

Научные Протоколы, используемые для оценки **Нового Absolute Σ UI™ Катетера** для сравнения с Традиционными Пенными Катетерами

Исследователи:

Пом. Профессор Kamron Kaеoket, DVM, MSc, доктор философии (Репродукция Свиной) Электронная почта: vskkk@mahidol.ac.th

Д-р Dusit Laohasinnarong,
Электронная почта DVM:
vsdlh@mahidol.ac.th

Факультет Ветеринарии, Университета Mahidol, Salaya,
Phutthamonthon, Nakorn-pathom, Таиланд 73170
Телефон: 66 02 4415242 ext 1526 Факс: 66 02 4410937

Цели

- Сравнить распределение спермы в месте соединения маточных труб (UTJ) и маточной трубе (сравнение ИО и IUI)
- Сравнить процент оплодотворяемости (сравнение между ИО и IUI)
- Сравнить процент покрытия (сравнение между ИО и IUI)
- Сравнить процент опоросов (сравнение между ИО и IUI)
- Сравнить размер помета (сравнение между ИО и IUI)
- Сравнить дозу осеменения (1.5 против 3.0×10^9 сперматозоид.)

Экспериментальный дизайн

В целом 60 свиной были разделены на 4 группы (15 свиноматок в каждой группе). Они были куплены от коммерческой фермы и содержались в Университете Mahidol. **Группа-А (15 свиной):** осеменена с использованием **пенного наконечника** с дозой 1.5×10^9 сперм.

Группа-А1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-А2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-А3 (5 свиноматок): чтобы увидеть процент покрытия, опороса и размер помета

Группа-В (15 свиной): осеменена с использованием **пенного наконечника** с дозой 3.0×10^9 сперм.

Группа-B1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-B2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-B3 (5 свиноматок): чтобы увидеть процент покрытия, опоросов и размера помета

Группа-C (15 свиноматок): осеменена с использованием нового катетера (Absolute Σ UI™) с дозой 1.5×10^9 сперм.

Группа-C1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-C2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-C3 (5 свиноматок): чтобы увидеть процент покрытия, опоросов и размера помета

Группа-D (15 свиноматок): осеменена с использованием нового катетера (Absolute Σ UI™) с дозой 3.0×10^9 сперм.

Группа-D1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-D2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-D3 (5 свиноматок): увидеть процент покрытия, опоросов и размер помета

Материал и Методы

Выявление охоты и контроль овуляции

Выявление охоты выполнялось осмотром вульвы на наличие покраснения и припухлости (предтеча) так же как и рефлекса стояния (охота) в присутствии хряка. Выявление охоты проводилось дважды в день. Овуляция сопровождалась каждые 8 ч трансректальной ультрасонографией как описано ранее (Каеокет и др., 2002; Каеокет и др., 2005).

Осеменение и убой

Все свиньи были осеменены дважды одним и тем же оператором в 24 ч и 36 ч после стоячей охоты дозой объединенной спермы (два хряка с доказанной плодотворностью), содержащей 1.5×10^9 или 3×10^9 сперм. в BTS на 100 мл (Beltsville Thawing Раствор; Pursel и Johnson, 1976). После растворения сперма была сохранена при 16-18°C и использована в пределах 48 ч при помощи пенного наконечника и нового катетера. Свиньи были распределены **для убоя в различных группах.**

Группа-A (15 свиноматок): осеменена с использованием **пенного наконечника** с дозой 1.5×10^9 СПЕРМ.

Группа-A1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-A2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент

оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО) **Группа-В (15 свиноматок)**: осеменена с использованием **пенного наконечника** с дозой 3.0×10^9 СПЕРМ.

Группа-В1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-В2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-С (15 свиной): осеменена с использованием нового **катетера (Absolute Σ UI™)** с дозой 1.5×10^9 сперм.

Группа-С1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-С2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Группа-Д (15 свиноматок): осеменена с использованием нового **катетера (Absolute Σ UI™)** с дозой 3.0×10^9 spermatozoa.

Группа-Д1 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть распределение спермы в матке и маточной трубе (5-6 ч после ИО)

Группа-Д2 (5 свиноматок): убой, чтобы увидеть процент оплодотворяемости (спустя 3 дня после ИО)

Половые органы были немедленно удалены после убоя. Число зрелых яйцеклеток было посчитано.

Восстановление ооцитов и сперматозоидов от flushed маточных труб

Методика флашинга позволяет сделать более точную оценку числа и распределение oviduct сперматозоидов, чем на месте наблюдение со сканирующим электронным микроскопом (Mbugu и др., 1996). По этой причине, UTJ (1 см кончика маточного рога и 1 см перешейка) были флашингованы дважды с 0.5 мл и перешеек и ампула отдельно дважды с 10 мл буфера соли фосфата (PBS) при 37°C (обе стороны). Все флашинги были сделаны непосредственно в пластмассовые пузырьки Eppendorf (UTJ) или блюда Петри (перешеек и ампула). Сперматозоиды от UTJ были закреплены формальным соляным раствором и оценены под световым микроскопом при использовании гемоцитометра (камера Bürker, усиление x400). Ооциты были восстановлены под стереомикроскопом и исследованы под перевернутым контрастным фазовым микроскопом (усиление x200) для присутствия сперматозоида в прозрачной зоне. Маточные трубы (перешеек и ампула) свиной были также флашингованы, чтобы вернуть ооциты.

Восстановление неоплодотворенных и расколотых ооцитов от утробных рожков

Утробные рожки (20 см от кончика рожков) от свиной были флашингованы дважды с 20 мл буфера соли фосфата (PBS) при 37°C, и жидкость была собрана в блюда Петри. Ооциты были тогда изолированы и исследованы под стереомикроскопом и перевернутым контрастным фазовым микроскопом (Олимп, Япония; усиление x200) для их морфологии и стадии, связанной с развитием. Ооцит

рассмотрели как неоплодотворенный, когда никакой раскол не наблюдался. Расколотый ооцит считался нормальным, когда ясное перивиталина пространство было замечено, и бластомеры были распространены без признака распада.

Процент покрытия, опорогов и размер помета

Выявление супоросности проводилось между днями 18-21 после осеменения при помощи ультразвука с режимом реального времени (В-режим).

Процент опорога и размер помета были также зарегистрированы.

Статистические исследования

Данные были проанализированы при использовании программы SAS (1989) PROC FREQ (Точный тест рыбака, два хвоста), использовался, чтобы сравнить распределение spermatozoa, число ооцитов со вспомогательной спермой к прозрачной зоне и оплодотворенных ооцитов между пенным наконечником и новыми катетерами IUI.

Справочная информация

Mburu, J.N., Einarsson, S., Lundeheim, N., Родригес-Martinez, H., 1996.

Распределение, число и мембранная целостность spermatozoa в маточной трубе свиньи относительно непосредственной овуляции. Anim.Reprod. Sci. 45, 109-121.

Каеокет, К., Persson E., Dalin A.-M., 2002. Влияние пред- и пост – овулярного осеменения на распределении спермы в маточной трубе, вспомогательной спермой к зоне pellucida, процент оплодотворения и развитие эмбриона в свиньях. Anim. Reprod. Sci 71, 239-248.

Каеокет, К., Tantasuparuk, W, Kunavongkrit, A. 2005. Эффект пост – овулярного осеменения на длину последующего цикла охоты, эмбриональную потерю и влагалищную discharge разгрузку в свиньях. Reprod. Dom. Anim. 40, 492-494.