

УДК 636.09:636.2:612.646:606:615.331

СІДАШОВА С. О., канд. с. - г. наук, sidashova2020@ukr.net

СТОВ «АФ «Петродолинське», Одеська обл.

АВДОСЬЄВА І. К., канд. вет. наук

ДНДКІ ветеринарних препаратів і кормових добавок, Львів

ГРИГОРАШЕВА І. М., vidodessa@gmail.com

ТОВ «Відродження М», Одеса

СТРИЖАК А. В., Харківський НУ ім. І. Н. Каразина

## ПРОБІОТИЧНИЙ ЗАХИСТ СЛИЗОВИХ КОРІВ-ДОНОРІВ ЯК ЕТАП БІОТЕХНОЛОГІЇ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

Серед факторів негативного тиску на якість ембріонів корів, отриманих *in vivo*, істотний вплив має клінічний стан слизових оболонок статевої системи. Практично перевірено альтернативний етап підготовки донорів, а саме, застосування пробіотику «Мультибактерин ветеринарний *Bs+La*». В досліді корови ( $n=13$ ), після обробки слизових пробіотиками відповідно до схеми, мали кращі показники прозорості промивних рідин після тестового вимивання порожнини матки (92,31 % *in vitro*), в контролі ( $n=18$ ), відповідно – 11,11 %. У корови-донора в досліді встановлено високу якість всіх отриманих зародків. Перші етапи альтернативної схеми пробіотичного захисту слизових донорів ембріонів свідчать щодо перспективності методичного підходу з оптимізації ТЕ.

**Ключові слова:** корова-донор ембріонів, трансплантація, трансферабельність, морфологія, *in vitro*, полікомпонентні пробіотики, нормофлоризація, слизові оболонки.

**Вступ.** Інтенсифікація функції відтворення високопродуктивних особин на сьогодні є важливим завданням промислового тваринництва, тому трансплантація ембріонів (ТЕ) стає структуроутворюючою ланкою біотехнології прискореного розмноження генетично цінних тварин, особливо актуальною у галузі скотарства, де селекція детермінована малоплідністю самиць великої рогатої худоби.

Значення методів ТЕ в сучасному промисловому скотарстві підтверджується щорічним нарощуванням обсягів з ембріодонації, кріоконсервації та трансферу ембріонів за даними Міжнародної асоціації ембріотрансплантації ([www.iets.org](http://www.iets.org) [25, 13]).

В умовах соціально-економічної кризи відмічено призупинення досліджень з розвитку біотехнології ТЕ в Україні, що негативно відбивається на селекційному стані вітчизняних стад молочних і м'ясних порід худоби. Неконтрольоване поширення імпортової селекції негативно впливає на сучасну і майбутню генетику молочних стад, створює умови для деформації генофонду в бік голштинської монопороди, знижує рівень продовольчої безпеки держави [8, 13, 14].

За останні десятиріччя були проведені численні зарубіжні і вітчизняні дослідження з вивчення чинників, що впливають на кількість та якість ембріонів при гормональній індукції поліовуляції (ПО) й трансцервікального вимивання з порожнини рогів матки самиці-донора (*in vivo*) [1, 2, 7, 8, 16, 23, 24]. На основі результатів наукових досліджень було розроблено і впроваджено в практику цілий ряд інновацій, що суттєво спростили роботи з трансцервікального методу ембріодонації та вплинули на розвиток біотехнології отримання доімплантаційних ембріонів ссавців *in vitro*. Але, незважаючи на ці досягнення, процедури з підготовки тварин до ембріодонації залишаються трудомісткими, витратними за робочим

часом і коштами, причому вихід трансферабельних ембріонів на один цикл обробки залишається в середньому в межах 5-7 зародків навіть в провідних генетичних центрах [1, 2, 7, 8, 24, 25]. Це помітно стримує поширення методу та уповільнює накопичення генетичних ресурсів кріобанків у вигляді віртуальних генофондових кріостад [4, 14].

За останні роки було звернено увагу на підвищення значення клінічного стану слизових корів в умовах кардинальної перебудови технології промислового виробництва молока. На основі аналізу літератури та результатів власних досліджень ми простежили зміни в кількісно-якісному складі ембріозборів, отриманих за різних методів стимуляції полі овуляції донорів, і прийшли до висновку, що навіть при оптимальній технології утримання, годівлі та репродуктивній експлуатації, значна частка фолікулярної продукції гонад корів – донорів була непридатна до подальшого використання. За статистичними даними різних джерел, в підсумку якісні ембріони склали 15-65 % від усіх вилучених *in vivo* [1, 7, 8, 16, 24].

Ще в 80-ті роки минулого століття вітчизняними науковцями було доведено, що однією з головних умов успішного застосування методу ТЕ є асептичність операцій на всіх етапах [1, 4]. В спеціальній літературі наводяться численні рекомендації з дотримання асептики під час проведення ембріодонації та трансферу, що передбачає профілактику попадання патогенної мікрофлори в глибокі ділянки репродуктивного тракту самиць ВРХ.

