

УДК 636.32/.38.082.

45:591.545

© 2014

*Г.С. Тихона,
кандидат сільсько-
господарських наук*

А.В. Безвесільна

В.М. Хмельков

*Інститут
тваринництва НААН*

ВИЗНАЧЕННЯ СТАТЕВОЇ ОХОТИ У ВІВЦЕМАТОК ЗА МАЗКАМИ ЦЕРВІКАЛЬНОГО СЛИЗУ

Наведено результати мікроскопічних досліджень нефарбованих і фарбованих мазків цервікального слизу овець сокільської породи. Встановлено, що під впливом нейрогуморальних факторів у цервікальному слизі відбуваються послідовні фізико-хімічні та цитологічні зміни. Прихід самиць у статеву охоту характеризується утворенням у мазках кристалів, при цьому цитологічна картина відрізняється наявністю поодиноких ядерних і без'ядерних поверхневих епітеліальних клітин.

Ключові слова: *вівця, статева охота, цервікальний слиз, кристали, цитологічна картина.*

Одним із важливих факторів успішного проведено біотехнологічних робіт з відтворення на вівцях є точне визначення статевої охоти. Існує кілька методів її визначення у сільськогосподарських тварин: візуальний, рефлексологічний та поєднаний — візуально-рефлексологічний [1, 9, 10]. Оскільки у вівцематок (на відміну від корів) зовнішні ознаки прояву статевої охоти менш характерні, основним методом її визначення є використання баранів-пробників [3, 4, 6]. Проте цей метод більш прийнятний для виявлення статевої охоти у великих отарах, на невеликій кількості тварин визначення ознак охоти потребує інших підходів.

У медичній практиці одним із основних у діагностиці патологічних процесів, які відбуваються у статевому апараті, є цитологічний метод дослідження вагінальних мазків [8]. У тваринництві цей метод використовують вкрай рідко для діагностики стану статевих органів самиць [2, 5].

Мета досліджень — розробити спосіб визначення спонтанної та індукованої статевої охоти у вівцематок за мазками цервікального слизу без використання баранів-пробників.

Методика досліджень. Дослідження з вивчення статевої охоти проводили на фізіологічному дворі Інституту тваринництва НААН на 10 вівцематках сокільської породи віком від 3 до 6 років, завезених із ДП ДГ «Гонтарівка» (Вовчанський р-н Харківської обл.). Головним критерієм, за яким визначали спонтанну та індуковану статеву охоту, було утворення кристалів у мазках цервікального слизу [7]. Відбір зразків цервікального слизу проводили щодня із краніальної частини піхви з попередньою санітар-

ною обробкою зовнішніх статевих органів самиць за допомогою спеціального пристрою. Його конструкція складається із пластикової прозорої трубки довжиною 15 см та одноразового шприца, поєднаних між собою перехідником. Із відібраного цервікального слизу робили 2 тонких мазки. Спочатку на чисте знежирене предметне скло наносили краплю слизу і краєм шліфованого предметного скла робили 2 мазки, які після висихання за кімнатної температури (18–20°C) переглядали під мікроскопом за збільшення у 160–320 разів. У першому нефарбованому мазку вивчали форми та розміри кристалів, у другому (після фарбування метиленовим синім упродовж 30 с) визначали форми та розміри епітеліальних клітин, а також їх розташування. Вимірювали розміри кристалів під мікроскопом за загальноприйнятою методикою за допомогою об'єктива (20×) та окуляра (16×) зі шкалою з ціною поділки 5 мкм. Кут відгалуження відростків від основного стрижня кристала вимірювали транспортиром. Форму кристалів визначали за методикою О.О. Сисоєва [11]. Усі зразки фотографували та зберігали в архіві ПК для подальшого використання під час підбору тварин для біотехнологічних робіт.

Результати досліджень. Аналіз попередніх результатів клініко-гінекологічних досліджень свідчить про те, що під час стадії збудження у більшості вівцематок зовнішні ознаки прояву феномену статевої охоти були слабо виражені. Водночас із каналу шийки матки виділявся прозорий, тягучий слиз в незначному об'ємі, що спостерігали тільки через відкрите піхвеве дзеркало. Під час мікроскопічного аналізу не-

