

7. Searle A. G., Beechey C. V. Mutation Research., 22, 1, 63, 1974
8. Toxicology of Uranium. New-York-Toronto-London, 23, 333, 1951.
9. United Nations. Ionising Radiations: Sources and Biological Effects. Report to the General Assembly with annexes. United Nations publications, Sales E. 82, IX, 8, New-York, 1982.

Поступило 16.I 1985 г.

Биолог. ж. Армении, т. 39, № 11, с. 929—933, 1986

УДК 636.2-591:089.843

ТРАНСПЛАНТАЦИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В АРМЕНИИ

А. К. ШАХБАЗЯН, А. С. КРИВОХАРЧЕНКО, А. А. ОВСЕПЯН,
Л. Н. ВИЛЬЯНОВИЧ, Г. А. СЕРОВЯН, А. К. ОГАНЕСЯН,
В. Б. МНАЦАКАНЯН, Е. В. ТРОНИКО, К. Г. ГАЗАРЯН

Лаборатория воспроизводства с/х животных методами трансплантации эмбрионов
при совхозе «Бурастан» Арташатского р-на Армянской ССР. Институт
молекулярной генетики АН СССР, Москва

Аннотация — Палажен метод трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота кавказской бурой породы в условиях Армении.

Անոտացիա — Դերքրքրված է Եւրասիական պարզանկերում խոշոր կզրքրքրող տնտեսների կողմանից զորք տնտեսի տնտեսի փոխանակման մեթոդը:

Abstract — The method of bovine embryotransfer of the Caucasian brown breed under conditions of Armenia has been arranged.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, трансплантация, эмбрион.

Трансплантация эмбрионов крупного рогатого скота (КРС) включает в себя супероуляцию (множественную овуляцию), многоразовое искусственное осеменение, извлечение (вымывание) эмбрионов, хранение или кратковременное культивирование их и трансплантацию полученных эмбрионов [4, 8]. Трансплантацией эмбрионов сельскохозяйственных животных занимаются уже в течение нескольких десятилетий. С каждым годом этот комплекс методов все более широко входит в практику животноводства [2, 13]. Однако результаты работ по трансплантации эмбрионов сильно зависят от времени года, породных характеристик, условий содержания, а также от местных климатических условий [7, 9].

В настоящей работе приводятся результаты первых экспериментов по трансплантации эмбрионов скота кавказской бурой породы.

Материал и методика. Исследования проводили с января 1984 г. в Лаборатории воспроизводства с/х животных методами трансплантации эмбрионов при совхозе «Бурастан» Арташатского района Госагропрома АрмССР на половозрелых коровах и телках кавказской бурой породы. В качестве реципиентов использовали также животных симментальской, герефордской пород, которые значительно отличаются от кавказской бурой породы по фенотипу. В эксперименте использовали абсолютно здоровых животных с нормальным состоянием матки, яичников и яйцеводов, определяемым путем ректального анализа. Наступление половой охоты у коров и телок устанавливали по

комплексу поведенческих реакций и клиническим показателям (рефлексу неподвижности, наличие слизи и т. д.), а также с помощью быка-пробника.

Суперовуляцию вызывали с помощью гонадотропных препаратов: фоллигона (Interfert, Нидерланды), PMSG (Clin-Midy, Франция) и FSG (Burgs-Biotec, США). Для синхронизации доноров и реципиентов использовали простагландин F_{2a} : оэстрофан (Spofa, СССР) или эизапрост (Hinoip, Венгрия).

Доноров осеменяли ректо-цервикальным способом двух- или трехкратно с 12-часовым интервалом, через 6—18 ч после первых проявлений охоты. Осеменение проводили замороженной спермой и необлученными или облученными гранулами с использованием стандартных пипеток или специальных катетеров для осеменения [3] со стерильными чехлами.

Суперовуляторную реакцию яичников определяли ректально, путем подсчета желтых тел (ж. т.) и фолликулов.