В багатьох дослідженнях наводяться дані щодо росту хронічних запальних процесів органів репродукції корів сучасних молочних порід, особливо це явище поширене в умовах промислової експлуатації голштинізованого поголів'я. Донорське поголів'я є фактично і за генотипом найбільш продуктивною частиною стада, для якої характерний прояв поліморбідності організму [5, 9, 14, 19]. На фоні суттєвого зниження природного імунітету високопродуктивних тварин в умовах формування паразитобіоценозів промислових молочних комплексів, істотно змінюються функціональні та бар'єрні можливості слизових оболонок, в тому числі ендометрію корів. За тиску техногенних стресів, що постійно діють за інтенсивного молочного виробництва, на слизових, в тому числі статевому тракту корів, створюються умови утворення асоційованих дисбіозів та патологічних біоплівки, характерних для сучасної умовно-патогенної асоційованої мікрофлори тваринницьких приміщень [12, 17, 21, 26]. Це створює передумови для латентних запальних і деструктивно-склеротичних змін маткового епітелію, який втрачає свою живильну і захисну функцію і стає несприятливим середовищем для ембріону. Відомо, що між клінічним станом ендометрію та функцією яєчників корів існує тісний фізіологічний взаємозв'язок, тому, можна передбачити, що хронічні запальні метро- та гонадопатії корів суттєво знизять продукування якісних зародків за гормональним індукуванням ПО.

В літературі недостатньо висвітлено вплив клінічного стану слизових оболонок на результативність біотехнології ембріодонації самиць великої рогатої худоби та методів оптимізації негативного впливу дисбіозів на число отриманих *in vivo* доїмплантаційних ембріонів.

**Мета роботи** визначалась необхідністю розробки і перевірки фізіологічно коректної методики підготовки слизових корів-донорів до процедур ембріодонації (*in vivo*) та оцінки якості вилучених ембріонів *in vitro*.

**Матеріали і методи досліджень.** Науково – виробниче дослідження проводилось на базі провідних племінних молочних підприємств України в три етапи. На першому етапі (2009-12 рр.) було здійснено аналіз результатів практичної діяльності робочої групи Лабораторії трансплантації ембріонів «Полтаваплемсервіс» з отримання генетичних ресурсів шляхом тестових циклів ембріодонації і нехірургічного вимивання з порожнини матки (доїмплантаційних ембріонів) високопродуктивних корів в трьох племінних стадах: № 1 – ПАТ «Полтаваплемсервіс», Полтавської області, № 2 – ПрАТ «Агро – Союз»,

Дніпропетровської області, ПП «РВД – Агро», Черкаської області. Застосовані методики досліджень та підсумовані результати роботи Лабораторії ТЕ «Полтаваплемсервіс» викладені в публікаціях ряду науково-тематичних видань та в електронній базі даних Європейської Асоціації ТЕ [4, 10, 11, 12, 13, 25]. В групі обстежених тварин добирали повновікових корів молочних порід з продуктивністю від 8,5 до 14 тисяч кг молока за кращу лактацію. В усіх підприємствах умови утримання, годівлі та експлуатації високопродуктивних корів племядра – потенційних донорів ембріонів в цілому відповідали зоогігієнічним і технологічним вимогам, протиепізootичні заходи та вакцинації проведені відповідно до чинних ветеринарних вимог. Всі біотехнологічні процедури здійснювали в спеціальних станках для фіксації тварин, на протязі досліджень здоров'ю тварин не було завдано шкоди.

На другому-третьому етапах було розроблено і перевірено альтернативну схему вдосконалення підготовчого етапу експлуатації донорів, основою якої є застосування мета профілактики дисбіозів слизових корів шляхом використання комплексної бактерійної терапії за дозованим введенням полікомпонентних пробіотиків (в контролі – традиційні схеми антибіотикотерапії) [1, 6, 8, 21]. Перевірка ефективності пробіотичного захисту слизових потенційних донорів ембріонів проводилась впродовж 2016-17 років на базі племрепродуктора СТОВ «АФ «Петродолинське» Одеської обл. (ферма № 4; представлена нумерація застосована далі в тексті і таблицях).

Таблиця 1

**Схеми профілактики уражень слизових оболонок в контрольній і дослідних групах корів-потенційних донорів перед процедурами трансплантації ембріонів**

Періоди обробки	Процедури, препарати, дозування, способи введення, контроль
	<b>ДОСЛІД</b>
1-й день	Комплексне гінекологічне обстеження потенційного донора ембріонів (вагінальне, ректальне, УЗД)*; оцінка ефективності перетравності / транзиту кормів, стану фекалій [12].
2-й день і далі: за 4-5 тижнів до початку гормонограми	Пробіотичний препарат «Мультибактерин ветеринарний Bs+La» (кормова суміш) вводиться до складу раціону методом розбризкування або перемішування з іншими складовими монокорму в дозі 5-10 мл на 1 гол./день.
За 3-4 тижня до початку гормонограми	Внутрішньо маткове введення розчину «Мультибактерин ветеринарний Bs+La» в дозуванні 30-100 мл** протягом 3-5 днів однократно (розведення 1:10 теплою кип'яченою водою або фізрозчином; перше введення – розведення 1:1-3); Після чого – внутрішньо вагінальні введення розчину 2-4 рази однократно. Кількість процедур визначається з огляду на клінічний стан органів репродукції, наявність ускладнюючих запальних і дистрофічних процесів в тканинах (метро – і гонадопатій). При необхідності – проведення попередньої глибокої внутрішньо маткової антисептики препаратами з антибіотиками (відповідно до чутливості мікрофлори [3, 4, 5, 6]).
За 1-2 тижні до початку гормонограми	Вітамінізація та застосування препаратів біостимуляторів – відповідно до вибраної схеми підготовки самиці до ембріодонації [8]***.
За 7-10 днів до початку гормонограми	Комплексна гінекологічна діагностика стану репродуктивних органів, при необхідності – повторення процедур нормофлорзації. Повторна перевірка транзиту кормів.