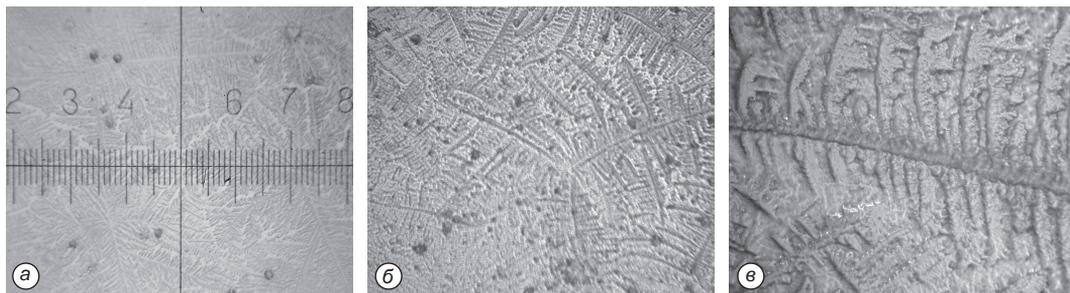


Рис. 1. Мікроскопічний вигляд мазків цервікального слизу вівцематок під час статевої охоти: а — дрібні кристали; б — середні; в — великі папоротеподібні кристали

фарбованих мазків цервікального слизу вівцематок установлено, що впродовж статевої охоти у ньому утворюються кристали різних форм і розмірів. Кристалоутворення є результатом біофізичних і біохімічних змін. Секреторну діяльність вагінального епітелію в період тічки та охоти у самиць контролюють в основному естрогени. Найсильніший їхній вплив починається за 2–3 доби до овуляції і досягає максимуму до моменту передбачуваної овуляції, що спричинює збільшення кількості цервікального слизу з підвищенням концентрації солей, насамперед хлориду натрію, який «відповідає» за феномен кристалізації.

Мікроскопічний аналіз нефарбованих мазків цервікального слизу вівцематок свідчить про те, що на початку охоти утворюються дрібні кристали різних форм, які поступово змінюються на середні, а потім — на великі (рис. 1, а, б, в).

Після закінчення охоти кристали швидко втрачають форму, перетворюючись у гомогенну масу. Для детальнішої характеристики усі кристали, виявлені у мазках цервікального слизу вівцематок під час статевої охоти, умовно поділили на 3 групи (табл. 1).

У подальших дослідженнях за критерій оцінки статевої охоти було обрано наявність і вираженість кристалоутворень у мазках цервікального слизу. Результати досліджень свідчать, що тільки утворення великих кристалів,

подібних до листя папороті з відгалуженням відростків під прямим кутом, свідчить про стадію збудження зі всіма її феноменами (тічкою, статевим збудженням, охотою і овуляцією).

Дослідженнями фарбованих мазків цервікального слизу виявлено, що найважливішими морфологічними елементами є епітеліальні клітини (ЕК), на підставі характерних змін яких базуються гормональні, цитологічні та функціональні характеристики стану тварини.

У фарбованих мазках цервікального слизу вівцематок виявлено різні за розмірами та формою ЕК: молоді — парабазальні, проміжні; старі — поверхневі та «лусочки», які розташовуються поодиночі або скупченнями. Залежно від ступеня зрілості ЕК їхня цитоплазма зафарбовується неоднаково. Молоді ЕК зафарбовуються краще, тому в мазку вони темніші, а старі — світліші. ЕК залежно від їх розмірів та форми, а також від розмірів ядра умовно поділили на 3 групи (табл. 2).

Як свідчать отримані дані (див. табл. 2), молоді парабазальні ЕК — округлої або овальної форми, дрібні (діаметром 10–20 мкм) — з великими круглими ядрами, що займають майже всю поверхню цитоплазми. У процесі дозрівання вагінального епітелію у мазку з'являються проміжні ЕК з прозорішою цитоплазмою, овальної форми, діаметром 20–30 мкм. Ядра проміжних ЕК округлої форми. За подальшого до-

1. Характеристика кристалів, виявлених у мазках цервікального слизу вівцематок під час статевої охоти (n=89, M±m)

Група кристалів	Розміри кристалів, мкм			Форма кристалів	Кут відгалуження відростків, °
	довжина основного стрижня	товщина основного стрижня	довжина відростків		
Великі	472,21±6,14	9,14±0,77	254,19±12,84	Листя папороті	88,33±0,32
Середні	345,00±19,20	4,19±0,59	181,88±28,18	Гілки дерев	65,19±2,24
Дрібні	264,00±18,63	1,27±0,15	70,67±11,83	Різні	53,70±1,70

2. Характеристика епітеліальних клітин у мазках цервікального слизу дослідних вівцематок (n=128, M±m)

Епітеліальні клітини, шт.	Співвідношення, %	Форма	Діаметр, мкм	
			клітини	ядра
Молоді парабазальні	27,4	Округла або овальна	18,29±0,42	7,49±0,48
Проміжні	53,1	Овальна	30,70±0,64	9,82±0,59
Старі поверхневі	19,5	Овальна, полігональна	49,58±0,66	6,40±1,30

