. о.	$27,8 \pm 6,1^{***}$	$15,1 \pm 0,6^{**}$	$0,64 \pm 0,03^{**}$	$0,66 \pm 0,29$
2	Хорулон	$30,0 \pm 3,5^{***}$	$21,7 \pm 5,9^*$	$1,20 \pm 0,25$	$0,52 \pm 0,14$
3	Сурфагон на 12 день после и.о.	$23,4 \pm 2,0^{***}$	$9,4 \pm 1,8$	$0,76 \pm 0,03$	$0,32 \pm 0,08$
4	Оварин	$40,7 \pm 11,6^*$	$12,7 \pm 2,4$	$0,87 \pm 0,05$	$0,64 \pm 0,19$
5	Контроль	$13,8 \pm 0,25$	$7,5 \pm 1,5$	$0,81 \pm 0,04$	$0,45 \pm 0,15$

* - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

В таблице 2 приведены значения концентрации стероидных гормонов в сыворотке крови 31 коровы, у которых была определена стельность на 19 день.

Установлена определенная корреляционная зависимость между содержанием стероидных гормонов и уровнем эмбриональной смертности. Так, для прогестерона и тестостерона выявлена сильная (-0,92 и -0,71 соответственно), для кортизола – средняя (-0,55), а для эстрадиола – слабая (-0,16) обратная корреляционная зависимость.

Среднее значение концентрации кортизола в группах, где применяли сурфагон и хорулон, в сравнении с контрольной группой, достоверно возросло в среднем на 49 % ($P \leq 0,001$). А в группе, где был назначен оварин, наблюдается значительное достоверное повышение концентрации кортизола в 2,95 раз ($P \leq 0,05$). Полученные данные свидетельствуют об активизации функции надпочечниковых желез и повышении уровня адаптационных механизмов и резистентности организма животных при введении препаратов.

Анализ показателей концентрации прогестерона показал, что введение препаратов хорулон на 5 день после осеменения и сурфагон в день осеменения сопровождалось достоверным подъемом концентрации стероида в 2,9 ($P \leq 0,05$) и 2 раза ($P \leq 0,01$) по сравнению с контрольной группой. Введение сурфагона на 12 день после осеменения и оварина сопровождалось менее значительным подъемом концентрации прогестерона в крови коров (на 25,3 и 40,9 % соответственно).

Таким образом, введение всех назначенных препаратов способствовало активизации функции желтого тела и, вероятно, прогестероносинтезирующих элементов надпочечников.

При изучении показателей концентрации тестостерона выявили, что в группе, где применялся хорулон, она возросла в 1,48 раза. А в группе, где применяли сурфагон в день осеменения, достоверно снизилась на 21 % ($P \leq 0,01$). Колебания уровня концентрации этого стероида при применении других средств были незначительны. Инъекция хорулона спровоцировала активизацию функции сетчатой зоны коркового слоя надпочечных желез и интерстициальных клеток яичников.

Анализ содержания эстрадиола показал, что у животных групп, в которых применяли сурфагон в день осеменения, хорулон и оварин, концентрация данного гормона повысилась по сравнению с контрольной группой на 47, 16 и 42 % соответственно. А у коров, которым применяли сурфагон на 12 день после искусственного осеменения, произошло снижение концентрации эстрадиола на 29 %. Введение сурфагона в день осеменения, хорулона и оварина повысило гормоносинтезирующую функцию яичников.

Предположительно, низкий эндокринный фон (гипокортизолемиа и гипопрогестеронемиа) у коров контрольной группы не обеспечил сохранение беременности и оказался причиной повышения уровня эмбриональной смертности.

Таким образом, парентеральное введение коровам после осеменения препаратов гонадотропного действия (сурфагон, хорулон, оварин) активизирует функциональную активность половых и надпочечниковых желез, что приводит к повышению концентрации в крови прогестерона в 1,69-2,89 раза, эстрадиола – в 1,16-1,47 раза, кортизола – 2,00-2,95 раза, снижению эмбриональной смертности на 25-55 %. Наиболее выраженная реакция со стороны яичников и всей воспроизводительной системы коров зарегистрирована на воздействие препарата хорулон.

