

Bogdan, J., Ayroud, M., Clark, E.G., Konoby, C., Allan, G., Ellis, J.A., 2001. Multiple porcine circovirus 2-associated abortions and reproductive failure in a multisite swine production unit. *Can. Vet. J.* 42, 551-553.

УДК 636.2:612.64.089.67

## БИОФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ПОВЫШЕНИЯ РЕГЕНЕРАЦИОННОЙ СПОСОБНОСТИ И ПРИЖИВЛЯЕМОСТИ ДЕМИ-ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

Будевич И.И., Пайтеров С.Н., Кирикович Ю.К.,

РУП «Научно-практический центр НАН Беларуси по животноводству», г. Жодино, Республика Беларусь

*Ультразвуковое и магнитное воздействия оказывают стимулирующий эффект на регенерационную активность деми-эмбрионов, позволяют повысить жизнеспособность разделенных зародышей на 12,4 и 15,0% и их приживляемость на 6,6-8,3%, соответственно.*

*Ultrasound and magnetic effect causes stimulation of regenerational activity of demi-embryos that let us raise viability of dissected embryos at 12,4 and 15%, and their pregnancy rate at 6,6-8,8% correspondingly.*

**Введение.** Получение монозиготных близнецов от разделенных эмбрионов в технологии трансплантации зародышей является одним из способов расширения возможности использования ценного генетического материала в селекционно-племенных программах разведения крупного рогатого скота [1]. Вместе с тем, проведение различных микроманипуляций с биоматериалом, связанных с необходимостью механического вмешательства в структуры эмбриона, может привести к нарушениям целостности бластомеров, необратимому разрыву связей между ними, что впоследствии негативно отразится на процессах регенерации клеточных половинок, их компактизации и приживляемости после трансплантации реципиентам [6].

Некоторыми исследователями [7] с целью повышения восстановительной способности клеток после деления предлагалось применение 0,1-0,25М сахарозы в составе культуральной среды: пригодными к пересадке были признаны 39,5% деми-эмбрионов в опытной группе против 36,4% в контрольной. По данным других авторов [5], совместное использование сахарозы и цитохалазина Б (cytochalasin B) привело к 70%-ому уровню регенерации разделенных половинок.

В опытах S. Moriyasu et al. [4] культивирование деми-эмбрионов в инкубаторе при 39°C в атмосфере, содержащей 5% углекислого газа, 5% кислорода и 90% азота в течение 4 часов позволило получить приживляемость на уровне 40,6% против 29,2% в контроле при пересадке по одной половинке зародыша каждому реципиенту. При этом в опытной группе потребление кислорода клетками было выше на 52%.

Приживляемость деми-эмбрионов у реципиентов зависит также от многих других факторов: стадии развития зародышей, способа пересадки разделенных клеток, качества реципиентов. Так, в исследованиях M. Skrzyszowska [7] уровень стельности реципиентов составил 30-46,5% при пересадке по одной половинке эмбриона телкам и 13-33,3% при трансплантации коровам. Пересадка двух половинок привела к беременности 61,5 и 8,3% животных, соответственно. Данные других авторов [4] свидетельствуют о более высокой жизнеспособности разделенных половин морул, чем бластоцист (77,6% против 70,0%).

В последнее время внимание исследователей привлекает использование биофизических методов воздействия на различные системы, органы и ткани животных, а также репродуктивные клетки [2; 3], однако данные о возможности восстановления разделенных эмбрионов с помощью такого рода обработок практически отсутствуют.

В связи с вышеизложенным, целью исследований явилось изучение влияния магнитного и ультразвукового воздействий на регенерационную способность и приживляемость деми-эмбрионов крупного рогатого скота.

**Материалы и методы.** Исследования проводились в период с 2001 по 2005 годы в лаборатории воспроизводства и генной инженерии сельскохозяйственных животных РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству», РСУП «Племзавод Кореличи» Гродненской, РУСП «Племзавод Красная звезда» Минской и РСУП «Брестплемпредприятие» Брестской областей.

В качестве доноров эмбрионов использовались клинически здоровые коровы черно-пестрой породы в возрасте от 4 до 8 лет, живой массой 550-650 кг с удоем по наивысшей лактации не ниже 7000 кг молока в год, жирностью 3,8% и более. Вызывание суперовуляции, извлечение и поиск зародышей проводили согласно методическим рекомендациям (Жодино, 2004). В качестве рабочих сред при микроманипуляциях с эмбрионами использовали раствор Дюльбекко с добавлением 20% эмбриональной сыворотки и антибиотиков.

