

ПРИМЕНЕНИЕ МОЛЕКУЛЯРНОГО ВОДОРОДА В ИСКУССТВЕННОМ ОСЕМЕНЕНИИ КОРОВ

Марина Николаевна Иващенко^{1,2}, кандидат биологических наук

Анна Вячеславовна Дерюгина¹, доктор биологических наук

Андрей Александрович Белов^{1,2}, кандидат биологических наук

Алексей Иванович Ерзутов²

Владимир Александрович Петров², аспирант

¹ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет имени Н.И. Лобачевского»,
г. Нижний Новгород, Россия

²ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный агротехнологический университет имени Л.Я. Флорентьева»,
г. Нижний Новгород, Россия
E-mail: kafedra2577@mail.ru

Аннотация. Провели исследование результативности искусственного осеменения черно-пестрых коров второй лактации спермой, содержащей молекулярный водород. Было сформировано две группы животных по принципу групп-аналогов (контрольная и опытная), по 50 гол. в каждой. Коров контрольной группы осеменяли спермой, замороженной в среде BioXcell, животных опытной – спермой, замороженной в среде BioXcell с молекулярным водородом. Для оценки исходного функционального состояния организма перед началом опыта провели клиническое и комплексное акушерско-гинекологическое обследование. Коров осеменяли групповым методом, синхронизируя половую охоту по схеме «Овсинх». Эффективность осеменения устанавливали на основе данных ректального УЗИ исследования на 35 и 90 сутки после осеменения. Полученные результаты показали, что использование молекулярного водорода в составе среды для разбавления семени позволяет повысить оплодотворяющую способность спермы быков и увеличить процент стельности коров при искусственном осеменении.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, молекулярный водород, сперматозоиды, криоконсервирование, искусственное осеменение

APPLICATION OF MOLECULAR HYDROGEN IN ARTIFICIAL INSEMINATION OF COWS

M.N. Ivashchenko^{1,2}, *PhD in Biological Sciences*

A.V. Deryugina¹, *Grand PhD in Biological Sciences*

A.A. Belov^{1,2}, *PhD in Biological Sciences*

A.I. Erzutov²

V.A. Petrov², *PhD Student*

¹National Research Nizhny Novgorod State University named after N.I. Lobachevsky, Nizhny Novgorod, Russia

²Nizhny Novgorod State Agrotechnological University named after L.I. Florentyev, Nizhny Novgorod, Russia
E-mail: kafedra2577@mail.ru

Abstract. The paper evaluates the effectiveness of artificial insemination of cows with sperm containing molecular hydrogen. The study was conducted on black-and-white cows of the second lactation. Two groups of animals were formed according to the principle of analog groups (control and experimental), with 50 heads each. The cows of the control group were inseminated with sperm frozen in a BioXcell medium, and the animals of the experimental group were inseminated with sperm frozen in a BioXcell medium with molecular hydrogen. To assess the initial functional state of the body, clinical studies and a comprehensive obstetric and gynecological examination were conducted before the start of the experiment. Insemination of cows was carried out by a group method by synchronizing sexual hunting according to the “Ovsinh” scheme. The effectiveness of insemination was evaluated on the basis of rectal ultrasound examination data on days 35 and 90 after insemination. The obtained results showed that the use of molecular hydrogen in the composition of the medium for diluting the seed makes it possible to increase the fertilizing ability of bull sperm and increase the percentage of pregnancy of cows during artificial insemination. Thus, the inclusion of molecular hydrogen in the composition of the solution for diluting the semen of cattle is advisable.

Keywords: cattle, molecular hydrogen, spermatozoa, cryopreservation, artificial insemination

Искусственное осеменение – один из путей повышения продуктивности животных. Благодаря ему получены высокие результаты в развитии скотоводства, но работа по улучшению необходимых для отрасли производственно-хозяйственных признаков животных продолжается. [1, 5, 6, 10]

Эффективность искусственного осеменения зависит от успешности криоконсервирования спермы, так как большое количество сперматозоидов теряют фертильность после замораживания и оттаивания. [5, 6, 8] Одна из основных причин повреждения сперматозоидов в результате криоконсервирования – окислительный стресс. Образующиеся в цикле замораживания

и оттаивания активные формы кислорода способствуют активации перекисного окисления липидов, инактивации белков, повреждению ДНК. [1–3]

Усовершенствование методик позволит решить проблемы, связанные со снижением качества спермы после цикла замораживания и оттаивания. В предыдущих наших исследованиях доказано положительное влияние молекулярного водорода на кинетику, морфологию, состояние окислительного, энергетического гомеостаза сперматозоидов крупного рогатого скота. [4]

Цель работы – оценка результативности искусственного осеменения коров спермой, содержащей молекулярный водород.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на базе кафедры «Физиология, биохимия животных и акушерство» Нижегородского агротехнологического университета имени Л.Я. Флорентьева и в лаборатории ООО «Нижегородское» по племенной работе.