Извлечение эмбрионов осуществляли только нехирургическим способом, вымыванием, используя для телок и первотелок одноканальный безманжетный катетер конструкции Велевита [1], а для коров с крупными рогами матки—трехканальный катетер Кассу (IMV, Франция). Эмбрионы извлекали на 7—8-й день после охоты, день охоты считая нулевым. Для вымывания использовали сухую модифицированную среду Дюльбекко [14] без бычьего сывороточного альбумина (БСА), полученную из лаборатории эндокринологии с/х животных МГУ, и жидкую модифицированную среду Дюльбекко (Enghobio, Франция). Сухую среду растворяли в бидистиллированной воде, стерилизацию среды проводили с помощью специальной системы для стерилизации с использованием фильтров типа GS с диаметром пор 0,22 мкм (Millipore, США). Для проверки качества среды измеряли осмотическое давление (осмометр ЗД 11, Advanced Instruments, США) и определяли значение pH (pH-метр X 317, Mera-Elwro, Польша).

Поиск эмбрионов осуществляли под стереоскопическим микроскопом МБС-9 в разовых пластиковых чашках Петри, окончательную оценку качества эмбрионов проводили под инвертированным микроскопом «Ортоп» с использованием оптики Намарского (Ortop, ФРГ). Для кратковременного хранения или культивирования эмбрионов использовали также модифицированную среду Дюльбекко с добавлением БСА (Fluca, Швейцария) в концентрации 4 мг/л.

Трансплантацию эмбрионов проводили хирургическим и нехирургическим методом. Для общей, сакральной, проводниковой и местной анестезии использовали ромпун (Bayet, ФРГ) и новокаин.

При хирургической трансплантации разрез делали в области голодной ямки, рог матки осторожно подтягивали к разрезу и в ее полость вводили эмбрион и минимальном объеме среды (в хирургической трансплантации участвовал ассистент кафедры хирургии ЕрЗВН Г. Арутюнян). При нехирургической трансплантации использовали специальный трансплантационный катетер Кассу (IMV, Франция). Реципиентам предварительно внутримышечно вводили маточный релаксант («WDT», ФРГ).

Результаты и обсуждение. Гонадотропные гормоны для вызывания суперовуляции вводили на 9—11-й день после спонтанной или индуцированной охоты. Коровам и телкам в зависимости от массы вводили различные дозы гормона, от 2000 до 3500 международных единиц. Через 48—72 ч вводили простагландин F_{2a} в дозе 0,5—1,0 мг клопростенола. Как правило, охота наступала через 48—72 часа. Из литературных данных [1, 6, 8] известно, что животные, несмотря на нормальные физиологические и клинические показатели, по-разному реагируют на введение гонадотропных гормонов. В наших экспериментах также наблюдалась неодинаковая реакция яичников на суперовуляцию, определяемая путем ректальной пальпации. У 14,7% доноров (общее число животных 142) при ректальной пальпации яичников желтые тела и фолликулы практически не обнаруживались. Остальные животные реагировали на введение гонадотропных, однако в наших экспе-

риментах примерно 50—60% суперовулировавших животных нормальных эмбрионов (пригодных для трансплантации) не дали. Вместе с тем этот процент может быть несколько необъективным, поскольку для получения нормальных эмбрионов большое значение имеет и качество спермы. Наши данные согласуются с результатами работ других авторов [6], согласно которым у 50% доноров эмбрионы либо испорчены, либо при пересадке относительно качественных по морфологии эмбрионов эти животные не дают потомства.

Очень существенным для успешного вымывания эмбрионов фактором является использование подходящего катетера. Использованный нами в большинстве экспериментов одноканальный безманжетный катетер обеспечивает хорошую проходимость шейки матки (только в одном случае пройти шейку матки не удалось), практически не травмирует животное, обеспечивает минимальные потери шовимой среды (около 3%) и высокую извлекаемость эмбрионов. Успех вымывания зависит также от опыта и умения оператора. В табл. 1 приведены данные об общем количестве извлеченных эмбрионов и яйцеклеток от числа желтых тел.

