

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЭКЗОЦЕЛЛЮЛЯРНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ДЕКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ КОРОВ

**Ганджа А. И., Леткевич Л. Л., Симоненко В. П., Кириллова И. В.,
Ракович Е. Д., Журина Н. В., Курак О. П., Ковальчук М. А.,
Кивчун Е. В.**

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»
г. Жодино, Республика Беларусь

Для сохранения жизнеспособности эмбрионов и предотвращения осмотического шока после оттаивания рекомендуется использовать при выведении криофилактиков раствор экзоцеллюлярных веществ, т. е. веществ, не способных проникать через мембраны клеток [1].

Исследования проведены в лаборатории молекулярной биотехнологии и ДНК-тестирования РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству». Яичники получали на Минском мясокомбинате, созревание ооцитов, их оплодотворение и культивирование ранних зародышей проводили в условиях CO₂-инкубатора при 38,5°C и 5% CO₂ по общепринятым методикам [2]. Для насыщения эмбрионов криопротекторами использовали среды с 1,4М глицерином и 1,5М этиленгликолем (EM-CARE, minitube). Базовой средой для приготовления криопротекторов служила среда для культивирования TC-199 с 20% фетальной сыворотки. В одну пайетту заправляли не более 2-х эмбрионов. Преимплантационные эмбрионы коров замораживали с использованием специального программного замораживателя CryoLogic CL-8800i. Оттаивали путем погружения пайетты на 10 с в водяную баню 38°C после предварительной выдержки на воздухе 10 с. Регидратацию проводили, помещая клетки в растворы сахарозы или трегалозы различных концентраций, приготовленных на TC-199 с 20% фетальной сыворотки, с последующим отмыванием в среде TC-199. Сохранность замороженно-оттаянных эмбрионов определяли по нарушению межклеточных связей, целостности оболочки и ее деформации. В контроле регидратацию проводили в растворах криофилактика с понижающей концентрацией без дисахаридов.

Заморожено и оттаяно с использованием сахарозы 183 зародыша, из них 62 морулы и 121 бластоциста. В среднем жизнеспособность эмбрионов после оттаивания в 1М сахарозе в сравнении с контролем оказалось на 6,2% выше, применение сахарозы 0,5М концентрации показало лучшие результаты, чем без использования дисахаридов на 9,2%.

Снижение содержания сахарозы до 0,3М и 0,2М не отразилось существенно на качестве замороженно-оттаянных зародышей коров по сравнению с использованием 1М и 0,5М растворов, хотя сохранность эмбрионов оказалась в среднем ниже на 1,0-4,2% по сравнению с предыдущими опытами, но все же выше по отношению к контролю на 5,2%. Дальнейшее снижение концентрации до 0,1М не отразилось на результате эксперимента по сравнению с контролем. Таким образом, применение сахарозы при выведении криофилактика из деконсервированных преимплантационных зародышей коров, полученных вне организма, повышает жизнеспособность зародышей на 4,8% по сравнению с контролем.

В аналогичном опыте с трегалозой заморожено 85 зародышей, из них 24 морулы и 61 бластоциста. Применение трегалозы 1М и 0,5М концентрации в технологии оттаивания ранних эмбрионов коров, полученных вне организма, оказало положительное влияние на сохранность деконсервированных зародышей – выше, чем в контроле на 2,3%. Снижение содержания трегалозы в среде для выведения криофилактика до 0,3М не отразилось существенно на качестве замороженно-оттаянных преимплантационных зародышей коров по сравнению с использованием 1М и 0,5М растворов трегалозы, однако сохранность зародышей была выше на 2,2% по сравнению с предыдущими опытными группами и на 5,5% по сравнению с контролем. Криорезистентность замороженно-оттаянных ранних зародышей после проведения процедуры регидратации в 0,2М и 0,1М растворе трегалозы оказалась ниже по сравнению с предыдущими опытными группами и даже контролем. Как показали результаты исследований, применение трегалозы при выведении криофилактика из деконсервированных зародышей коров, полученных вне организма, повышает жизнеспособность зародышей на 1,1% по сравнению с контролем.

Таким образом, использование дисахаридов при регидратации деконсервированных зародышей оказывает положительное влияние на их жизнеспособность. Установлена более высокая толерантность ранних зародышей коров к низким температурам при применении сахарозы по сравнению с трегалозой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Effects of sucrose concentration on the developmental potential of human frozen-thawed oocytes at different stages of maturity / Z. Chen [et al.] // Hum. Reprod. – 2004. – Vol. 19. – P. 2345-2349.
2. Усовершенствованная технология получения ранних зародышей вне организма для ускоренного размножения и сохранения высокоценных животных в скотоводстве: методические рекомендации. – А. И. Ганджа [и др.]. – Жодино, 2011. – 35 с.