Объект изучения – *черно-пестрые* коровы второй лактации. Было сформировано две группы животных по принципу групп-аналогов (контрольная и опытная), по 50 гол. в каждой.

Провели комплексное акушерско-гинекологическое обследование коров. Учитывали размеры и ригидность матки, наличие в яичниках фолликулов и желтых тел. Вагинальное исследование позволило оценить состояние слизистой оболочки преддверия влагалища, характеристики цервикальной слизи и наличие патологических изменений.

Осеменение коров осуществляли групповым методом, синхронизируя половую охоту по схеме «Овсинх». Схему начинали с 50...57 дн. после отела. Первоначально проводили внутримышечно инъекцию гонадолиберина (Сурфагон 50 мкг) на произвольной стадии цикла эструса, что способствовало овуляции и наступлению лютеиновой фазы. Через 7 дн. внутримышечно вводили простагландин F_{2α} (Эстрофан 2 мл) для регресса желтого тела, через 48 ч – гонадолиберин (Сурфагон 50 мкг) для овуляции нового доминантного фолликула. На 9 день наступала половая охота. Через 24 ч (на 10 день) – искусственное оплодотворение (осеменение).

Сравнивали результативность искусственного осеменения коров спермой, криоконсервированной в усовершенствованной среде, содержащей молекулярный водород (опытная группа), с показателями оплодотворяемости, полученными при использовании спермы, замороженной в среде без молекулярного водорода (контрольная). Коров контрольной группы осеменяли спермой, замороженной в среде BioXcell, а животных опытной – спермой, замороженной в среде BioXcell с молекулярным водородом. Метод осеменения коров – цервикальный с ректальной фиксацией шейки матки (ректо-цервикальный). Эффективность осеменения оценивали на основе данных ректального УЗИ исследования на 35 и 90 сут. после осеменения. Для определения стельности использовали ветеринарный УЗИ-сканер CTS-800 (Китай).

Состояние метаболизма определяли по клинико-физиологическим и биохимическим показателям крови на биохимическом анализаторе Clima MC-15 при помощи стандартных наборов реактивов фирмы BioSystems и Randox.

Полученные экспериментальные данные рассчитывали, как среднее значение с ошибкой среднего. Для статистического анализа результатов применяли программу Statistica 6.0. и Microsoft Excel. Уровень статистической значимости – 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Клинико-физиологические параметры (температура тела, пульс, частота дыхания) у коров контрольной и опытной групп находились в пределах физиологической нормы. Статистически значимых различий между группами по этим параметрам не обнаружено (табл. 1).

Средняя температура тела у коров контрольной группы – $38,5 \pm 0,19^\circ\text{C}$, частота пульса – $62,4 \pm 0,79$ уд./мин., частота дыхательных движений – $22,4 \pm 0,98$ дых. дв./мин., опытной – $38,9 \pm 0,25^\circ\text{C}$, $61,1 \pm 0,95$ уд./мин., $19,6 \pm 1,16$ дых. дв./мин. соответственно. Разница между величинами контрольной и опытной групп животных была статистически недостоверной ($P > 0,05$).

Анализ данных, отражающих обмен веществ (белок, холестерин, глюкоза, мочевины, креатинин), также не выявил отклонений от нормативных значений в обеих группах, характерных для крупного рогатого скота (табл. 2).

У животных контрольной группы содержание общего белка составило $75,22 \pm 2,28$ г/л, альбуминов – $47,14 \pm 2,19\%$, α глобулинов – $14,67 \pm 4,69$, β глобулинов – $3,55 \pm 1,01$, γ глобулинов – $30,44 \pm 4,79\%$. У животных опытной и контрольной групп показатели белкового обмена статистически достоверно не отличались и также находились в пределах стандартных интервалов. Содержание общего белка у коров опытной группы – $77,39 \pm 1,96$ г/л, альбуминов – $43,15 \pm 5,23\%$, α глобулинов – $13,21 \pm 3,13\%$, β глобулинов – $14,35 \pm 1,27\%$, γ глобулинов – $32,14 \pm 3,45\%$.