Свежеполученные зародыши опытной группы (n=27) подвергали ультразвуковому воздействию при помощи аппарата УЗТ-1.01Ф интенсивностью 0,88МГц, мощностью 0,05Вт/см<sup>2</sup> в импульсном (2мс) режиме в течение 1 минуты. Контролем (n=25) служили эмбрионы, не подвергавшиеся воздействию ультразвука. После обработки ультразвуком (УЗ) и дисекции деми-эмбрионы помещали в термостат при +37°C в среде ТС-199, через 3-5 часов культивирования оценивали их качество, заправляли в пайетты по одной или две клетки и пересаживали реципиентам.

Для изучения влияния постоянного магнитного поля (ПМП) на регенерационную способность и приживляемость половинок эмбрионов было сформировано три группы из зародышей хорошего и отличного качества – контрольная и две опытные по 20 эмбрионов в каждой. Разделенные эмбрионы подопытных групп культивировали в термостате при +37°C в течение 3-5 часов в среде ТС-199 с добавлением антибиотиков и 20% эмбриональной сыворотки крови плодов. При этом деми-эмбрионы опытных групп находились в магнитном поле эквиплатора в зоне южного и северного полюсов магнита, соответственно, с последую-

щей повторной оценкой их качества и пересадкой реципиентам.

Основным учитываемым показателем являлось количество полученных половинок, продолживших свое развитие после культивирования. Приживляемость demi-эмбрионов всех подопытных групп устанавливали методом ректальной диагностики реципиентов на стельность через три месяца после пересадки.

*Результаты.* Данные об уровне сохранности разделенных эмбрионов, не подвергавшихся ультразвуковому воздействию перед дисекцией (контроль) и обработанных ультразвуком, отражены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние ультразвукового воздействия на регенерационную способность demi-эмбрионов

Показатели	Контрольная группа				Опытная группа			
	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего
	Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя	
Разделено эмбрионов, n	7	9	9	25	8	10	9	27
Получено половинок, n	10	16	15	41	15	19	17	51
Процент от разделенных	71,4	88,9	83,3	82,0	93,8	95,0	94,4	94,4

Полученные результаты культивирования половинок зародышей свидетельствуют о положительном влиянии ультразвука на их жизнеспособность. Продолжили свое развитие после дисекции 94,4% эмбрионов опытной группы. В контроле данный показатель был на 12,4% ниже. Наибольший эффект от применения ультразвука наблюдался на стадиях ранней и поздней бластоцисты. После культивирования 95,0 и 94,4% клеток оказались пригодными к пересадке реципиентам. При этом показатели сохранности эмбрионов аналогичного возраста в контрольной группе были на 6,1 и 11,1% ниже, чем в опытной. Одновременно наблюдалось снижение жизнеспособности разделенных поздних морул с 93,8% в опыте до 71,4% в контроле.

Изучение приживляемости обработанных ультразвуком и разделенных зародышей крупного рогатого скота (таблица 2) показало, что средняя частота наступления стельности у реципиентов опытной группы на 6,6% превосходила аналогичный ее уровень в контроле (52,9 против 46,3%), причем повышение приживляемости наблюдалось у зародышей опытной группы всех стадий развития.

Таблица 2 – Влияние ультразвука на приживляемость demi-эмбрионов

Показатели	Контрольная группа				Опытная группа			
	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего
	Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Морула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя	
Количество пересаженных половинок, n	10	16	15	41	15	19	17	51
Приживляемость, %	40,0	50,0	46,7	46,3	46,7	57,9	52,9	52,9
Выход живых телят, n	4	8	7	19	7	11	9	27
Выход телят в зависимости от количества пересадок, %	40,0	50,0	46,7	46,3	46,7	57,9	52,9	52,9

Пересадка разделенных поздних морул, ранних и поздних бластоцист опытной группы позволила увеличить число стельных животных на 6,7; 7,9 и 6,2% по сравнению с контрольной. Необходимо отметить, что предшествующая дисекции эмбрионов ультразвуковая обработка не оказала негативного влияния на течение беременности у реципиентов и последующий выход жизнеспособного молодняка.

На следующем этапе исследований была изучена эффективность использования постоянного магнитного поля на восстановление и приживляемость demi-эмбрионов. Данные об уровне их сохранности отражены в таблице 3.