В разделе «Влияние флуниксин меглумина на воспроизводительную функцию и эндокринный статус молочных коров» рассмотрены результаты второго опыта, в котором проводилась оценка эффективности применения неселективного ингибитора циклооксигеназ с целью повышения оплодотворяемости и профилактики эмбриональной смертности у коров при первичном осеменении. Были созданы три группы по 5-6 коров в каждой. Животным первой группы на 15-16 день после осеменения внутримышечно вводили препарат флуниксин меглумина в виде раствора концентрацией 83 мг/мл в дозе 20 мл/гол. Животным второй группы был назначен препарат прогестерон 2,5 % на 7 день после осеменения в дозе 2 мл/гол внутримышечно. Животные третьей группы не подвергались воздействию препаратов и служили контрольной группой.

Наиболее высокие показатели воспроизводительной функции отмечены у животных первой группы, которым назначали препарат флуниксин меглумина. Коэффициент оплодотворяемости животных этой группы был на 0,66 и 2,83 меньше, чем у коров второй и третьей групп. Результативность первичного осеменения возросла в сравнении со второй и третьей группой на 7 и 20 %, а общая оплодотворяемость повысилась на 10 и на 20 % соответственно. Продолжительность бесплодия удалось уменьшить на 16 и 24 дня соответственно.

С целью оценки влияния препаратов флуниксин меглумина и прогестерон 2,5 % на эндокринный статус коров была определена концентрация стероидных гормонов в крови на 19 день после осеменения.

Установили, что назначение коровам препарата флуниксин меглумина и прогестерон 2,5 % способствовало достоверному повышению концентрации кортизола в 4,35 ($P \leq 0,001$) и 1,71 ($P \leq 0,05$) раза соответственно (табл. 3). Следовательно, можно предположить, что назначение обоих препаратов способствовало повышению уровня адаптационных систем и резистентности организма за счет стимуляции функциональной активности надпочечников.

Таблица 3 - Влияние препаратов флуниксин меглумина и прогестерон 2,5 % на концентрацию стероидных гормонов в крови коров.

Группа	Препарат	Гормон, нмоль/л			
		Кортизол	Прогестерон	Тестостерон	Эстрадиол
1	Флуниксин	61,4±6,6***	9,8±3,2	1,05±0,17	0,36±0,06
2	Прогестерон 2,5%	24,1±4,3*	4,2±2,3	0,82±0,04	0,23±0,06
3	Контроль	14,1±0,3	6,4±1,6	0,82±0,03	0,39±0,13

* - $P \leq 0,05$; ** - $P \leq 0,01$; *** - $P \leq 0,001$

В первой группе наблюдается повышение уровня содержания прогестерона на 53,1 %, а во второй группе произошло снижение концентрации этого гормона на 34,4 % в сравнении с контрольной группой. Вероятно, введение препарата флуниксин меглумина за счет блокады синтеза простагландинов маткой способствовало повышению функциональной активности желтого тела.

Уровень концентрации тестостерона в группе, где применяли флуниксин меглумина, увеличился на 28 %, а во второй группе этот показатель остался равным с контрольной группой. Можно предположить, что влияние

неселективного ингибитора циклооксигеназ способствовало повышению функциональной активности сетчатой зоны коркового слоя надпочечных желез и интерстициальных клеток яичников.

В первой группе произошло незначительное уменьшение (на 7,7 %) содержания эстрадиола, в то время как в группе, где применялся прогестерон 2,5 %, обнаружили более значительное его снижение (на 41 %) по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, применение на 15-16 день после осеменения препарата флуниксин меглумина сохраняет высокий уровень концентрации в крови прогестерона (выше контрольных животных в 1,53 раза), тестостерона (выше в 1,28 раз), резко повышает активность надпочечников и содержание кортизола увеличивается в 4,35 раза, что клинически проявляется повышением оплодотворяемости животных в 1,5 раза.