	<b>К О Н Т Р О Л Ь</b>
1-й день	Комплексне гінекологічне обстеження потенційного донора ембріонів (вагінальне, ректальне, УЗД)* .
2-й день і далі: за 2-4 тижня до початку гормонограми	Внутрішньо маткова глибока антисептика із застосуванням препаратів з антибіотиками (відповідно до чутливості мікрофлори або з широким спектром протимікробної дії [5, 8]). Кратність та дозування добираються відповідно клінічного стану тварини та настанові препарату.
За 1-2 тижні до початку гормонограми	Вітамінізація та застосування препаратів біостимуляторів – відповідно до вибраної схеми підготовки самиці до ембріодонації [8].

**Примітка.:** \* - особливості методики комплексної гінекологічної діагностики корів – донорів викладено в попередніх публікаціях [10,11,13]; \*\*- дозування об'єму розчину - відповідно до анатомічних особливостей матки тварини; \*\*\* - відповідно до рекомендованих схем [8]

На основі висновків наших попередніх досліджень (С. А. Сідашова та співавт., 2014-16, [12, 13, 15]), було проведено виробничу перевірку ефективності методики нормофлоризації слизових корів-донорів за робочою шкалою технологічної прозорості вимивних середовищ перед початком гормональної стимуляції поліовуляції (схема 1).

Інноваційність методики нашої роботи була в комплексному підході до вирішення проблеми дисбіозів слизових різних систем організму високопродуктивних тварин та розширенні бар'єрного ефекту репродуктивних слизових шляхом глибокої нормофлоризації (внутрішньоматкові інфузії). В усіх процедурах нормофлоризації було застосовано вітчизняний полікомпонентний пробіотичний препарат «Мультибактерин ветеринарний Bs+La», виробництва ТОВ «Відродження М» (Одеса), вміст якого є композицією живих симбіотичних культур штамів *Lactobacillus acidophilus* *um. Au* ( $10^9$  м.т./см<sup>3</sup>), *Bacillus subtilis* 534 ( $10^9$  м.т./см<sup>3</sup>), *Bacterium bifidum adolescentis* C52 ( $10^8$  м.т./см<sup>3</sup>) [15].

Фармакологічні особливості препарату “Мультибактерин ветеринарний Bs+La” придатні до застосування у якості замісної терапії для профілактики і лікування респіраторних, шлунково-кишкових захворювань тварин (колібактеріозу і сальмонельозу), дисбактеріозів, корекції мікрофлори ШКТ при антибіотикотерапії, мікотоксикозах, проявляють імуностимулюючу і ростстимулюючу дію. Розширення сфери застосування препарату в гінекології ВРХ було перевірено в наших попередніх роботах [15]. Препарат є екологічно чистим, не викликає ускладнень, не має побічної дії, не накопичується в органах і тканинах тварин; протипоказання - не встановлені. Препарат можна використовувати паралельно із застосуванням інших терапевтичних засобів.

Результати досліджень були підсумовані і представлені в таблицях і на фото. Отримані дані були обраховані згідно програми IBM Statistics - 2011 (Version 20) з обчисленням стандартних статистичних показників [10, 11].

**Результати досліджень та їх обговорення.** Аналіз даних з ефективності ембріодонації від первинно перевірюваних корів – донорів різних племінних стад (табл. 2) ферми № 1-3) показав, що вихід якісних ембріонів у позитивно реагуючих тварин коливався від 47,89 до 67,15 %, що співпадало з даними інших авторів [1, 7, 25]. За 43 цикли вимивань Лабораторією ТЕ «Полтаваплемсервіс» було отримано 5,58 трансферабельних ембріонів на донора, що відповідало світовому рівню ефективності. Морфологічна оцінка *in vitro* привела до зменшення загального ембріосбору (n=445) на 46,07 % за рахунок дегенерованих ембріонів та незапліднених яйцеклітин. Всі донори перед початком гормональної стимуляції пройшли

гінекологічну діагностику і не мали явних симптомів ендометритів, що може свідчити за вплив прихованих метропатій [12]. З публікацій вітчизняних авторів відомо, що у корів-донорів, хворих на ендометрит, спостерігали часткову або повну дегенерацію ембріонів на різних стадіях їх розвитку, при значному числі незапліднених яйцеклітин [1].

Крім того, важливо відмітити, що в процесі пошуку *in vitro* в промивному середовищі ембріонів вже в умовах лабораторії, в більшості випадків рідина мала суттєве забруднення шматочками відшарованого ендометрію, злущеними некротичними тканинами, що істотно ускладнювало пошук і збільшувало ризик втрачених зародків. Для вдосконалення методики нами було розроблено і випробувано робочу шкалу оцінки прозорості (візуальної чистоти) промивних середовищ після вилучення з порожнини матки [10, 14]. Цей же показник опосередковано свідчив за фізіологічний або патологічний стан ендометрію корови-донора. Відповідно до методичної схеми в досліді були оброблені слизові травного і репродуктивного тракту корів, після чого проведені процедури вимивання *in vivo* на 7-8-й день індукованого статевого циклу (застосовано препарат синтетичний аналог простагландину F2 $\alpha$  – Естрофан) [4, 8, 7]. В таблиці 3 показано, що в дослідній групі (n=12) в ході перевірки прозорості вимивного середовища тільки в одному випадку (8,33 %) в полі зору мікроскопа були видимі незначні забруднення у вигляді прозорого слизу. Промивне середовище з матки позитивного донора було візуально прозоре і максимально придатне для пошуку зародків.

