

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO ОТ ТЕЛОК ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ

Драгун Т.Ю., Дешко А.С., Голубец Л.В., Сехина М.А., Попов М.В.
УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
г. Гродно, Республика Беларусь

*В статье представлены результаты исследований по изучению эффективности прижизненной аспирации ооцитов, а также выход эмбрионов пригодных к трансплантации от телок-доноров голштинской породы. Установлено, что средний выход ооцитов на одну аспирацию составил 10,3 ОКК (ооцит-кумулясный комплекс), доля пригодных для постановки на дозревание - 84,9%, из которых 48,4% ооцит-кумулясных комплексов оказалось отличного и хорошего качества. Выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов колебался в зависимости от используемого быка от 8,3 до 41,7% при среднем показателе 25,2%. **Ключевые слова:** донор, аспирация, ооцит-кумулясный комплекс, эмбрион, бластоциста.*

EFFICIENCY OF OBTAINING EMBRYOS IN VITRO CULTURE FROM HOLSTEIN BREED

Dragun T.Yu., Deshko A.S., Golubets L.V., Sekhina M.A., Popov M.V.
Grodno State Agrarian University, Grodno, Republic of Belarus

*The article presents the results of studies on the effectiveness of in vivo aspiration of oocytes, as well as the output of embryos suitable for transplantation from donor heifers of the Holstein breed. It was found that the average yield of oocytes per aspiration was 10.3 OCC (oocyte-cumulus complex), the proportion suitable for maturation was 84.9%, of which 48.4% of oocyte-cumulus complexes turned out to be of excellent and good quality. The yield of embryos from the number of fertilized oocytes varied depending on the bull used from 8.3 to 41.7% with an average of 25.2%. **Keywords:** donor, aspiration, oocyte-cumulus complex, embryo, blastocyst.*

Введение. Роль и значение трансплантации эмбрионов стала еще более весомой с развитием технологий позволяющих получать потомство заданного пола, а также с широким внедрением в практику племенной работы геномной селекции, поскольку представилась возможность не только проводить племенную оценку будущего животного уже на эмбриональной стадии развития, значительно снижая тем самым затраты, но и в разы сократила сроки и увеличила шансы выявления и отбора «VIP» потомков от родителей с выдающейся племенной ценностью [1-2]. При этом следует

отметить, что если производство эмбрионов *in vivo* в последние годы стабилизировалось, то количество эмбрионов полученных и пересаженных посредством культуры *in vitro* продолжает расти со среднегодовыми темпами в 12%, а в 2016 году в первые в истории трансплантации эмбрионов количество эмбрионов произведенных *in vitro* превысило количество эмбрионов произведенных по технологии *in vivo*, что указывает на сдвиг производителей эмбрионов от традиционной МОЕТ (Multiple Ovulation Embryo Transfer Technology) к IVP (*in vitro* production), что в немалой степени связано с повышением эффективности процедур IVP, хотя в целом ее уровень сегодня стабилизировался и не превышает в среднем 30-35% от числа поставленных на созревание и оплодотворенных ооцитов [3-4]. Данный факт говорит о том, что являясь по своей сути длительным, высокотехнологичным и достаточно сложным комплексным процессом, технология *in vitro* требует к себе особого внимания в плане понимания потребностей метаболизма гамет и эмбрионов, поэтому все исследования, направленные на улучшение общей производительности на всех этапах (получение ооцитов, их созревание и оплодотворение, развитие эмбрионов их криоконсервации и пересадки) являются актуальными и своевременными. Целью наших исследований явилось изучение эффективности получения эмбрионов в культуре *in vitro* от телок голштинской породы.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили на базе отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет». Ооциты получали путем трансвагинальной пункции фолликулов. В качестве промывной жидкости использовали фосфатносолевой буфер Дюльбекко с добавлением гентамицина и гепарина. Локализацию ооцит-кумулюсных комплексов проводили с помощью фильтра. Поиск и оценку качества полученных ооцитов осуществляли под биноклярным микроскопом при 16-90-кратным увеличением. Пригодные для созревания ооцит-кумулюсные комплексы помещали в культуральную среду созревания и помещали в инкубатор при температуре 38,7°C с максимальной влажностью 96-98%, уровнем углекислоты и кислорода 5%, азота 90%. Подготовку спермы проводили с использованием градиента плотности Перколл. После завершения оплодотворения, предположительные зиготы отмывались от спермы и помещались в инкубатор на 6-8 дней, до получения эмбрионов на предимплантационных стадиях развития. Математическую обработку полученных результатов проводили методом вариационной статистики с учетом критерия достоверности по Стьюденту с использованием программного пакета Microsoft Excel.

