ЭФФЕКТИВНОСТЬ КРАТКОВРЕМЕННОГО ХРАНЕНИЯ ООЦИТОВ

Дешко А. С., Голубец Л. В., Якубец Ю. А., Сехин А. А., Сурмач В. Н., Белевич В. И., Драгун Т. Ю., Сехина М. А., Харитоник Д. Н. УО «Гродненский государственный аграрный университет» г. Гродно, Республика Беларусь

С целью максимального использования репродуктивного потенциала коровы разработаны технологии ускоренного размножения животных: трансплантация эмбрионов и получение эмбрионов в культуре in vitro, позволяющих повысить выход молодняка от одной коровы до 20 и белее телят в год, чем значительно ускорить процесс качественного улучшения популяции крупного рогатого скота [2]. Метод in vitro заключается в том, что из организма коровы при помощи метода трансвагинальной аспирации ооцитов получают неоплодотворенные яйцеклетки, которые при создании определенных условий развиваются до стадии, когда они способны к оплодотворению [1, 2].

При организации работ по получению эмбрионов in vitro в системе трансвагинальной аспирации ооцитов необходимо предусматривать проведение аспираций не только в лаборатории, но и непосредственно на ферме [1]. В связи с чем возникает необходимость создания комфортных условий для созревания и развития ооцитов на период их кратковременного хранения и транспортировки в лабораторию [2].

Целью исследований являлось изучение эффективности различных методов кратковременного хранения и транспортировки ооцитов.

Исследования по разработке метода кратковременного хранения и транспортировки ооцитов проводились на базе отраслевой биотехнологической лаборатории по репродукции сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет».

Непосредственно в своих опытах мы оценивали два наиболее практичных и удобных варианта:

- 1 транспортировка ооцитов в пробирках Эппендорф в среде созревания на основе TCM-199 или буферном растворе Дюльбекко под минеральным маслом;
- 2 транспортировка ооцитов в герметично закупоренных пайетах в среде созревания на основе ТСМ-199 или буферном растворе Дюльбекко.

Как в первом, так и во втором вариантах ооциты помещались в термостат при температуре 38 °C, в котором хранились в течение следующих временных интервалов: до 1,5 ч, в течение 1,6-3,0 и 3,1-6,0 ч. После этого ооциты переносились непосредственно в культуральную чашку и помещались в инкубатор до конца созревания.

Анализ полученных данных показал, что при хранении ооцитов от 1,5 до 6,0 ч в пробирках Эппендорф с использованием раствора Дюльбекко уровень дробления составил 60,4 %, а уровень выхода бластоцист — 17,7 %. При использовании пайет данные показатели были несколько ниже и составили 57,7 и 17,1 % соответственно.

Как при хранении и транспортировке ооцитов в пробирках Эппендорф, так и в пайетах более высокие результаты по выходу бластоцист были получены при хранении клеток до 1,5 ч: 18,7 и 18,5 % против 18,2 и 16,7 % при хранении 1,6-3,0 ч и 16,7 и 13,9 % при хранении 3,1-6,0 ч соответственно.

Результаты по изучению эффективности использования в качестве среды кратковременного хранения ТСМ-199 показывают, что эффективность транспортировки клеток в культуральной среде на основе ТСМ-199 при их хранении в пробирках Эппендорф или в пайетах практически не отличалась. Так, уровень дробления при использовании пайет составил 65,1 %, а выход эмбрионов — 13,5 %. При использовании пробирок Эппендорф 69,7 и 12,2 % соответственно.

Что касается временных параметров, то наиболее актуальной продолжительностью доставки является продолжительность до 1,5 ч. При таком хранении в пайетах уровень дробления составил 76,3 %, а выход бластоцист — 15,8 %. При использовании пробирок Эппендорф данные показатели составили 71,4 и 14,3 % соответственно.

Таким образом, как один, так и второй способ вполне приемлем для перевозки ооцитов непосредственно с фермы в лабораторию. Но при этом использование пайет имеет свои преимущества: оно более технологично и при этом сокращает затраты за счет снижения объемов используемой среды и не требует минерального масла.

ЛИТЕРАТУРА

- 1. Factors affectingoocyte quality and quantity in commercial application of embryo technologies in the cattle breeding industry / J. S. Merton [et al.] // Theriogenology. 2003. Vol. 59. P. 651-674.
- 2. Wrenzycki, C. Maturation environment and impact on subsequent developmental competence of bovine oocytes / C. Wrenzycki, H. Stinshoff // Reproduction in Domestic Animals. 2013. Vol. 48 (suppl. 1). P. 38-43.