Таблиця 2

**Аналіз кількісно-якісного вмісту ембріозбору від позитивних корів – донорів різних молочних порід (українські племпідприємства)**

Племінне підприємство №...	n*	Разом ембріозбір **	В тому числі якісні ембріони: за морфологічною оцінкою <i>in vitro</i>			±m
			ТФЕ, шт.***	%	ТФЕ /цикл-донор	
1	17	162	76	46,91	4,47	0,06
2	13	142	68	47,89	5,23	0,08
3	12	137	92	67,15	7,67	0,08
4	1****	4	4	100,0	4,00	1,00
M ± m	43	445	240±5,34 <sup>a</sup>	53,93	5,58±1,63 <sup>b</sup>	0,02

**Примітка.:** \* - число позитивних реакцій – поліовуляції після гормональної стимуляції та трансєрвікального вилучення 3-х і більше якісних ембріонів; \*\* - сума всіх вилучених ембріонів (якісні+дегенеровані) + яйцеклітини; ТФЕ\*\*\* – якісні, придатні для подальшого розвитку ембріони (придатні для трансферу, кріоконсервації, мікрохірургії);\*\*\*\*- № 4 - гормонограма з препаратом СЖК (синхростин), № 1-3 – гормонограми з препаратами ФСГ; a-b (P<0.01) r=+0,712.

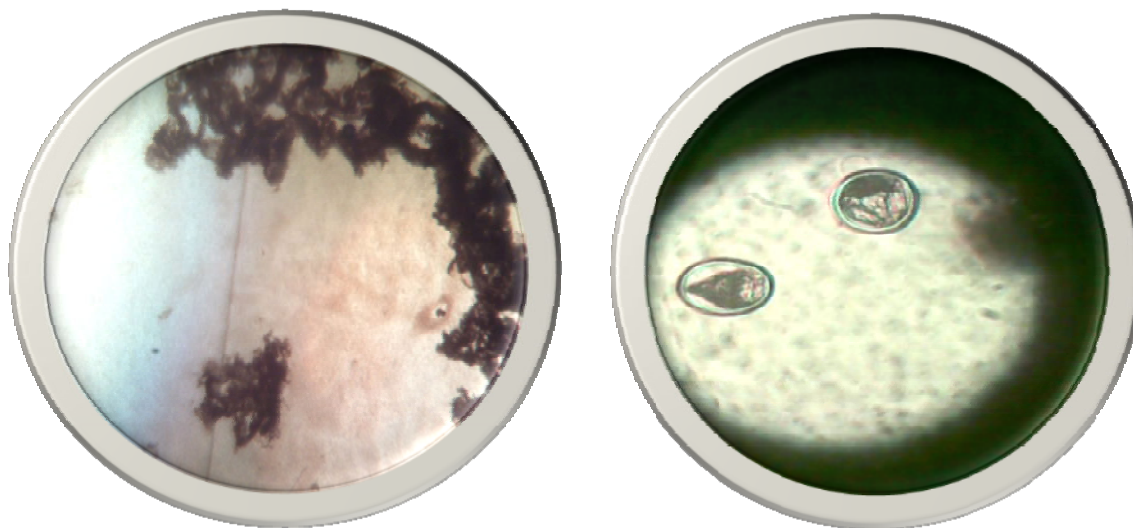
В контрольній групі, де використано традиційну схему гінекологічної терапії [6, 8], в тестових вимиваннях прозорими були лише 8,33 % зразків, а у позитивних корів-донорів-16,67 % (фото 1). Серед загального ембріозбору в контролі встановлено 32,85 % дегенерованих ембріонів і яйцеклітин (фото 2).

**Порівняння показників візуальної прозорості або забрудненості промивної рідини з порожнини матки корів-донорів доімплантаційних ембріонів (*in vitro*)**

Процедура вимивання	Контроль (ферма № 3): антибіотикотерапія		Дослід (ферма № 4): пробіотичний захист		±m
	n	% візуально прозорих зразків	n	% візуально прозорих зразків	
Тестові вимивання (індукований цикл)*	12	8,33	12	91,67	1,00
Фактичні вимивання – ембріозбори**	6	16,67	1	100,00	0,17
M ± m	18	11,11±4,25 <sup>a</sup>	13	92,31±4,64 <sup>b</sup>	0,72

**Примітка:** \*- пробні вимивання порожнини матки після індукції статевого циклу з унітарною овуляцією (перевірка); \*\* - трансцервікальні вимивання порожнини матки донорів, що отримали попередню гормональну стимуляцію, від яких було отримано ембріони різної якості; a-b (P<0.05) r=+0,901.

Треба відмітити, що моніторинг транзиту кормів в дослідній групі корів, які отримували щоденно *per os* «Мультибактерин ветеринарний», показав суттєве поліпшення (до 29%). В той час як в контролі після промивання залишалось 44% неперетравлених залишків (дані щодо дослідження транзиту кормів наведені в іншій публікації [12]).