Таблица 1. Извлекаемость эмбрионов и яйцеклеток при нехирургическом вымывании

Общее число животных	Среднее число ж. т. на донора	Среднее число полу- ченных эмбрионов и яйцеклеток	Процент извлекаемости от числа ж. т.
56	10,8	7,1	65,7

Сравнение данных, приведенных в табл. 2, с результатами работ других исследователей, у которых процент извлекаемости составлял

Таблица 2. Приживляемость эмбрионов после трансплантации

Количество реципиентов	Трансплантировано всего эмбрионов	Получено стельностей	Уже получено телят
24	35	11	12

50—80% [4, 8], показало, что выбор одноканального катетера был сделан удачно. Кроме того, оказалось, что при работе с данным катетером на телках для промывания каждого рога матки достаточно использовать по 250 мл среды, в то время как другие авторы использовали, как правило, по 500 мл.

Модифицированная сухая среда Дюльбекко, применяемая нами для вымывания эмбрионов, была изготовлена в основном из отечественных реактивов. При сравнении результатов экспериментов с использованием модифицированной жидкой среды Дюльбекко и отечественной сухой модифицированной среды Дюльбекко никакой существенной разницы обнаружено не было. Осмотическое давление и рН как одной, так и другой находились в пределах допустимого (280—300 мосм/кг и 7,2—7,4 соответственно).



Эмбрионы для трансплантации вымывали, как уже отмечалось, на 7—8-й день после начала охоты. Извлеченные эмбрионы находились на следующих стадиях: компактной морулы, ранней бластоцисты, бластоцисты и экспандированной бластоцисты. Размеры эмбрионов—от 160 до 170 мкм. Оценку их по стадии развития и качеству (жизнеспособности) проводили путем морфологического анализа под инвертированным микроскопом [10]. Помимо морфологической оценки существует несколько подходов для определения жизнеспособности эмбрионов: определение способности эмбрионов поглощать глюкозу *in vitro* [11], использование флуоресцентных красителей [12] и т. д. Все эти методы требуют сложного оборудования или длительного культивирования *in vitro*, применение их в той или иной степени влияет на эмбрион, что в конечном итоге может сказаться на его жизнеспособности. Вместе с тем морфологический анализ по эффективности не уступает указанным методам, хотя и требует опыта и квалификации исследователя. Часть нормальных эмбрионов отбирали для трансплантации, остальные оставляли для проведения гистологического анализа с целью подтверждения морфологической оценки качества и стадии развития эмбрионов.

Отобранные для трансплантации эмбрионы помещали в среду с БСА, далее эмбрион в минимальном объеме среды с помощью трансплантационного катетера Кассу вводили в верхнюю греть рога матки реципиента. Существенное значение при трансплантации имеют правильная анестезия и, особенно, использование маточного релаксанта. Эмбрионы трансплантировали в ipsilateralный рог при наличии хорошо выраженного желтого тела. В одном случае трансплантацию осуществляли хирургическим способом. Результаты проведенных нами трансплантаций приведены в табл. 2.

Процент приживляемости трансплантированных нами эмбрионов хорошо согласуется с данными других исследователей [5, 8]. В ноябре 1984 г. в результате хирургической трансплантации эмбриона был получен первый теленок. Для большей наглядности эксперимента специально были отобраны реципиенты, фенотипически хорошо отличающиеся от доноров. Вместе с тем для подтверждения достоверности происхождения потомства во ВНИИ племенного дела провели иммуногенетический анализ отцов, доноров, реципиентов и потомства, который доказал происхождение телят от доноров. В 10-ти случаях с целью получения искусственных двойн в один рог матки трансплантировали два-три эмбриона. В результате таких пересадок уже родились две двойни.