В разделе «Сравнительная оценка эффективности применения препаратов хорулон и флуниксин меглумина на показатели воспроизводительной способности молочных коров» представлены результаты научно-производственного опыта, в ходе которого были сформированы три группы животных по 50 коров в каждой. Животным первой группы был назначен препарат хорулон на 5 день после первичного осеменения в дозе 1500 Ед/гол однократно внутримышечно. Коровам второй группы вводили препарат флуниксин меглумина на 15-16 день после первичного осеменения в дозе 20 мл/гол однократно внутримышечно. Животные третьей группы служили контролем, поэтому препараты им не назначались.

Было выявлено (табл. 4), что оплодотворяемость коров от первого осеменения в группе, где применялся флуниксин меглумин, была на 2 % больше, чем в первой группе, и на 10 % больше, чем в группе контроля. Общая оплодотворяемость животных, которым вводили ингибитор циклооксигеназ, была больше на 4 %, чем у животных группы, где применялся хорулон, и на 14 % больше, чем у контрольных животных. У животных, которым назначили флуниксин меглумин, коэффициент оплодотворения был на 0,40 меньше по сравнению с первой группой и на 1,13 меньше по сравнению с контрольной. Продолжительность бесплодия в группе, где применяли флуниксин меглумин,

была на 6 дней меньше, чем в группе, где был назначен хорулон, и на 21 день меньше, чем в контрольной группе.

Таблица 4 - Сравнительная оценка эффективности применения препаратов хорулон и флуниксин меглумина для повышения воспроизводительной способности коров.

Группа	Препарат	Кол-во Животных, n	Оплодотворяемость				Коэффициент оплодотворения	Продолжительность бесплодия, дн.
			после 1 осем-я		общая			
			n	%	n	%		
1	Хорулон	50	27	54	43	86	2,11	109±2,34
2	Флуниксин	50	28	56	45	90	1,71	103±5,62
3	Контроль	50	23	46	38	76	2,84	124±6,18

Таким образом, для улучшения показателей оплодотворяемости, коэффициента оплодотворения и продолжительности бесплодия препарат флуниксин меглумина проявил себя более эффективно по сравнению с препаратом хорулон. Назначение препарата флуниксин меглумина в дозе 20 мл/гол на 15-16 день приводит к активизации гормоносинтезирующей функции надпочечников и гонад, что клинически проявляется повышением оплодотворяемости от первого осеменения на 10 %, общей оплодотворяемости – на 14 %, а также сокращению продолжительности бесплодия на 21 день и снижению коэффициента оплодотворения на 1,13.

В разделе «Экономическая эффективность применения биологически активных препаратов для повышения воспроизводительной функции» приведены расчеты, свидетельствующие, что с помощью применения препаратов хорулон и флуниксин меглумина возможно сократить экономический ущерб по сравнению с контрольной группой соответственно на 3 425 и 5 113 рублей из расчета на 1 животное.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. При полноценном кормлении высокопродуктивных коров, обеспечивающем морфобиохимический гомеостаз их организма в пределах

физиологических нормативов, клинически регистрируемая их оплодотворяемость от первого осеменения в среднем составляет 44,6 % и находится под влиянием сезонных климатических факторов. Наивысшие показатели (53,5 - 56,9 %) регистрируются в декабре - январе, а минимальные (31,0 - 31,2 %) – в августе - сентябре.

2. При диагностике беременности у коров путем определения в сыворотке крови концентрации прогестерона на 19 день после осеменения показатель оплодотворяемости составляет 73,8 %, а к 60 дню беременность выявляется у 33,3 % животных, что связано с внутриутробной гибелью зародыша, достигающей в среднем 54,8 %. Наибольшее проявление данной патологии гестации отмечается у коров первой-второй лактации и при их молочной продуктивности более 7000 кг.

3. Процесс формирования беременности у животных контролируется как половыми, так и кортикостероидными гормонами. У оплодотворившихся коров, в сравнении с неоплодотворенными, период бластогенеза характеризовался более высоким уровнем концентрации в сыворотке крови прогестерона (выше в 1,44-5,97 раза), эстрадиола (выше в 4,75-1,86 раза) и кортизола (выше в 3,3 – 1,7 раза).