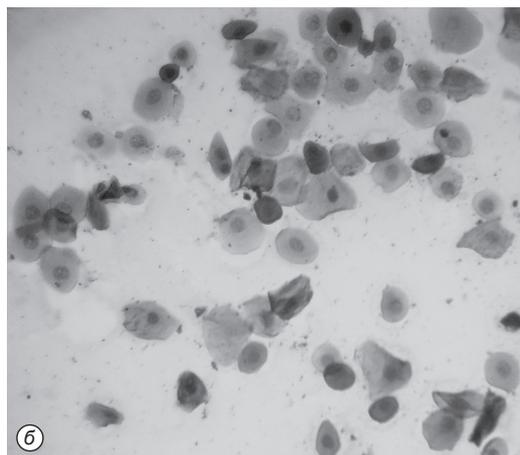
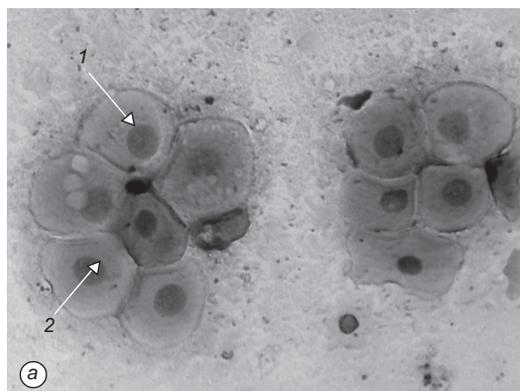


Рис. 2. Розташування епітеліальних клітин у мазках цервікального слизу вівцематок: а – в анестральний період; б – близько до охоти; 1 – ядро; 2 – цитоплазма

зрівняння вагінального епітелію в мазках виявлено поверхневі ЕК великих розмірів (діаметром 30–60 мкм), різних форм, зі світлою цитоплазмою, з дрібними, пікнотичними або везикулярними ядрами. Пікноз ядра у поверхневих ЕК свідчить про їхню максимальну зрілість. За співвідношенням ЕК у мазку можна оцінити функціональний стан яєчників та, відповідно, гормональний фон.

Мікроскопічні дослідження фарбованих маз-

ків цервікального слизу вівцематок свідчать про те, що в анестральний період цитологічна картина характеризується наявністю переважно парабазальних ЕК овальної форми з великими ядрами, які розташовуються групами по 4–16 і більше клітин. Це свідчить про значну недостатність естрогенів у цей період.

Близько до охоти у мазках виявлено в основному поверхневі ЕК різних форм і розмірів,

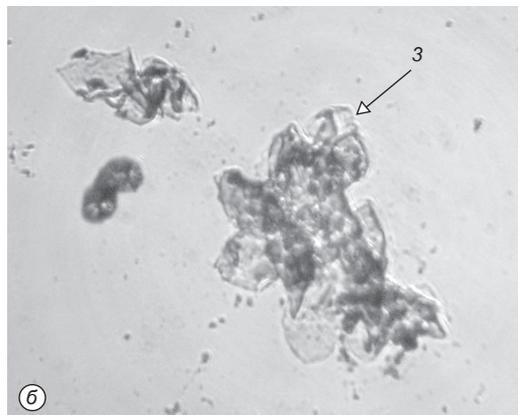
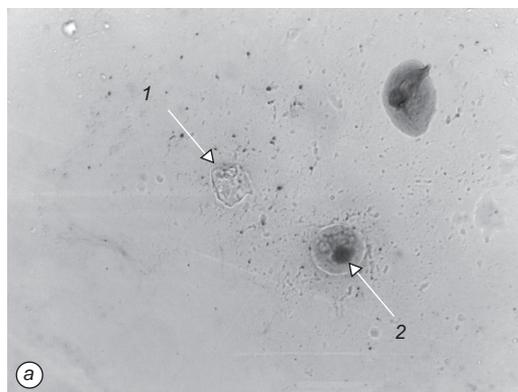


Рис. 3. Розташування епітеліальних клітин у мазках цервікального слизу вівцематок під час охоти: а – ядерні і без'ядерні; б – без'ядерні ЕК «лусочки»; 1 – без'ядерна ЕК; 2 – ядерна ЕК; 3 – скупчення прозорих без'ядерних ЕК

ядерні та без'ядерні, які розташовані переважно поодиноці (рис. 2, а, б).