**Фото 1-2. Мікроскопічна картина промивного середовища з порожнини матки від корови контрольної групи (гінекологічна антисептика – антибіотикотерапія).**

*Фото автора з архіву Лабораторії ТЕ «Полтаваплемсервіс»*

1. Видяг під мікроскопом (29x) промивного середовища, вилученого з порожнини матки корови-донора (приховані хронічні запальні процеси в слизових, відшаровування епітелію)

2. Дегенеровані ембріони на різній стадії розпаду, вилучені на 8-й день після полювуляції з порожнини рогів матки корови-донора: морфологічна оцінка *in vitro* (29x)

Фізіологічні процеси життєдіяльності тварин за сучасних наукових уявлень нерозривно пов'язані з мікробіоценозом довкілля, причому сам макроорганізм розглядається у симбіотичній взаємодії з мікробіотою (нормофлорою), яка складається з ряду характерних для кожного виду мікроорганізмів, що постійно співіснують на поверхні шкіри і слизових [17, 22, 26]. Інтенсивні технології тваринницького виробництва за умов високої концентрації тварин на одиниці виробничої площі та суттєвого зменшення позитивного впливу природних факторів (сонячна інсоляція, моціон, свіже повітря тощо) провокують трансформацію мікрофлори організму тварин до стану паразитомікробіозу. На практиці це виражається у вигляді дисбіозів слизових різних систем макроорганізму, а саме – поширення хронічних субклінічних запалень слизових оболонок. Латентний перебіг хронічних ендометритів з нечіткими або відсутніми симптомами захворювання характерний для високопродуктивних лактуючих корів, які є потенційними донорами генетичних ресурсів (ембріонів). Досвід показав, що традиційна етіологічна протимікробна терапія гінекологічних патологій лактуючих корів часто малоефективна і провокує розвиток дегенеративно-склеротичних процесів в слизових репродуктивного тракту. Наслідком цього є зниження генеративного потенціалу кращих корів племінного стада.

Пропонований нами альтернативний підхід до реабілітації репродуктивної функції корів спирається на біологічні властивості культур симбіотичної нормофлори ссавців, які в сучасних умовах промислових технологій тваринництва набули вагомих переваг для адекватної корекції дисбіозів слизових оболонок. Перевага препарату «Мультибактерин ветринарний Bs+La» перед іншими пробіотиками полягає в мультиспецифічності його впливу на здоров'я тварин. Транзиторний штам *Bacillus subtilis* має здатність до самоелімінації, тобто не затримується в організмі, але за час свого перебування на слизових встигає здійснити роботу по детоксикації клітин слизових та ряду інших органів (шляхом адсорбції і виведення зовні токсикантів різного походження). Швидкість розмноження цього штаму забезпечує конкурентне витіснення зі слизових кишечника і ендометрію переважної більшості патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, що стимулює ріст власної нормофлори, причому нарощується синтез протимікробних речовин ( $H_2O_2$ , антибіотикоподібні речовини, ін.), покращується живлення клітин і тканин в результаті метаболізму біологічно активних сполук, що включаються в обмін речовин макроорганізму (вітаміни, ферменти, незамінні амінокислоти, пептиди ін.). Випереджальне заселення слизових (кишечнику та статевих шляхів) корів культурними штамами лактобактерій сприяє стабілізації нормального метаболізму на тривалий період після закінчення курсу нормофлоризації слизових, до чого підключаються процеси посилення неспецифічного (активація макрофагів) і специфічного (активація і проліферація Т- і В-лімфоцитів) імунітету [17, 18, 22]. Вказана композиція лактобактерій є мукозальною мікрофлорою, що має властивість створювати біоплівки в шарі слизу між ворсинками кишечника, що може бути бар'єром для формування патологічних біоплівок шкідливих мікроорганізмів [27]. Вірогідно, такий же ефект можливий і в порожнині матки на ворсинках ендометрію, але процеси адгезивної та біохімічної активності до епітелію статевої системи самиць ссавців з формування біотопів культурами полікомпонентних пробіотиків ще не вивчені.

Крім того, наші дослідження показали, що комплексне застосування пробіотиків нормалізує статеву функцію самиць ВРХ не тільки за рахунок протизапальної і детоксикаційної дії на слизові, а і в результаті збільшення секреції ендогенних гормоноподібних речовин, що має прямий вплив на ембріопродуктивність [15]. Останнім часом з'явилися роботи, які значно розширили діапазон критеріїв оцінки біологічної

активності представників нормальної мікрофлори, в тому числі і тих, що пропонуються для введення в склад пробіотичних препаратів. Як один з напрямків з вивчення властивостей культур симбіотичної мікрофлори – невід’ємного компоненту забезпечення епізоотичного благополуччя в умовах промислового тваринництва, розпочато наше дослідження. В зв’язку з припиненням фінансування програми з ТЕ в племгосподарствах, дані досліджень потребують збільшення статистичної бази і будуть продовжені за наявності умов.

### **Висновки та перспективи подальших досліджень**

1. Якісно-кількісний аналіз *in vitro* вмісту промивних рідин, отриманих з порожнини матки *in vivo* у корів-донорів в умовах українських племінних молочних підприємств, показав, що 46,49 % ембріозборів склали дегенеровані ембріони і незапліднені яйцеклітини, не придатні до подальшого розвитку і застосуванню в біотехнології ТЕ.

2. Мікроскопічна оцінка візуальної прозорості промивних рідин з порожнини матки дослідних корів-донорів, засвідчила суттєве покращення умов пошуку ембріонів *in vitro* після застосування схеми нормофлоризації слизових репродуктивного тракту перед процедурами ембріодонації (в досліді 92,31 % зразків з технологічно високою прозорістю, в контролі – 8,33 %).

3. У корови-позитивного донора після схеми обробки слизових репродуктивного тракту препаратом «Мультибактерин ветеринарний *Bs+La*» весь ембріосбір складався з якісних ембріонів з чіткою синхронізацією стадіального розвитку (4 бластоцисти).