Уровни холестерина, креатинина, глюкозы и мочевины в крови животных контрольной и опытной групп не различались между собой и находились в пределах стандартных интервалов. Содержание холестерина в крови коров контрольной – $3,07 \pm 0,14$ ммоль/л, глюкозы – $2,29 \pm 0,17$ ммоль/л, мочевины – $4,22 \pm 0,19$ ммоль/л, креатинина – $89,32 \pm 4,12$ ммоль/л, опытной – $3,11 \pm 1,05$, $2,32 \pm 0,12$, $4,75 \pm 0,23$, $75,47 \pm 6,72$ ммоль/л соответственно.

Биохимические маркеры функционального состояния печени, интенсивности белкового, энергетического обмена, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ) соответствовала стандартным значениям у животных обеих групп. Разность между показателями была незначительна и статистически не достоверна (табл. 2).

Таким образом, биохимические показатели крови у коров опытной и контрольной групп находились в пределах интервалов физиологической нормы.

Перед определением влияния молекулярного водорода в составе замораживающей среды на результативность осеменения коров криоконсервированной спермой оценивали активность спермы по прямолинейному поступательному движению сперматозоидов по десятибалльной шкале. Перед искусственным осеменением используемая сперма получила оценку 5 баллов из 10, 50% сперматозоидов имели прямолинейное поступательное движение. Через 90 сут. оплодотворяемость коров опытной группы была выше на 11,5%, по сравнению с группой животных, которых оплодотворяли спермой без молекулярного водорода (табл. 3).

Таким образом, использование молекулярного водорода в составе среды для разбавления семени позволяет повысить оплодотворяющую способность спермы быков и увеличить процент стельности коров при искусственном осеменении.

Положительное влияние молекулярного водорода на функциональные характеристики сперматозоидов, вероятно, связано с его антиоксидантной активностью. Молекулярный водород специфично нейтрализует только высокотоксичные –ОН и ONOO–,

Таблица 1.

Клинико-физиологические показатели животных контрольной и опытной групп, М ± m

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа	Норма по И.П. Кондрахину, 2004 [7]
Температура, °С	38,5 ± 0,19	38,9 ± 0,25	37,5...39,0
Пuls, уд./мин.	62,4 ± 0,79	61,1 ± 0,95	50...80
Дыхание, дых. дв./мин.	22,4 ± 0,98	19,6 ± 1,16	15...30

Таблица 2.

Биохимические показатели крови животных контрольной и опытной групп, М ± m

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа	Норма по И.П. Кондрахину, 2004 [7]
Общий белок, г/л	75,22 ± 2,28	77,39 ± 1,96	60...85
Альбумины, %	47,14 ± 2,19	43,15 ± 5,23	35...50
α глобулины, %	14,67 ± 4,69	13,21 ± 3,13	17...20
β глобулины, %	13,55 ± 1,01	14,35 ± 1,27	10...16
γ глобулины, %	30,44 ± 4,79	32,14 ± 3,45	25...40
Холестерол, ммоль/л	3,07 ± 0,14	3,11 ± 1,05	2,3...6,6
Глюкоза, ммоль/л	2,29 ± 0,17	2,32 ± 0,12	2,1...3,9
Мочевина, ммоль/л	4,22 ± 0,19	4,75 ± 0,23	3,3...3,6
АСТ, Ед/л	35,13 ± 1,25	33,11 ± 1,92	48...110
АЛТ, Ед/л	75,14 ± 2,5	74,41 ± 1,71	17...37
Креатинин, ммоль/л	89,32 ± 4,12	75,47 ± 6,72	88...107

Таблица 3.

Результативность осеменения коров опытной группы спермой, замороженной с молекулярным водородом

Показатель	Контрольная группа	Опытная группа
Осеменено коров	50	50
Выбыло из опыта коров	2	3
Стельных коров через 35 сут.	23	28
Стельных коров через 90 сут.	20	25
%	41,7	53,2

которые могут неконтролируемо вступать в реакции с макромолекулами клетки. [8] С сигнальными активными формами кислорода и азота, участвующими в физиологических процессах, водород ведет себя нейтрально. Это отличает молекулярный водород от других антиоксидантов. Он уменьшает окислительный стресс, корректирует окислительно-восстановительный статус клеток, обладает антиапоптотическими, противовоспалительными и метаболическими эффектами и может быть использован при искусственном осеменении. [9, 11–19]