Результаты исследований. Одним из основных этапов ОРУ, во многом определяющим последующую эффективность всего процесса получения эмбрионов в культуре *in vitro* является количество и качество полученных ооцит-кумулюсных комплексов. Анализ данных показывает, что по результатам 58 аспираций было получено 595 ооцитов или 10,3 ооцита

на донора. При этом доля ооцитов, пригодных для дальнейшего дозревания, составила 84,9%, в том числе отличных и хороших - 48,4%, удовлетворительных и условно годных - 36,5%. Кроме этого получено 15,1% непригодных клеток. По уровню выхода ооцит-кумулюсных комплексов аспирации распределились следующим образом: с низким уровне выхода - до 3 клеток - 12 аспираций (20,7%), средним и выше среднего, 4-7 и 8-12 клеток, соответственно, по 13 аспираций (22,4%) и высоким – свыше 12 – 20 аспираций (34,5%).

Выход эмбрионов у доноров со средним уровнем выход ооцитов (4-7) а также с уровнем выше среднего (8-12) практически в два раза превышал данный показатель у доноров с низким и высоким уровнем выхода ооцитов - 32,8 и 34,3% против 16,0 и 17,7% при расчете от числа пригодных или оплодотворённых ооцитов и 27,4 и 29,8% против 14,8 и 14,7% при расчете от числа полученных ОКК.

Эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* во многом определяется оплодотворяющей способностью спермы. В наших исследованиях была использована сперма 8 быков-производителей. Наиболее эффективным оказалось оплодотворение ооцитов спермой быка Dawson, у которого выход эмбрионов от числа оплодотворенных ОКК составил 41,7%, что на 11,7-33,4 п.п. выше по сравнению с другими быками-производителями, самый низкий выход эмбрионов отмечен у быка Varsity - 8,3%.

В наших исследованиях доля бластоцист шестого дня составила 13,6% (17 из 125), седьмого – 57,6% (72 из 125), восьмого – 22,4 (28 из 125) и девятого – 6,4% (8 из 125).

Заключение. По результатам исследований установлено, что средний выход ооцитов на одну аспирацию составил 10,3 ОКК, доля пригодных для постановки на дозревание- 84,9%, из которых 48,4% ооцит-кумулюсных комплексов оказалось отличного и хорошего качества. Доля аспираций с уровнем выхода ооцитов выше среднего и высоким уровнем выхода составила 56%. Наиболее высокая оплодотворяющая способность отмечена у быка Dawson (41,7%).

Литература. 1. Boni, R. *Ovum pick-up in cattle: a 25 yr retrospective analysis* / R. Boni // *Animal Reproduction Science*. – 2012. Vol. 9. – P. 362-369. 2. Bousquet, D. *In vitro embryo production in the cow: an effective alternative to the conventional embryo production approach*/ D. Bousquet // *Theriogenology*. – 1999. – Nr. 51 (1). – P. 59–70. 3. Galli, C. *Bovine embryo technologies*/ C. Galli, R. Duchi, G. Crotti, P. Turini, N. Ponderato, S. Colleoni, I. Lagutina, G. Lazzari // *Theriogenology*. – 2003. – V.59. – P. 599-616. 4. Humblot, P. *Reproductive technologies and epigenetics: their implications for genomic breeding in cattle* / P. Humblot // *Acta Sci.*, - 2011. - Vt. 39 (add. 1) – P. 253–262.