ВЛИЯНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКИХ АГЕНТОВ В СОСТАВЕ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕД НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ ДЕКОНСЕРВИРОВАННЫХ ЗАРОДЫШЕЙ КОРОВ

Пайтерова О. В. , Будевич А. И. , Кирикович Ю. К. , Минина Н. Г. 2

- ¹ РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству»
- г. Жодино, Республика Беларусь;
- ² УО «Гродненский государственный аграрный университет»
- г. Гродно, Республика Беларусь

Криоконсервирование зародышей, являясь одним из этапов технологии трансплантации эмбрионов крупного рогатого скота, обеспечивает возможность длительного сохранения высокоценного генетического материала животных вне организма. Однако применение техник глубокого замораживания зародышей на практике зачастую приводит к снижению их жизнеспособности после оттаивания. Одной из основных причин негативного влияния низкотемпературного воздействия на эмбрионы является наличие физико-химических факторов, способствующих возникновению деструктивных процессов в клетках при их замораживании-оттаивании, к которым в т. ч. относятся повреждения, связанные с проницаемостью мембран, отвечающих за диффузию энергетических, защитных и других компонентов сред, обеспечивающих поддержание жизнеспособности биоматериала при его культивировании [1, 2]. В свою очередь, биологические мембраны, являющиеся также ограждающим барьером клетки от воздействий внешней среды, в структуру которых входят высокомолекулярные жирные кислоты и холестерин, наиболее чувствительны к низким температурам [3]. Возможно, использование процесса кратковременной делипидации зародышей на этапе их культивирования, в отличие от применения липолитических веществ в криосредах [4], снизит «нагрузку» на мембраны клетки при протекании внутри- и внеклеточного обмена при одновременном уменьшении концентрации жировой составляющей и позволит повысить последующую устойчивость эмбрионов к процессу замораживания-оттаивания при их криоконсервировании.

Исследования проводились в РДУП «ЖодиноАгроПлемЭлита» и СПК «Агрокомбинат Снов» Минской области. Свежеполученные зародыши отличного и хорошего качества, полученные от клинически здоровых коров-доноров голштинской породы отечественной селекции, перед криоконсервированием подвергались кратковременному культивированию в средах на основе изотонического фосфатно-солевого буфера с добавлением 4 мг/мл БСА, гентамицина 12 мкг/мл (контроль) и липолитических агентов: L-карнитина в концентрациях 0,75; 1,518 и 3,03 мМ

(«Sigma-Aldrich», Germany; опыт 1) и форсколина с содержанием 5,0; 10,0 и 25,0 мкМ («Sigma-Aldrich», Germany; опыт 2). Насыщение зародышей всех подопытных групп осуществлялось в 1,5 М растворе этиленгликоля. После эквилибрации в криопротекторе зародыши заправлялись в пайетты и подвергались замораживанию. Установлено, что кратковременное культивирование клеток перед их криоконсервированием позволило повысить качество заморожено-оттаянного эмбриоматериала коров-доноров. В зависимости от концентрации БАВ, вводимой в питательную среду, в группе эмбрионов с L-карнитином было установлено преимущество применения делипидирующего агента в концентрации 1,518 мМ, что позволило получить 92,3 % пригодных для эмбриотрансплантации клеток, или на 1,4 п. п. больше, чем в группе с 0,75 мМ, на 0,6 п. п. при 3,03 мМ и на 7,7 п. п., чем в контроле. К максимальному (91,7 %) выходу полноценных эмбрионов привело введение в культуральную среду форсколина в концентрации 10 мкМ, что способствовало повышению значения указанного показателя в среднем на 0,8 п. п. по сравнению с другими опытными группами и на 1,7 п. п. – с контролем. При анализе эффективности кратковременного культивирования зародышей перед криоконсервированием в среде с добавлением различных БАВ липолитической направленности не отмечено достоверных различий с контролем в их сохранности после дефростации. Однако обозначилась тенденция повышения жизнеспособности эмбриоматериала, что требует проведения дополнительных исследований по изучению действия указанных выше биологически активных агентов на других этапах технологии криоконсервирования зародышей крупного рогатого скота.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Van Soom A., Wrathall A.E., Herrler A., Nauwynck H.J. Is the zonapellucida an efficient barrier to viral infection? // Reprod. Fertil.Dev. 2010. V. 22. P. 21-31.
- 2. Sifer C., Sellami A., Poncelet C. et al. A prospective randomized study to assess the benefit of partial zonapellucida digestion before frozen_thawed embryo transfers // Hum. Reprod. 2006. V. 21 № 9 P. 2384-2389.
- 3. Williamson, P. Involvement of spectrocyte membrane / P. Williamson, J. Bateman, K. Kazarsky // Cell. 1982. Vol. 30. P. 725-733.
- 4. Sudano MJ, Paschoal DM, da Silva Rascado T, Crocomo LF, Magalh~aes LC, Junior AM, et al. Crucial surviving aspects for vitrified in vitro-produced bovine embryos. Zygote 2014; 22:124-31.