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Абилов А.И., Племяшов К.В., Комбарова Н.А. и др. Некоторые аспекты воспроизводства крупного рогатого скота. СПб, 2019. 304 с.
- Антонов М.П. Влияние биохимических изменений липидов сперматозоидов и спермоплазмы на фертильность эякулята // Верхневолжский медицинский журнал. 2012. № 3. С. 47–50.
- Будевич А.И., Мордань Г.Г. Совершенствование технологии искусственного осеменения крупного рогатого скота // Вести Академии аграрных наук Республики Беларусь. Сер. с.-х. наук. 2002. № 3. С. 77–79.
- Дерюгина А.В., Иващенко М.Н., Лодяной М.С. Оценка резистентности мембран сперматозоидов быков в процессе долгосрочного хранения // Естественные и технические науки. 2022. Т. 1 (164). С. 107–109.
- Дувакина Е.В. Осеменение крупного рогатого скота // Молодежь и наука. 2019. № 9. С. 30.
- Кулешова А.И., Сафронов С.Л. Современные методы воспроизводства стада крупного рогатого скота, их преимущества и недостатки // Вестник Студенческого научного общества. 2018. Т. 9. № 1. С. 189–191.
- Кондрахин И.П., Архипов А.В., Левченко В.И. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник. М.: КолосС, 2004. 520 с.
- Пискарев И.М., Иванова И.П., Самodelкин А.Г., Иващенко М.Н. Иницирование и исследование свободно-радикальных процессов в биологических экспериментах. Нижний Новгород, 2016. 106 с.
- Рахманин Ю.А., Егорова Н.А., Михайлова Р.И. Молекулярный водород: биологическое действие, возможности применения в здравоохранении (обзор) // Гигиена и санитария. 2019. Т. 98. № 4. С. 359–365.
- Эрнст Л.К., Субботин А.Д. Искусственное осеменение – главный фактор генетического прогресса и роста продуктивности животноводства // К 100-летию со дня рождения основоположника биологии воспроизведения и технологии искусственного осеменения академика ВАСХНИЛ В.К. Милованова: мат. Межд. науч.-практ. конф. Дубровицы, 2004. С. 10–29.
- Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud L. et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases // Cochrane Database Syst. Rev. 2012. V. 3. CD007176.
- Finkel T., Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // Nature. 2000. V. 408 (6809). PP. 239–247.
- Katakura M. Hydrogen-rich water inhibits glucose and alpha, beta-dicarbonyl compound-induced reactive oxygen species production in the SHR.Cg-Lep^{crp}/ND^{mcr} rat kidney. Med Gas Res. 2012. 2 (1). PP. 18–10.
- Kimura H. Hydrogen sulfide: from brain to gut // Antioxid. Redox Signal. 2010. V. 12 (9). PP. 1111–1123.
- Smith R., Murphy M. Mitochondria-targeted antioxidants as therapies // Discov. Med. 2011. V. 11 (57). PP. 106–114.
- Shi P, Sun W. A hypothesis on chemical mechanism of the effect of hydrogen. Med Gas Res. 2012. 2 (1). PP. 17–10.
- Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // Nat. Med. 2007. V. 13. № 6. PP. 688–694.
- Ohta S. Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine // Pharmacol. Ther. 2014. V. 144. № 1. PP. 1–11.
- Xie K., Yu Y., Pei Y., Hou L. Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release // Shock. 2010. V. 34. № 1. PP. 90–97.

