

ПОЛУЧЕНИЕ ЗАРОДЫШЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВНЕ ОРГАНИЗМА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

Старовойтова М.П., Андрейчик Е.А.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Одним из путей получения большого количества потомков от генетически ценных самок сельскохозяйственных животных — оплодотворение ооцитов и культивирование эмбрионов вне организма (*in vitro*). При традиционных методах воспроизводства сельскохозяйственных животных самки продуцируют значительно меньшее число гамет, чем самцы. Так, общее число потенциальных, или незрелых, половых клеток у коровы составляет от 100 тыс. до 1 млн., причем менее 0,01% из них овулируют из зрелых фолликулов яичника. Если учесть, что при интенсивном пути развития молочного скотоводства продолжительность продуктивной жизни коровы в среднем составляет три-четыре отела, то от каждой коровы можно получить не более четырех телят. Максимальное использование генетического фонда яйцеклеток возможно лишь в условиях созревания и оплодотворения их *in vitro* [1-3].

Цель исследований — изучение влияния эффективности использования в культуральных системах *in vitro* фолликулярной жидкости и эстральной сыворотки крупного рогатого скота.

Исследования проводились в биотехнологическом центре по репродукции сельскохозяйственных животных УО «ГТАУ».

Выделение ооцитов проводили путем надреза ткани яичников стерильным лезвием безопасной бритвы в чашке Петри (090) в солевом буфере с добавлением 1% эстральной сыворотки крупного рогатого скота, 10 ед/мл гепарина и 1 ед/мл генарина. Затем проводили их поиск и морфологическую оценку качества под бинокулярным микроскопом «Olympus» при 16-90-кратном увеличении и помещали в CO₂ инкубатор «Memmert» в питательной среде для дозревания клеток при температуре 38,7⁰C с максимальной влажностью 98%. После 24-часового дозревания ооциты ставили на совместное инкубирование со сперматозоидами.

Оплодотворение проводили замороженно-оттаянной спермой.

Совместная инкубация спермы и ооцитов продолжалась в течение 18-20 часов при температуре 38,7⁰C в атмосфере 5% CO₂ и максимальной влажности. После совместного инкубирования ооциты отмывали от сперматозоидов и в среде для созревания на монослойных клетках снова помещали в CO₂ инкубатор на 7-9 дней (до получения пригодных для трансплантации эмбрионов). Питательные среды для созревания, кашапитации и оплодотворения были приготовлены по нашим методикам на основе реактивов фирмы Sigma.

Для получения фолликулярной жидкости ее аспирировали из фолликулов заданного диаметра. Для предотвращения коагуляции добавляли гепарин в концентрации (0,1 мг/мл). Затем центрифугировали при 3000 об/мин в течение

5 минут, фильтровали через миллиметровые фильтры с диаметром пор 0,22 мкм и замораживали и по мере необходимости оттаивали.

In vivo фолликулярная жидкость является естественной средой созревания и развития ооцитов. В искусственных условиях (in vitro) для обеспечения необходимых условий созревания ооцитов и культивирования рашпий зародышей чаще всего используется эстральная сыворотка крупного рогатого скота, включающая многочисленные компоненты, в том числе гормоны, факторы роста и белки, способствующие эффективному созреванию ооцит-кумулясных комплексов.

При сравнительном анализе эффективности использования фолликулярной жидкости и эстральной сыворотки крупного рогатого скота достоверной разницы не установлено. Все показатели находились практически на одном уровне. Так, при использовании фолликулярной жидкости выход эмбрионов на 1,4%, а бластоцист на 2,2% был выше по сравнению с эстральной сывороткой. Что касается качества полученных зародышей - в присутствии фолликулярной жидкости данный показатель (Мо+Бл) превышал на 5,8% при использовании эстральной сыворотки, в то время как по качеству бластоцист получены обратные результаты. Качество эмбрионов, полученных в присутствии эстральной сыворотки, превышало аналогичный показатель при использовании фолликулярной жидкости на 22,2%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эрст, Л.К. Получение телят из дозревших и оплодотворенных вне организма коровы фолликулярных ооцитов / Л.К. Эрст, М.И. Прокофьев, Е.С. Прокофьева // Вестник сельскохозяйственной науки. - 1987. - № 6. - С.82-87.
2. Assay, R.J. Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles / R.J. Assay, P. Hitter, T. Greave // Mol. Reprod. Dev. - 1994. - Vol. 37. - P. 334-335.
3. Ball, G.D., Leibfried M.L., Lenz R.W., Ax R.L., Bavister B.D. and First N.L. Factors affecting successful in vitro fertilization of bovine follicular oocytes / G.D. Ball, M.L. Leibfried, R.W. Lenz // Biol Reprod. - 1993. - Vol. 28. - P. 717-725.