Під час охоти відбувається активізація процесів проліферації та десквамації епітеліальних клітин, тому у мазках переважають поодинокі проміжні та поверхневі ЕК великих розмірів з ядрами та без них, які перетворюються в «лусочки» (рис. 3, а, б).

Під час стимулювання статеві охоти гормональними препаратами упродовж доби спостерігали активізацію процесів проліферації та десквамації ЕК, також збільшувалася секреція келихоподібних клітин слизової оболонки шийки матки, залоз матки та піхви, зростала кількість слизу. За мікроскопії мазків цервікального слизу, отриманого за індукованої охоти, виявлено таку саму картину, як під час спонтанної охоти. Так, до гормональної обробки вівцематок у фарбованому мазку виявляли переважно

проміжні ЕК (до 80%), які мали різні розміри (діаметр 20–30 мкм), розташовані скупченнями або ізольовано; після обробки гормональними препаратами їхня цитологічна картина змінювалася і характеризувалася наявністю ядерних поверхневих та без'ядерних ЕК різних форм і більших розмірів (діаметром 30–60 мкм), що розташовувалися у мазках ізольовано.

Отже, на основі проведених досліджень розроблено спосіб визначення охоти у вівцематок за допомогою феномену кристалізації цервікального слизу, при цьому цитологічна картина мазків є гормональним дзеркалом самиці. Ефективність розробленого способу підвищується завдяки точності визначення початку статеві охоти у вівцематок, економії матеріальних витрат на утримання баранів-пробників і дає змогу проводити біотехнологічні роботи упродовж усього року.

Висновки

Розроблено спосіб визначення спонтанної та індукованої статеві охоти у вівцематок за мазками цервікального слизу без використання баранів-пробників.

Установлено, що в організмі овець під дією гормонів відбуваються зміни, які можна визначити за кристалоутворенням у мазках цервікального слизу, а також за змінами цитологічної картини, яка є гормональним «дзеркалом» самиці. Доведено, що прихід самиць у

статеву охоту характеризується утворенням у мазках кристалів з характерним рисунком листя папороті з товстим основним стрижнем (>9 мкм) і відростками, розташованими під прямим кутом; при цьому цитологічна картина відрізняється наявністю старих поверхневих ядерних та без'ядерних епітеліальних клітин різних форм, великих розмірів (діаметром 30–60 мкм), розташованих ізольовано поодиноці.

Бібліографія

1. Бугров А.Д. Выявление и выборка коров и телок в охоте : метод. реком./А.Д. Бугров, А.В. Медведовский, А.В. Субота. — Х., 2002. — С. 3.
2. Животьягина Е.В. Цитологический состав влагалищной слизи коров при нормальном течении послеродового периода/Е.В. Животьягина, О.В. Семенов //Ветеринария. — 2005. — № 7. — С. 34–37.
3. Інструкція із штучного осіменіння овець і кіз; відпов. за вип. Ю.Ф. Мельник. — К.: Аграр. наука, 2003. — С. 14.
4. Корнеевко-Жилыева Л.В. Совершенствование технологии искусственного осеменения овец: автореф. дис. на соиск. науч. степ. канд. с.-х. наук/ Л.В. Корнеевко-Жилыева. — Лесные Поляны Московской обл., 2008. — 20 с.
5. Панков Б.Г. Цитологическая диагностика состояния половых органов коров: Доклады РАСХН/Б.Г. Панков, А.В. Жаров. — М., 2003. — № 3. — С. 43–47.
6. Пат. № 2032338 Российской Федерации. Способ определения потенциальных доноров эмбрио-

нов и ранней половозрелости у овец/В.С. Ланкин, 1995.

7. Пат. на корисну модель №68687 Україна UA. Спосіб визначення індукованої статеві охоти у овець в анестральний період/Тихона Г.С., Безвесільна А.В., Хмельков В.М., Помітун І.А.; заявл. 23.08.2011; опубл.10.04.2012; Бюл. № 7.

8. Полонская Н.Ю. Основы цитологической диагностики и микроскопическая техника: учеб. пособ. для вузов/Н.Ю. Полонская, О.В. Егорова. — М.: Академия, 2005. — 160 с.

9. Родин И.И. Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных/И.И. Родин. — М.: Колос, 1973. — С. 199–202.

10. Справочник по искусственному осеменению сельскохозяйственных животных/Ф.В.Ожин, Г.В. Паршутин, И.И. Родин и др. — М.: Россельхозиздат, 1983. — С. 129–132.

11. Сысоев А.А. Теория воспроизводства скота/ А.А. Сысоев. — М.: Колос, 1965. — С. 102–105.

Надійшла 18.06.2013.