Полученные результаты культивирования половинок зародышей свидетельствуют о положительном влиянии на их жизнеспособность данного воздействия как в зоне южного, так и северного полюсов магнита. Продолжили свое развитие после дисекции 97,5% эмбрионов первой и 85,0% зародышей второй опытных групп. В контроле данный показатель был, соответственно, на 15,0 и 2,5% ниже. Наибольший эффект от применения ПМП наблюдался у зародышей на стадии ранней морулы и ранней бластоцисты при культивировании в зоне южного полюса и ранней и поздней бластоцисты при культивировании в зоне северного по-

люса магнита: от 85,7 до 100,0% клеток оказались пригодными к дальнейшей пересадке реципиентам. При этом количество пригодных к пересадке эмбрионов во второй опытной группе незначительно отличалось от данного показателя в контроле (85,7 против 82,5%). Одновременно в этих группах наблюдалось снижение сохранности поздних морул с 83,3 до 66,7%. Значительное снижение уровня сохранности половинок эмбрионов во второй группе до уровня контрольной позволяет заключить об отсутствии какого-либо влияния на биоматериал постоянного магнитного поля в зоне северного полюса.

Проведенные исследования по изучению влияния северного и южного полюсов постоянного магнитного поля на приживляемость demi-эмбрионов (таблица 4) показали, что уровень стельности реципиентов, которым пересаживали эмбрионы первой опытной группы, на 8,3 и 6,7% выше аналогичного показателя контрольной и второй опытной групп, соответственно.

Таблица 3 – Влияние постоянного магнитного поля на регенерационную способность demi-эмбрионов

Показатели	Контрольная группа				I Опытная группа				II Опытная группа			
	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего
	Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя	
Разделено эмбрионов, п	6	7	7	20	6	7	7	20	6	7	7	20
Получено половинок, п	8	12	13	33	12	14	13	39	10	12	12	34
Процент от разделенных	66,7	85,7	92,9	82,5	100	100	92,9	97,5	83,3	85,7	85,7	85,0

Таблица 4 – Результативность пересадки половинок эмбрионов после магнитной эквilibрации

Показатели	Контрольная группа				I Опытная группа				II Опытная группа			
	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего	Стадия развития			Всего
	Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя		Мо-рула поздняя	Бластоциста ранняя	Бластоциста поздняя	
Количество пересаженных половинок, п	8	12	13	33	12	14	13	39	10	12	12	34
Приживляемость, %	37,5	50,0	46,2	45,5	50,0	57,1	53,8	53,8	40,0	50,0	50,0	47,1
Выход живых телят, п	3	6	6	15	6	8	7	21	4	6	6	16
Выход телят от количества пересадок, %	37,5	50,0	46,2	45,5	50,0	57,1	53,8	53,8	40,0	50,0	50,0	47,1

При этом разница в показателе приживляемости в указанных группах была незначительной – 1,6% (45,5 против 47,1%). Было установлено, что количество стельных животных после трансплантации поздних морул, ранних и поздних бластоцист первой группы на 12,5; 7,1 и 7,6%, соответственно, выше, чем среди реципиентов, которым пересаживали зародыши контрольной группы. Трансплантация demi-эмбрионов, подвергавшихся воздействию постоянного магнитного поля, позволила повысить выход телят на 1,6-8,3%.

*Заключение.*

1. Ультразвуковое воздействие мощностью 0,05Вт/см<sup>2</sup>, интенсивностью 0,88 МГц в импульсном (2мс) режиме при обработке интактных эмбрионов оказывает последующее положительное влияние на восстановительные свойства деми-эмбрионов, способствует повышению жизнеспособности сформировавшихся зародышей после дисекции и их приживляемости у реципиентов.

2. Эквилибрация разделенных эмбрионов в культуральной среде в постоянном магнитном поле в зоне южного полюса повышает выход пригодных к трансплантации эмбрионов и способствует увеличению показателя стельности реципиентов.

3. Биофизические воздействия ультразвуком и постоянным магнитным полем в зоне южного полюса на разделенные зародыши крупного рогатого скота не оказывают негативного влияния на течение беременности у реципиентов и последующий выход жизнеспособного молодняка.

