

оттаивания, что обеспечивает получение после экстракорпорального оплодотворения 16,7% зародышей на ранних стадиях дробления.

Таким образом, предварительное культивирование ооцит-кумулясных комплексов коров в течение 24 ч в количестве 20 шт. на 500 мкл среды перед витрификацией в 20% этиленгликоля + 20% ДМСО + 20% фетальной сыворотки + ТС-199 повышает криорезистентность гамет, что проявляется в повышении их жизнеспособности на 3,0-9,2% после оттаивания и выхода, созревших до стадии метафаза II мейоза клеток на 3,9-12,5% по сравнению с остальными опытными группами.

Работа выполнена при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (проект Б14Р-237).

УДК 636.2:612.64.089.67

ВЛИЯНИЕ ПРОЦЕДУРЫ АСПИРАЦИИ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ КЛЕТОЧНЫХ СТРУКТУР ООЦИТ-КУМУЛЮСНЫХ КОМПЛЕКСОВ

**Голубец Л. В.¹, Дешко А. С.¹, Кыса И. С.¹, Белевич В. И.¹,
Попов М. В.², Хромов Н. И.³**

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь

² – Учебно-практический центр биотехнологий ОАО «Почапово»
г. Пинск, Республика Беларусь

³ – ООО «Бетагран Липецк»
г. Липецк, Российская Федерация

Технология *in vitro* не только расширила рамки использования животных с выдающимися селекционными признаками, но и способна в ближайшем будущем стать если не альтернативой, то сильным конкурентом обычной трансплантации эмбрионов, в отличие от которой может успешно использоваться независимо от физиологического и репродуктивного статуса донора. Например, ооциты могут извлекаться до двух раз в неделю независимо от стадии полового цикла, их можно получать у стельных (до 3-х месяцев) животных, животных с патологиями репродуктивного тракта (за исключением яичников), а также у животных, не отвечающих реакцией суперовуляции на гормональную обработку. Для получения ооцитов нет необходимости в гормональной стимуляции множественного роста фолликулов, а в перерасчете на месячную эмбриопродуктивность получается большее количество зародышей по сравнению с трансплантацией эмбрионов [1-3].

Целью наших исследований стало изучение влияния процедуры аспирации на морфофункциональное состояние клеточных структур ооцит-кумулюсных комплексов.

Трансвагинальную пункцию фолликулов проводили с использованием ультразвуковой системы Aloka SSD 500, включающую ультразвуковой сканер Aloka Prosound 2, ультразвуковой излучатель с частотой 7,5 MHz, вакуумную помпу Craft suction unit, держатель ультразвукового излучателя и иглы диаметром 18G (1,27 мм). Величина вакуума, выраженная в скорости потока жидкости, составляла 25 мл/мин. Локализацию ооцит-кумулюсных комплексов проводили с помощью эмбрионального фильтра «EMCON», поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под микроскопом «Olympus» при 16- и 90-кратном увеличении [2].

Трансвагинальная аспирация ооцитов предполагает забор ооцитов из фолликула посредством вакуума и их прохождение через систему игла-трубка-пробирка, что не может не сказаться на состоянии и целостности их кумулюса. В связи с вышеизложенным нами было изучено влияние процедуры аспирации на морфофункциональное состояние клеточных структур, таких как кумулюс, ооплазму и зону пеллюцида. В качестве контроля служили ооциты, полученные путем аспирации и из яичников животных после их убоя.

Как показали результаты исследований, количество ооцитов с одним слоем кумулюсных клеток, полученных путем прижизненной аспирации, увеличивалось по сравнению с ооцитами, полученными из яичников животных после их убоя на 27,1 п. п., с 2-3 слоями на 17,7 п. п., а с многослойным кумулюсом уменьшалось на 47,2 п. п.

Оценка клеток по состоянию ооплазмы показала, что если при аспирации количество ооцитов с ооплазмой отличного качества (темная, плотна равномерно распределенная по зоне пеллюцида) и удовлетворительного было несколько выше 52 против 47,1% у ооцитов, полученных из яичников после убоя животных, и 35,6 против 27,3% соответственно, то ооцитов с ооплазмой неудовлетворительного качества (светлая равномерно распределенная или фрагментированная ооплазма) было больше в группе, полученных из яичников животных после их убоя. По состоянию зоны пеллюцида отличий не наблюдалось.

Многослойный кумулюс, как правило, бывает плотным или рыхлым. Рыхлость кумулюса указывает на снижение качества, а значит и жизнеспособности ооцит-кумулюсного комплекса. В наших исследованиях доля ооцитов с плотным кумулюсом среди ооцитов с многослойным кумулюсом составила только 9,6%, в то время как у ооцитов, полученных из яичников после убоя донора, этот показатель составлял

33,3%. Доля ооцитов без кумулюса при аспирации увеличивалось на 2,4 п. п.

ЛИТЕРАТУРА

1. Imai, K. Effect of the frequency of ovum pick-up intervals on follicle number, oocyte recovery and embryo production rates in cattle / K. Imai [et al.] // *Theriogenology*. – 2000. – Vol. 53. – P. 359.
2. Kruip, T. Potential use of Ovum Pick-Up for embryo production and breeding in cattle // T. Kruip [et al.] // *Theriogenology*. – 1994. – Vol. 42. – P. 675-683.
3. Ward, F. A. Factors affecting recovery and quality of oocytes for bovine embryo production in vitro using ovum pick-up technology / F. A. Ward [et al.] // *Theriogenology*. – 2000. – Vol. 54. – P. 433-446.

УДК 636.2:612.64.089.67

ОБЕСПЕЧЕНИЕ ООЦИТОВ ГОРМОНАЛЬНЫМ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИМ СУБСТРАТОМ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Голубец Л. В.¹, Дешко А. С.¹, Кыса И. С.¹, Белевич В. И.¹,
Попов М. В.², Хромов Н. И.³

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

² – Учебно-практический центр биотехнологий ОАО «Почапово»

г. Пинск, Республика Беларусь

³ – ООО «Бетагран Липецк»

г. Липецк, РФ

Получение полноценных эмбрионов крупного рогатого скота в условиях *in vitro* зависит от множества факторов, которые обуславливают нормальное ядерное и цитоплазматическое созревание ооцитов, их оплодотворение и развитие эмбрионов до предтрансплантационных стадий. Строгое соблюдение технологических параметров, стандартизация условий культивирования стабилизируют результативность опытов [1].

Разработанные в настоящее время методы культивирования ооцитов позволяют получать до 90% клеток на стадии «метафаза II». Однако при последующем оплодотворении и культивировании до предимплантационных стадий развивается не многим более 30%. Причиной этому служат многие факторы. В первую очередь необходимо понимать, что созревание ооцитов – это комплексный процесс, включающий в себя мейотическое преобразование ядра, цитоплазматическое созревание и преобразование мембраны. Поэтому если для завершения ядерного созревания *in vitro* ооцитам достаточно обеспечить в средах энергетический и гормональный минимум, то цитоплазматическое созревание