Експериментальна перевірка пробіотичної методики підготовки корів до процедур ембріодонації шляхом дозованого застосування композиції симбіотичних культур штамів *Lactobacillus acidophilus um. Au*, *Bacillus subtilis um. 534*, *Bacterium bifidum adolescentis um. C52*, що є складовими препарату «Мультибактерин ветеринарний *Bs+La*», встановила оптимізацію технології ТЕ на етапах вимивання доімплантаційних ембріонів *in vivo*; пошуку *in vitro* та розширила напрямки наукового пошуку і розробки екологічно коректних способів підвищення виробництва трансферабельних доімплантаційних ембріонів. Розпочаті дослідження потребують продовження для забезпечення сталого виробництва генетичних ресурсів кращих племінних стад України.

### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Бугров О.Д. Значення методу трансплантації ембріонів у системі селекційної роботи з малопродуктивними видами тварин / О.Д.Бугров, І. В.Ткачова // НТБ ІТ НААН. – Харків, 2014. - № 113. – С.43-51.
2. Дуванов, А.В. Трансплантація ембріонів – альтернатива імпорту скота в Україну / А.В.Дуванов, С.А.Сидашова // Ексклюзивні технології. – 2013. - № 2 (23). – С. 50-53.
3. Завирюха, В.И. Профилактика субклинических эндометритов у коров – доноров // В.И. Завирюха, С.П. Хомин, С.Г. Шаловило, А.А. Гамота // Тезиси док. респ. науч. - практ. конференции. – Львов. – 1987. – С. 28.
4. Инструкция по трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота. – М., 1987. – 92 с.
5. Король, С. Основные заболевания КРС на молочных фермах Украины. Заболевания органов репродуктивной системы и проблемы воспроизводства / С. Король // Сучасна ветеринарна медицина. – 2014. - № 2 (44). – С.24-28.
6. Кошовий, В.П. Акушерсько – гінекологічні патології у корів. - ТОВ «Золоті сторінки». - Харків, 2011. – 154 с.
7. Мадисон, В.В. Полиовуляция у коров-доноров – поиск продолжается / В.В.Мадисон, Л.В. Мадисон // НТБ ІТ НААН. – Харків, 2008. - № 96. – С.242-261.



8. Мельник, В.О. Акушерство, гінекологія і біотехнологія відтворення тварин. Конспект лекцій / В.О. Мельник, С.О. Сідашова. – Миколаїв, 2013. – 140 с.
9. Сідашова, С.О. Оцінка лактуючих корів на придатність бути донорами-реципієнтами доїмплантаційних ембріонів / С.О. Сідашова // Вісник Полтавської державної аграрної академії. - 2013. – № 2. – С.61-63.
10. Сідашова, С.О. Ембріопродуктивність корів-донорів і функціональна асиметрія яєчників / С.О. Сідашова, В.Ф. Стаховський, С.І. Ковтун // Розведення і генетика тварин: між від. темат. наук. зб. / НААН ІРГТ. – К.: Аграрна наука, 2016. – Вип. 51. – С. 247-255.
11. Сідашова, С.О. Ритмічність статевих циклів корів та рівень прихованої ранньої ембріопатії / С.О. Сідашова, О.Г. Гуменний // Науковий вісник Львівського НУ ветеринарної медицини та біотехнології ім. С.З. Гжицького. – 2017. – Т. 19. - № 78. – С.121-127.
12. Сідашова, С.О. Методика оцінки генетичного потенціалу високопродуктивних корів – донорів ембріонів молочних порід племінних стад вітчизняних підприємств / С.О. Сідашова // Мат. наук. - метод. конференції проф. - виклад. складу та аспірантів ветеринарного факультету ОДДАУ. – 16-18 квітня 2017 р. – Одеса. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://osau.edu.ua/uk/kontakti>
13. Сідашова, С.А. Эффективное воспроизводство: от диагноза к стельности / С.А. Сідашова // Матер. І Междун. науч. - практ. конф. «Молочная империя». – Донецк, 2012. – С.236-246.
14. Сідашова, С.О. Досвід застосування пробіотичного захисту слизових для удосконалення технології трансплантації ембріонів ВРХ / С.О. Сідашова, І.К. Авдосьєва, І.М. Григорашева // Науково-техніч. бюл. ІБТ і ДНДКІ ветпрепаратів і кормових добавок. – 2017. – Вип. 17. – С. 116-119.
15. Рубленко, М.В. Проблеми забезпечення здоров'я високопродуктивних корів / М.В. Рубленко, С.А. Власенко // Ветеринарна медицина: між від. темат. наук. зб. – Харків, 2011, № 95. – С. 397 – 400.
16. Anderson, G.B. Embryo transfer in domestic animals / G.B. Anderson // Adv. Vet. Sci., 1983. – V.27. – 3.129-162.
17. Bai, K. Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* FMBJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens/ K. Bai, I. Huang // Poult. Sci.. – 2017. – V. 96, № 1. – P. 74-82.
18. Cutting, S. M. *Bacillus* probiotics / S. M. Cutting // Food Microbiol. – 2011. – Vol. 28. – No. 2. – P. 214-220.
19. Elliot, L. Uterus of the cow after parturition: Bacterial Content / L. Elliot, K.J/ McMahon, H.T. Gier, G.B. Marion // Am. J. Vet. Res. – 1968. – Vol. 29. – P.77-81.
20. Kasimanickam, R. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection subclinical endometris in postpartum dairy cows / R. Kasimanickam, T.F. Duffield, R.A. Foster [et al.] // Theriogenology. – 2004. – Vol. 62. – P. 9-23.
21. Kasimanickam, R. Postpartum uterine diseases in dairy cows / R. Kasimanickam, V. Kasimanickam, V. Koziv, V. Lototskiy // Visnyk Bilocerkiv. derzh. agrar. in-tu. – Bila Cerkva, 2016. – V. 2. – S.11-16.
22. Patel, R. New approaches for bacteriotherapy: Prebiotics, new generation probiotics, and synbiotics/ R. Patel, H. L. DuPont // Clin. Infect. Dis. – 2015. – V. 60, Suppl. 2. – P. S108-S121.
23. Selk, G. Embryo transfer in cattle / G. Selk // Division of Agricultural Sciences and Natural Resources – Oklahoma Cooperation Service, 2014. - № 3158. – P.4.
24. Pener, P. The International Transfer School/ P. Pener // Internet resource / mhtml:file//G:school transfer.mht. – 20.04.2012. – 22 p.
25. Transplantation of embryos at dairy cattle // [Електронний ресурс]. – Режим доступа: <http://www.aete.eu/index.php/publications-aete/proceedings/2017/file>
26. Yong, D. Chronic factors infections: living with unwanted guests / Yong D., Hassell T., Duongan, Y. // Nature immunology. – 2002. – V. 3, N 11. – P. 1026-1032.
27. Watnik, P. Biofilm, lity of Microbes / P. Watnik, R. Kolter // J. Bacteriol. - 2000. - № 10. - Vol. 182. - P. 2675-2679.