Таким образом, впервые в Армении на КРС кавказской бурой породы успешно осуществлены получение и трансплантация эмбрионов, завершившиеся рождением телят.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Белевич В. П. и др. В сб.: Эндокр. и трансп. энгот с/х жив., М., 1982.
2. Сергеев Н. П. и др. Животноводство, 10, 20—22, 1983.
3. Остапко Ф. П. и др. Молочное и мясное скотоводство, 1, 32—34, 1985.
4. Anderson G. B. Adv. Vet. Sci. and comp. Med., 27, 129—162, 1983.

5. Chupin D. Tacheteerouge Simmental, 3, 26-31, 1985.
6. Donaldson L. E. Theriogenology, 21, 4, 517-524, 1984.
7. Donaldson L. E. Theriogenology, 21, 6, 1013-1018, 1984.
8. Creve T. Nord. Vet. Med., 32, 513-522, 1980.
9. Hahn J. Rinderproduktion, 63, 20-21, 1983.
10. Lindren G. M. and Wright R. W. Theriogenology, 29, 4, 407-416, 1983.
11. Kelger D. Theriogenology, 21, 1, 138-149, 1981.
12. Schilling c. d. Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys., 19, 1625-1629, 1979.
13. Seldel G. E. and Seldel S. M. Inc. New Technologies in Animal Breeding, New York, 1981.
14. Whittingham D. G. Nature, 225, 125-126, 1971.

Поступило 26.II 1986 г.

Биол. ж. Армении, т. 39, № 11, с. 933-937, 1986

УДК 577.15.591.8

ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ АСПАРАГИНАЗЫ ДРОЖЖЕЙ *CANDIDA GUILLIERMONDII* ВКМ-У-42 ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА И ГЛЮКОЗЫ

К. Р. СТЕПАНИАН, М. А. ДАВТЯН

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии и проблемная
лаборатория сравнительной и эволюционной биохимии

Аннотация — Показано, что если в среду источники азота и глюкозы вносятся в количествах, при которых в процессе выращивания дрожжей сравнительно раньше расходуется источник азота, то активность аспарагиназы с начала логфазы роста непрерывно снижается. Если же раньше расходуется глюкоза, то она, несколько снижаясь, затем повышается до значения выше исходного и в случае с аспарагином и сравнивается с ним — при аспартате и $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

После расхода глюкозы при всех использованных источниках азота рН среды роста повышается, и в зависимости от степени насыщения клеток азотом в среду выделяется NH_3 .

Անոտացիա — ճուշդ է տրված, որ եթե միջավայրում գլյուկոզան և ազոտի աղբյուրը ավելացվել են արեգիտի բաժանվող փուլներով, որ խմորումների անձան պրոցեսում համեմատաբար շուտ է սպառվում ազոտի աղբյուրը, ապա ապարագինազայի ակտիվությունը սկսած լոգֆազի սկզբից անընդհատ նվազում է: Եթե շուտ է սպառվում գլյուկոզան, ապա ֆերմենտի ակտիվությունը սրբ չափով նվազելուց փետ սկսում է անկ և դառնում սկզբնականից բարձր՝ ասպարագինը որպես ազոտի աղբյուրը օգտագործելիս և համաստիվում սկզբնական արժեքին՝ ապարագին և $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ի դեպքում:

Գլյուկոզայի ծախսվելուց փետ օգտագործված լոգոթ ազոտի աղբյուրների դեպքում միջավայրի pH-ը անում է և կախված բերքների ազոտով հագեցվածության աստիճանից միջավայր է արտադրատվում NH_3 :

Abstract — It has been shown that if in the medium the nitrogen sources and glucose have been introduced in such number that in the process of yeasts increasing the nitrogen source is wasted earlier, then the asparaginase activity leading off the beginning of logphase of growth incessantly decreases. If glucose is wasted earlier, then the activity of ferment, decreasing a little, begins to increase and becomes higher than in the beginning when asparagen is used and becomes equal in case of aspartate and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.