REFERENCES

1. Abilov A.I., Plemyashov K.V., Kombarova N.A. i dr. Nekotorye aspekty vosпроизводства крупного rogatogo skota. SPb, 2019. 304 s.
2. Antonov M.P. Vliyaniye biohimicheskikh izmenenij lipidov spermatozoidov i spermoplazmy na fertil'nost' eyakulyata // Verhnevolzhskij medicinskij zhurnal. 2012. № 3. S. 47–50.
3. Budevich A.I., Mordan' G.G. Sovershenstvovaniye tekhnologii iskusstvennogo osemneniya крупного rogatogo skota // Vesti Akademii agrarnykh nauk Respubliki Belarus'. Ser. s.-h. nauk. 2002. № 3. S. 77–79.
4. Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Lodyanoy M.S. Ocenka rezistentnosti membran spermatozoidov bykov v processe dolgosrochnnogo hraneniya // Estestvennyye i tekhnicheskiye nauki. 2022. T. 1 (164). S. 107–109.
5. Duvakina E.V. Osemneniye крупного rogatogo skota // Molodezh' i nauka. 2019. № 9. S. 30.
6. Kuleshova A.I., Safronov S.L. Sovremennyye metody vosпроизводства stada крупного rogatogo skota, ih preimushchestva i nedostatki // Vestnik Studencheskogo nauchnogo obshchestva. 2018. T. 9. № 1. S. 189–191.
7. Kondrahin I.P., Arhipov A.V., Levchenko V.I. Metody veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki: spravochnik. M.: KolosS, 2004. 520 s.
8. Piskarev I.M., Ivanova I.P., Samodelkin A.G., Ivashchenko M.N. Initsirovaniye i issledovaniye svobodno-radikal'nykh processov v biologicheskikh eksperimentakh. Nizhny Novgorod, 2016. 106 s.
9. Rahmanin Yu.A., Egorova N.A., Mihajlova R.I. Molekulyarnyy vodorod: biologicheskoye dejstvie, vozmozhnosti primeneniya v zdoravoohraneniye (obzor) // Gigiena i sanitariya. 2019. T. 98. № 4. S. 359–365.
10. Ernst L.K., Subbotin A.D. Iskusstvennoye osemneniye – glavnyy faktor geneticheskogo progressa i rosta produktivnosti zhivotnovodstva // K 100-letiyu so dnya rozhdeniya osnovopolozhnika biologii vosпроизvedeniya i tekhnologii iskusstvennogo osemneniya akademika VASHNIL B.K. Milovanova: mat. Mezhd. nauch.-prakt. konf. Dubrovicy, 2004. S. 10–29.
11. Bjelakovic G., Nikolova D., Gluud L. et al. Antioxidant supplements for prevention of mortality in healthy participants and patients with various diseases // Cochrane Database Syst. Rev. 2012. V. 3. CD007176.
12. Finkel T., Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing // Nature. 2000. V. 408 (6809). PP. 239–247.
13. Katakura M. Hydrogen-rich water inhibits glucose and alpha, beta –dicarbonyl compound-induced reactive oxygen species production in the SHR.Cg-Leprcp/NDmcr rat kidney. Med Gas Res. 2012. 2 (1). PP. 18–10.
14. Kimura H. Hydrogen sulfide: from brain to gut // Antioxid. Redox Signal. 2010. V. 12 (9). PP. 1111–1123.
15. Smith R., Murphy M. Mitochondria-targeted antioxidants as therapies // Discov. Med. 2011. V. 11 (57). PP. 106–114.
16. Shi P, Sun W. A hypothesis on chemical mechanism of the effect of hydrogen. Med Gas Res. 2012. 2 (1). PP. 17–10.
17. Ohsawa I., Ishikawa M., Takahashi K. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals // Nat. Med. 2007. V. 13. № 6. PP. 688–694.
18. Ohta S. Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine // Pharmacol. Ther. 2014. V. 144. № 1. PP. 1–11.
19. Xie K., Yu Y., Pei Y., Hou L. Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release // Shock. 2010. V. 34. № 1. PP. 90–97.

Поступила в редакцию 12.12.2024

Принята к публикации 26.12.2024

УДК 636.2.033

DOI: 10.31857/S2500208225020173, EDN: HVNGOH

АНАЛИЗ ВОЗРАСТНЫХ РАЗЛИЧИЙ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ СКОТА ПОРОДЫ ГЕРЕФОРД*

Мария Андреевна Барсукова, кандидат биологических наук
Кирилл Николаевич Нарожных, кандидат биологических наук
Ольга Игоревна Себежко, кандидат биологических наук
Оксана Александровна Иванова, старший преподаватель

Новосибирский государственный аграрный университет, г. Новосибирск, Россия

E-mail: mariabar23@yandex.ru

Аннотация. В работе представлены результаты изучения гематологических показателей скота породы герефорд, разводимого на юге Западной Сибири, в двух смежных поколениях. Животные находились в одинаковых условиях на предгорных пастбищах. Проанализированы как абсолютные значения, так и корреляции между гематологическими признаками у поколения «матерей» и «дочерей». Для снижения размерности данных и визуализации различий между группами в многомерном пространстве использовали метод главных компонент (МГК). Установлены различия в гематологических показателях скота породы герефорд разного возраста. Животные смежных поколений, содержащиеся в одинаковых условиях, близкие по генотипу, но разного возраста, имеют отличия не только в абсолютных значениях гематологических показателей, но формируют и разные корреляции между признаками, в том числе отвечающими за работу иммунной системы. Метод главных компонент подтверждает тенденцию различий животных двух разных поколений. Полученные данные могут быть использованы на практике для совершенствования систем управления стадом

* Работа выполнена в рамках проекта научной тематики «Формирование племенного стада герефордской породы мясного скота с улучшенной продуктивностью с использованием генетических методов селекции (FESF-2023-0002)», регистрационный номер 1023030200009-4-4.2.1. / The work was carried out within the framework of the scientific project «Formation of a breeding herd of the Hereford beef cattle breed with improved productivity using genetic breeding methods (FESF-2023-0002)», registration number 1023030200009-4-4.2.1.