**ПРОБИОТИЧЕСКАЯ ЗАЩИТА СЛИЗИСТЫХ КОРОВ-ДОНОРОВ КАК ЭТАП БИОТЕХНОЛОГИИ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ЭМБРИОНОВ/ Сидашова С. А., Авдосьева И. К., Григорашева И. М., Стрижак А. В.**

Среди факторов негативного давления на качество эмбрионов, полученных *in vivo*, существенное влияние имеет клиническое состояние слизистых оболочек половой системы. Практически проверен альтернативный этап подготовки доноров, а именно: применение пробиотика «Мультибактерин ветеринарный Bs+La». В опыте коровы ( $n=13$ ), после обработки слизистых пробиотиками в соответствии со схемой, имели лучшие показатели прозрачности промывных сред после тестового вымывания полости матки (92,31 % *in vitro*), в контроле ( $n=18$ ), соответственно – 11,11 %. У коровы-донора в опыте установлено высокое качество всех полученных эмбрионов. Первые этапы альтернативной схемы пробиотической защиты слизистых доноров говорят о перспективности методического подхода к оптимизации ТЭ.

**Ключевые слова:** корова - донор эмбрионов, трансплантация, трансферабельность, морфология, поликомпонентные пробиотики, нормофлоризация, слизистые оболочки.

**PROBIOTIC DEFENCE of MUCOUS COWS-DONORS AS STAGE of BIOTECHNOLOGY of TRANSPLANTATION of EMBRYOS / S. Sidashova, I. Avdoseva, I. Grigorashева, A. Stricshak**

**Introduction.** Intensification of reproductive function of cows with the high productivity now is the important task of industrial stock-raising. A statistical analysis shows that only 30-75 % all abstracted from the cavity of uterus of cow - donor of embryos suitable to the use, that considerably reduces economic and plant-breeding meaningfulness of method TE.

**The goal of the work.** We the alternative methodological going offers near preparation of cows - donors to procedure TE, namely: application of complex prophylaxis (therapy + is a prophylaxis) with the use of poly components of probiotic preparation of «Multybacteryn veterinary Bs+La».

**Materials and methods.** In the complement of this preparation the living symbiotic cultures of *Lactobacillus acidophilus*, *Bacillus subtilis*, *Bacterium bifidum adolescentis* with a concentration no less than  $10^{8-9}$  microbial bodies in  $1 \text{ cm}^3$ . In control cows are a donor were prepared to procedure of the not surgical washing of embryos on a traditional therapeutic chart with the use of antibiotics.

**Results of research and discussion.** As a result we got from experience cows ( $n=13$ ), media environment from the cavity of uterus high-performance transparency (92.31 % transparent standards), and in control ( $n=18$ ) - only 11.11 % standards had sufficient visual transparency at control of *in vivo* and *in vitro*. Experimental donor in experience we found out high quality of all got embryos during clear synchronization of staidly development (blastocysts). In the control group of cows - donors in a media environment from the cavity of uterus we found out 32.85 % off-grade embryos and not-fertility ovules.

**Conclusions and prospects for further research.** The first stages of testing of alternative chart of probiotic defense of mucous cows-donors of embryos testify to perspective of an offer methodical approach on optimization of methods TE and about the necessity of continuation of researches.

**Keywords:** cow donor of embryos, transplantation, morphology, poly component probiotics, normal micro flora, mucous membranes.

## REFERENCES

1. Bugrov O.D., Tkachova I. V. (2014) Znachennja metodu transplantacii embrioniv u sistemi selekcijnoi roboti z maloplodnimi vidami tvarin. NTB IT NAAN. 113, 43-51 [in Ukrainian].
2. Duvanov, A.V.& Sidashova S.A. (2013) Transplantacija jembrionov – al'ternativa importu skota v Ukrainu. *Jekskljuzivnye tehnologii.*, 2 (23), 50-53 [in Russian].
3. Zavirjuha, V.I., Homin S.P., Shalovilo S.G., Gamota A.A. (1987) Profilaktika subklinicheskikh jendometritov u korov – donorov. *Tezisy dok. resp. nauch. - prakt. konferencii.*, p. 28 [in Ukrainian].
4. *Instrukcija po transplantacii jembrionov krupnogo rogatogo skota.* (1987) M., 92 [in Russian].
5. Korol', S. (2014) Osnovnye zabojevanija KRS na molochnyh fermah Ukrainy. Zabojevanija organov reproduktivnoj sistemy i problemy vosproizvodstva. *Suchasna veterinarna medicina.* 2 (44), 24-28. [in Russian].

