

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПОДГОТОВКИ СПЕРМЫ К ОПЛОДОТВОРЕНИЮ

Г олубец Л. В., Дешко А. С., Я кубец Ю . А., Драгун Т. Ю ., Сехина М. А.,
Харитоник Д. Н., Белевич В. И.

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Разработка технологии искусственного осеменения крупного рогатого скота позволила получать от одного производителя десятки тысяч потомков и тем самым сделала роль быков в совершенствовании стада определяющей. При этом роль маток в селекционном процессе не изменилась.

В настоящее время, благодаря последним достижениям в области биологии размножения, открылись новые возможности интенсификации процессов воспроизведения высокоценных генотипов сельскохозяйственных животных. Было установлено, что ооциты, извлеченные из фолликулов, при создании соответствующих условий способны возобновлять мейоз и созревать до стадии оплодотворения. Оплодотворение созревших вне организма яйцеклеток позволит получать эмбрионы на разных стадиях развития, а их пересадка реципиентам – племенной молодняк.

Выполняя ту же самую роль, что и трансплантация эмбрионов (максимально использовать репродуктивный и генетический потенциал племенных животных), технология получения эмбрионов в культуре *in vitro* имеет целый ряд преимуществ. В первую очередь она не требует гормональной обработки и не удлиняет сервис-период, а использование метода трансвагинальной аспирации ооцитов (ТАО), по международной классификации OPU, позволяет получать эмбрионы без гормонального вмешательства независимо от полового цикла до двух раз в неделю без ущерба для здоровья животного и даже в первую половину стельности, извлекать ооциты у молодых животных. Кроме этого, ооциты можно получать после убоя животного. Все это открывает новые возможности для массового производства эмбрионов с целью быстрого и качественного обновления или создания нового племенного ядра или высокопродуктивного стада.

Технология *in vitro* позволяет приобретать в принципе неограниченное количество ооцитов, оплодотворять их в культуре *in vitro* и в любой момент времени получать любое количество эмбрионов на

нужной стадии, что обуславливает ее незаменимую роль в получении трансгенных животных-продуцентов дешевых и экологически безопасных биологически активных веществ и различных лекарственных препаратов [1-3].

Одним из наиболее важных звеньев в технологии получения эмбрионов в культуре *in vitro* является процесс их оплодотворения. Подготовка спермы к оплодотворению и оплодотворение созревших ооцитов проводится по двум основным методикам:

1 – с использованием процедуры «флотации», по международной классификации «swimup»;

2 – с использованием градиента плотности Перколл.

В первом случае после оттаивания сперма подслаивается под среду капацитации в пробирке Эппендорф и ставится в инкубатор на 1 час, за это время самая активная часть сперматозоидов поднимается на границу спермы и среды и потом используется для оплодотворения. При использовании для оплодотворения градиента Перколл подготовка спермы проводится путем ее центрифугирования через колонку градиента, состоящую из 45 и 90 % Перколла. При этом самая активная часть спермы выпадает в осадок, а мертвая сперма и сопутствующие ингредиенты задерживаются в 90 % растворе Перколла.

Исследования по изучению эффективности различных методов подготовки спермы к оплодотворению ооцитов проводились на базе отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Анализ полученных данных показывает, что уровень дробления при использовании «swimup» составил 77,1 %, когда при использовании Перколла – 75,0 %. Выход blastocyst – 22,9 и 20,2 % соответственно. При этом следует отметить, что при использовании Перколла сокращается время на подготовку спермы. Нет необходимости инкубировать сперму в течение часа с целью «флотации» ее активной части.

Таким образом, при подготовке спермы к оплодотворению можно практически с одинаковым успехом использовать как процедуру «swimup», так и градиент плотности Перколл.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effect of two treatmentson semen from different bulls on in vitrofertilization results of bovine oocytes / Y. Aoyagi [et al.] // Theriogenology. – 1988. Vol. 30. – P. 973-985.
2. Avery, B. Impact of Percoll onbovine spermatozoa used for in vitro insemination / B. Avery, T. Greve // Theriogenology. – 1995. Vol. 44. – P. 871-878.
3. The effect of sperm preparation and co-incubation time on in vitro fertilization ofBosindicus oocytes / M. A. N. Dode [et al.] // Animal Reproduction Science. – 2002. Vol. 69. – P. 15-23.