

ИЗУЧЕНИЕ ТЕХНИЧЕСКОЙ ВОЗМОЖНОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭМБРИОНОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В КУЛЬТУРЕ *IN VITRO* ИЗ БОЕНСКОГО МАТЕРИАЛА

Т. Ю. ДРАГУН, мл. науч. сотрудник

М. А. СЕХИНА, мл. науч. сотрудник

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,
Гродно, Республика Беларусь

Аннотация. По результатам проведенных исследований авторами установлена техническая возможность получения эмбрионов крупного рогатого скота в культуре *in vitro* из боенского материала. Было установлено, что выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов колебался в зависимости от используемого быка от 7,7 до 33,5 % при среднем показателе 20,4 %.

Введение. Современное животноводство активно внедряет репродуктивные биотехнологии для ускорения генетического прогресса и повышения продуктивности как племенного, так и товарного поголовья крупного рогатого скота (КРС). Одним из перспективных методов является технология получения эмбрионов в культуре *in vitro*, которая позволяет эффективно использовать генетический потенциал животных, включая тех, чьи репродуктивные органы получены после убоя на мясоперерабатывающих предприятиях. Такой подход дает возможность эффективно получать биоматериал без необходимости долгосрочного содержания доноров, что особенно важно для племенного разведения [1].

Использование боенского материала для получения ооцитов может быть эффективным при условии соблюдения строгих требований к отбору, транспортировке и культивированию клеток [2]. В условиях Республики Беларусь, где действует развитая сеть мясоперерабатывающих предприятий и существует спрос на генетически ценный молодняк, вопрос об использовании боенского материала для получения эмбрионов приобретает особое практическое значение.

Цель исследований – изучение технической возможности получения эмбрионов КРС из боенского материала.

Яичники для исследования отбирали на конвейере ОАО «Гродненский мясокомбинат». После овариоэктомии их помещали в zip-пакеты с раствором хлорида натрия и транспортировали в термосе при физиологической температуре в течение 1,0–1,5 ч с момента убоя.

Ооциты выделяли методом рассечения ткани яичника в чашке Петри в свежем физиологическом растворе с добавлением бычьего сывороточного альбумина. Морфологическую оценку извлеченных ооцитов проводили под бинокулярным микроскопом, а качество клеток определяли по установленной лабораторной методике [3].

Отобранные ооциты помещали в среду для дозревания, где их инкубировали при условиях, способствующих оптимальному развитию. Для оплодотворения использовали замороженно-оттаянную сексированную сперму, подготовленную методом градиента плотности. Инкубация ооцитов и сперматозоидов продолжалась в течение 18–20 ч. После оплодотворения предполагаемые зиготы отмывали от остатков спермы и культивировали до предимплантационных стадий. На всех этапах работы использовались специализированные среды Vitrogen.

Полученные эмбрионы витрифицировали с использованием криопротектора, после чего эмбрионы размещали на носителях Cryotop и помещали для хранения в жидкий азот в сосуде Дьюара.

В рамках проведения исследований было проделано 5 циклов и отработано 70 доноров. За 5 циклов было получено 1514 ооцитов (22 ооцита на донора) из которых 52 % оказались пригодны для дальнейшего дозревания.

В ходе проведения исследований было получено 162 эмбриона или 2,3 эмбриона на донора. Средняя эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* из боенского материала составила 20,4 %.

Эффективность получения эмбрионов в культуре *in vitro* во многом зависит от оплодотворяющей способности спермы. В наших исследованиях использовалась сперма, разделенная по полу, от четырех быков-производителей. В ходе эксперимента было оплодотворено 794 ооцита, из которых у 480 наблюдалось дробление. Уровень дробления варьировался от 46,6 до 85,0 %, а в среднем составил 60,5 %.

Наиболее эффективным оказалось оплодотворение ооцитов спермой быка Bombstik 574298, у которого выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов составил 33,5 %, что на 8,9–25,8 п. п. выше по сравнению с другими быками-производителями, самый низкий выход эмбрионов отмечен у быка DukeDelroy 014HO13666 – 7,7 %. Однако необходимо иметь в виду тот факт, что спермой быка с минимальным выходом эмбрионов были оплодотворены ооциты только одного донора, в то время как спермой других быков оплодотворены ооциты от 4 до 30 доноров с достаточно высоким выходом эмбрионов – от 11 до 24,5 %.

Принято считать, что быстрый темп развития эмбрионов напрямую связан с их лучшей способностью к выживанию. В ходе культивирования эмбрионов в лабораторных условиях было установлено, что первые бластоцисты начинают формироваться с шестого дня после оплодотворения, если день оплодотворения считать нулевым. Процесс их развития может продолжаться до девятого дня включительно, а в некоторых случаях этот период может длиться до десятого. В наших исследованиях доля бластоцист шестого дня составила 11,7 % (19 из 162), седьмого – 74,7 (121 из 162), восьмого – 10,5 (17 из 162), девятого – 3,1 % (5 из 162).

Качество и стадия развития эмбрионов – одни из ключевых факторов, которые в значительной степени определяют эффективность их последующей трансплантации.

Из 162 эмбрионов, полученных при выполнении научно-исследовательской работы, наибольший удельный вес занимают бластоцисты экспандированные – 63 % (102 шт.), 25,9 % (42 шт.) было получено поздних бластоцист, 8,6 % (14 шт.) – бластоцист, вышедших из зоны пеллюцида, 2,5 % (4 шт.) было получено бластоцист, сильно экспандированных.

Заключение. В ходе исследований была установлена техническая возможность получения эмбрионов крупного рогатого скота в культуре *in vitro* из боенского материала. В ходе проведения исследований было получено 162 эмбриона, или 2,3 эмбриона на донора. Установлено, что выход эмбрионов от числа оплодотворенных ооцитов варьировался в зависимости от используемого быка от 7,7 до 33,5 % при среднем показателе 20,4 %. Наиболее высокая эмбриопродуктивность отмечена у быка Bombstik 574298 – 33,5 %.

Таким образом, предложенная технология представляет собой перспективный метод, позволяющий получать эмбрионы крупного рогатого скота в культуре *in vitro* с использованием половых клеток из боенского материала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Consequences of bovine oocyte maturation, fertilization or early embryo development *in vitro* versus *in vivo*: implications for blastocyst yield and quality / D. Rizos, F. Ward, P. Duffy [et al.] // Molecular Reproduction and Development. – 2002. – Vol. 61, № 2. – P. 234–248.
2. Predictive value of bovine follicular components as markers of oocyte developmental potential / S. Matoba, K. Bender, A. G. Fahey [et al.] // Reproduction, Fertility and Development. – 2014. – Vol. 26, № 3. – P. 337–345.
3. Производство эмбрионов крупного рогатого скота в культуре *in vitro*: метод. рекомендации / В. К. Пестис [и др.]. – Гродно: ГГАУ, 2018. – 52 с.