6. Koshovij, V.P. (2011) *Akushers'ko – ginekologichni patologii u koriv*. Harkiv : TOV «Zoloti storinki». [in Ukrainian].
7. Madison, V.V., Madison L.V. (2008) Poliovuljacija u korov-donorov – poisk prodolzhaetsja. *NTB IT NAAN.*, 96., 242-261 [in Russian].
8. Mel'nik, V.O. & Sidashova S.O. (2013) *Akusherstvo, ginekologija i biotehnologija vidtvorennja tvarin*. Mikolaiv [in Russian].
9. Sidashova, S.O. (2013) Ocinka laktujuchih koriv na prifatnist' buti donorami-recipientami doimplantacijnih embrioniv . *Visnik Poltav's'koj derzhavnoj agrarnoj akademii*. - 2., 61-63 [in Ukrainian].
10. Sidashova, S.O., Stahov's'kij V.F., Kovtun S.I. (2016) Embrioproduktivnist' koriv-donoriv i funkcional'na asimetrija jacchnikiv. *Rozvedennja i genetika tvarin: mizh vid. temat. nauk.zb*. K.: Agrarna nauka, Vol.51., 247-255 [in Ukrainian].
11. Sidashova, S.O. & Gumennij O.G. (2017) Ritmichnist' statevih cikliv koriv ta riven' prihovanoj rann'oï embriopatii. *Naukovij visnik L'viv's'kogo NU veterinarnoj medicini ta biotehnologii im. S.Z.Gzhič'kogo*. Vol. 19, 78. , 121-127 [in Ukrainian].
12. Sidashova, S.O. (2017) Metodika ocinki genetichnogo potencialu visokoproduktivnih koriv – donoriv embrioniv molochnih porid pleminnih stad vitchiznjanij pidpriemstv. *Mat. Nauk. - metod.konferencii prof. - viklad. skladu ta aspirantiv veterinarnogo fakul'tetu ODDAU. – 16-18 kvitnja 2017 r.* – Retrieved from: <http://osau.edu.ua/uk/kontakti> [in Ukrainian].
13. Sidashova, S.A. (2017) Effektivnoe vosproizvodstvo: ot diagnoza k stel'nosti /S.A. Sidashova. *Mater. I Mezhdun.nauch.-prakt.konf. «Molochnaja imperija»*. S.236-246 [in Russian].
14. Sidashova, S.O., Avdos'eva I.K., Grigorasheva I.M. (2017) Dosvid zastosuvannja probiotichnogo zahistu slizovih dlja udoskonalennja tehnologii transplantacii embrioniv VRH. *Naukovo-tehnič. bjul. IBT i DNDKI vetpreparativ i kormovih dobavok*. 17, 116-119 [in Ukrainian].
15. Rublenko, M.V. & Vlasenko S.A. (2011) Problemi zabezpečennja zdorov'ja visokoproduktivnih koriv. *Veterinarna medicina: mizh vid. temat. nauk. zb*. 95., 397 – 400 [in Ukrainian]
16. Anderson, G.B. (1983) Embryo transfer in domestic animals. *Adv.Vet. Sci.*. V.27, 129-162. [in English]
17. Bai, K. & Huang I. (2017) Supplemental effects of probiotic *Bacillus subtilis* FMBJ on growth performance, antioxidant capacity, and meat quality of broiler chickens. *Poult. Sci.*. V. 96, 1., 74-82 . [in English].
18. Cutting, S. M. (2011) *Bacillus* probiotics. *Food Microbiol.* Vol. 28, 2., 214-220. [in English].
19. Elliot, L., McMahon K.J., Gier H.T., & Marion G.B (1968) Uterus of the cow after parturition: Bacterial Content . *Am. J. Vet. Res.* Vol. 29, 77-81 . [in English].
20. Kasimanickam, R., Duffield T.F., Foster R.A. [et al.] (2004) Endometrial cytology and ultrasonography for the detection subclinical endometris in postpartum dairy cows. *Theriogenology*. Vol. 62., 9-23 . [in English].
21. Kasimanickam, R., Kasimanickam V., Koziv V., Lototskiy V. (2016) Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Visnyk Bilocerkiv.derzh.agrar. in-tu*. V. 2., 11-16 . [in English].
22. Patel, R. & DuPont H. L. (2015) New approaches for bacteriotherapy: Prebiotics, new generation probiotics, and synbiotics. *Clin. Infect. Dis.* V. 60, 2., S108-S121 . [in English].
23. Selk G. (2014) Embryo transfer in cattle. *Division of Agricultural Sciences and Natural Resources – Oklahoma Cooperation Service*, 3158., 4 . [in English].
24. Pener, P. (2012) The International Transfer School. Retrieved from: <mhtml:file://G:school transfer.mht>. [in English].
25. Transplantation of embryo at dairy cattle. Retrieved from: <http://www.aete.eu/-index.php/publications-aete/proceedings/2017/file> . [in English]
26. Yong, D. Hassell T., & Duongan, Y. (2002) Chronic factors infections: living with unwanted guests. *Nature immunology*. V. 3, 11., 1026-1032 . [in English]
27. Watnik, P. & Kolter R. (2000) Biofilm, lity of Microbes. *J. Bacteriol.* Vol. 182. № 10., 2675-2679 . [in English].