4. Гормональный статус коров с внутриутробной гибелью зародыша характеризовался гипопрогестероно- и гипоандрогемией, а также гиперэстрогемией. Концентрация прогестерона в сыворотке их крови по сравнению с животными с развивающейся беременностью была ниже в 1,56 раз, тестостерона – в 1,27 раз, а эстрадиола – выше в 1,45 раза.

5. Парентеральное введение коровам после осеменения препаратов гонадотропного действия (сурфагон, хорулон, оварин) активизирует функциональную активность половых и надпочечниковых желез, что приводит к повышению концентрации в крови прогестерона в 1,69-2,89 раза, эстрадиола – в 1,16-1,47 раза, кортизола – 2,00-2,95 раза, снижению эмбриональной смертности на 25-55 %. Наиболее выраженная реакция со стороны яичников и всей воспроизводительной системы коров зарегистрирована на воздействие препарата хорулон.

6. Внутримышечное введение на 15-16 день после осеменения препарата флуниксин меглумина – ингибитора синтеза простагландинов, контролирующих

лютеолизис желтого тела, сохраняет высокий уровень концентрации в крови прогестерона (выше контрольных животных в 1,53 раза), тестостерона (выше в 1,28 раз), резко повышает активность надпочечников и содержание кортизола увеличивается в 4,35 раза, что клинически проявляется повышением оплодотворяемости животных в 1,5 раза.

7. В научно-производственном опыте препараты хорулон и флуниксин меглумина обеспечили повышение оплодотворяемости коров соответственно на 10 и 14 %, снижение коэффициента оплодотворяемости на 0,73 и 1,13 и продолжительности бесплодия на 15 и 21 день. Экономический эффект из расчета на 1 рубль затрат при использовании хорулона составил 11,4 рубля, а флуниксин меглумина – 49,6 рубля.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для профилактики ранней эмбриональной смертности и повышения плодовитости молочных коров рекомендуется использовать:

- препарат флуниксин меглумина в дозе 20 мл/гол на 15-16 день после искусственного осеменения однократно внутримышечно;

- препарат хорулон в дозе 1500 Ед/гол на 5 день после искусственного осеменения однократно внутримышечно.

2. Научные положения, изложенные в диссертации, использовать при написании методических указаний и учебных пособий по курсам ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения, эндокринология, физиология.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Изучить влияние назначения неселективного ингибитора циклооксигеназ флуниксин меглумина и препарата хорулон молочным коровам, находящимся на ранних сроках стельности, на жизнеспособность их молодняка и его воспроизводительную функцию.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ, В КОТОРЫХ ОТРАЖЕНЫ ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Статьи, опубликованные в ведущих рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Министерства образования и науки РФ:

1. Белик, С.В. Изменение концентрации стероидных гормонов в крови коров на ранних сроках гестации и при бесплодии / С.В. Белик, К.А. Лободин, З.Г.К. Аль-Рикаби // Естественные и технические науки. – 2015. - № 6 (84). – С. 173-175.
2. Белик, С.В. Эффективность применения НПВС для профилактики эмбриональной смертности у молочных коров / С.В. Белик, З.Г.К. Аль-Рикаби, К.А. Лободин, // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. - 2014. - № 3. – С.25-26.

Статьи, опубликованные в журналах, сборниках научных трудов и материалах конференций

3. Белик, С.В. Влияние паратипических факторов на оплодотворяемость высокопродуктивных молочных коров / С.В. Белик // Инновационные технологии и технические средства для АПК: материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов ФГБОУ ВПО Воронежский ГАУ.– Воронеж, 2014. - Ч.II. - С. 3-7.
4. Белик, С.В. Эффективность применения НПВС для решения проблемы эмбриональной смертности у молочных коров в современных условиях / С.В. Белик // актуальные вопросы ветеринарной медицины и технологии животноводства: материалы научной и учебно-методической конференции профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов факультета ветеринарной медицины и технологии животноводства. – Воронеж, 2015. – Выпуск 4. - С. 3-6.