*Литература.* 1. Галат, В. В. Пересадка половинок эмбрионов скота / В. В. Галат, В. В. Мадисон, Л. В. Мадисон // Зоотехния. – 1991. – № 4. – С. 57-58. 2. Бандажевский Ю.И., Барсесян О.Б., Кузнецов Б.К. Влияние инфракрасного лазерного излучения на состояние овуляторного цикла у экспериментальных животных // Использование физических и биологических факторов в ветеринарии и животноводстве / Моск. Вет. Акад., - 1992. – С. 87-89. 3. Добренко А., Хворосторезов П. Обработка яиц в магнитном поле // Птицеводство. – 1999. - №4. – С. 21-22. 4. A relationship between respiratory activity and the pregnancy rate of bisected bovine embryos in vivo / S. Moriyasu [et al.] // Reproduction, Fertility and Development. – 1999. – № 1. – P. 209-219. 5. Bredbacka, P. Factors affecting cell viability during bisection of bovine embryos / P. Bredbacka // Theriogenology. – 1995. – Vol. 44, Iss. 2. – P. 159-166. 6. Growth and reproduction of mice developed from bisected embryos / J. Nagai [et al.] // Theriogenology. – 1989. – Vol. 32, Iss. 3. – P. 475-483. 7. Skrzyszowska, M. Demi-embryo production from hatching of zona-drilled bovine and rabbit blastocysts / M. Skrzyszowska, Z. Smorag, L. Katska // Theriogenology. – 1997. – Vol. 48, Iss. 4. – P. 551-557.

УДК 636.2.082.42

## НОВЫЙ ВАГИНОСКОП

Варганов А. И.

ФГОУ ВПО "Вятская государственная сельскохозяйственная академия" г. Киров, Россия

*Разработан новый вагоскоп для искусственного осеменения коров и телок визуально-цервикальным способом и проведения вагинальных исследований при диагностике некоторых гинекологических болезней.*

*New vaginoscope for artificial fecundation of cows by means of viso-cervical method and for vaginal examination performance of animals with gynecology pathology has been worked out.*

В 2006 году нами разработана новая, более совершенная конструкция вагоскопа, который предназначен для визуально-цервикального способа искусственного осеменения коров и телок, а также для дифференциальной диагностики вестибулитов, вагинитов, цервицитов и эндометритов у коров. Прибор состоит из полипропиленовой трубки, рукоятки и осветителя со светодиодами. Осветитель фиксируется в смотровом канале и работает от соответствующих элементов питания для осветителей со светодиодами.

Перед использованием вагоскопа его наружную и внутреннюю поверхности протирают ватным тампоном, смоченным 3 % раствором натрия бикарбоната. После подготовки вагоскопа, осеменительного прибора и животного вагоскоп вводят во влагалище коровы, включают осветитель, находят шейку матки, вводят в ее канал конец осеменительного прибора на глубину 5-6 см и производят осеменение. После этого выводят наружу осеменительный прибор и вагоскоп.

После использования вагоскоп обмывают снаружи теплой водой, вытирают насухо и протирают наружную и внутреннюю поверхности тампоном, смоченным раствором соды, или спиртовым тампоном и используют прибор для осеменения другой коровы или кладут на хранение до следующего использования. Внутреннюю поверхность вагоскопа обрабатывают раствором йода.

Установлено, что вагоскоп не причиняет животным болевых и холодовых раздражений влагалища, обеспечивает отличный осмотр влагалища, шейки матки и обуславливает высокую оплодотворяемость коров и телок. Вагоскоп очень удобен для проведения вагинальных исследований при диагностике вестибулита, вагинита, цервицита и эндометрита.

При появлении гнойно-катаральных выделений из влагалища у коров ветеринарные специалисты, как правило, ставят диагноз на заболевание животного "эндометритом" и назначают соответствующее лечение. Однако выделение экссудата происходит и при вестибулите, вагините и цервиците. Поэтому ошибка при постановке диагноза на заболевание коровы эндометритом, без проведения вагинальных исследований по нашим данным составляет от 10 до 20 %. Использование вагоскопа для проведения дифференциальной диагностики вышеупомянутых заболеваний позволяет избежать ошибок при постановке диагноза и повысить эффективность их лечения.

Вагоскоп предназначен для его использования ветеринарными специалистами, операторами по искусственному осеменению коров и телок и преподавателями кафедр акушерства, гинекологии и биотехники размножения животных.

Проведенные испытания показали, что оплодотворяемость коров и телок при их визуально-цервикальном способе искусственного осеменения помощью вагоскопа является высокой и не уступает результатам, получаемым при ректо-цервикальном осеменении.