

2. Соляник, А.В. Теоретическая и практическая разработка специализированного программного обеспечения для свиноводства /А.В. Соляник, В.В. Соляник, С.В. Соляник. Монография. - Горки: БГСХА, 2012. - 324 с.

УДК 636. 2. 612. 64. 089. 67

## **ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ РАННИХ ЗАРОДЫШЕЙ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВНЕ ОРГАНИЗМА ДЛЯ УСКОРЕННОГО РАЗМНОЖЕНИЯ И СОХРАНЕНИЯ ВЫСОКОЦЕННЫХ ЖИВОТНЫХ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ**

**Старовойтова М.П., Голубец Л.В.**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь

Одним из резервов увеличения темпов селекции и производства продукции животноводства является повышение интенсивности воспроизводства стада на основе современных биотехнологий, к которым относится метод трансплантации реципиентам эмбрионов, полученных от высокопродуктивных животных путем гормональной стимуляции множественной овуляции яичников, а также посредством оплодотворения ооцитов, извлеченных из яичников убитых коров, вне организма [2].

Для полноценного созревания и оплодотворения ооцитов в культуре *in vitro* необходимо создать условия, максимально соответствующие естественным, т. е. тем, в которых обеспечивается нормальное функционирование механизмов регуляции оогенеза и раннего эмбриогенеза *in vivo* [1].

Цель исследований – создание на основе первичных клеток, выделенных из репродуктивного тракта животного, клеточных систем для изучения закономерностей созревания и оплодотворения ооцитов коров в культуре *in vitro* и получения на этой основе высокоценного генетического материала (эмбрионов).

Исследования проводились в биотехнологическом центре по репродукции сельскохозяйственных животных УО «ГАУ».

Выделение ооцитов проводили путем надреза ткани яичников стерильным лезвием безопасной бритвы в чашке Петри (Ø90) в солевом буфере с добавлением 1% эстральной сыворотки крупного рогатого скота, 10 ед/мл гентамицина и 1 ед/мл гепарина. Затем проводили их поиск и морфологическую оценку качества под бинокулярным микроскопом «Olympus» при 16-90-кратном увеличении и помещали в CO<sub>2</sub> инкубатор «Meyert» в питательной среде для дозревания клеток при температуре 38,7 °С с максимальной влажностью 98%. После 24-

часового дозревания ооциты ставили на совместное инкубирование со сперматозоидами.

Оплодотворение проводили замороженно-оттаянной спермой.

Совместная инкубация спермы и ооцитов продолжалась в течение 18-20 часов при температуре  $38,7^{\circ}\text{C}$  в атмосфере 5%  $\text{CO}_2$  и максимальной влажности. После совместного инкубирования ооциты отмывали от сперматозоидов и в среде для созревания на монослое кумулюсных клеток снова помещали в  $\text{CO}_2$  инкубатор на 7-9 дней (до получения пригодных для трансплантации эмбрионов). Питательные среды для созревания, капацитации и оплодотворения были приготовлены по нашим методикам на основе реактивов фирмы Sigma.

По мнению многих отечественных и зарубежных авторов, выход и качество ооцитов во многом определяется морфофункциональным состоянием яичников [3].

Морфологическую оценку яичников проводили по следующим параметрам: размер, объем, морфофункциональное состояние. Размер яичников (длина, ширина) измеряли с помощью штангенциркуля. Объем – путем погружения в мерный цилиндр, заполненный средой. Функциональное состояние определялось визуально по наличию кист и гипофункции, количеству фолликулов, их размерам, функциональному состоянию желтого тела.

В результате проведенных исследований установлено, что средняя длина яичников составила  $33,1 \pm 4,1$  с колебанием от 21,3 до 43,1 мм; ширина –  $19,2 \pm 1,32$  и объем яичника в среднем –  $6,8 \pm 0,62$  (lim – 3,5-12,1). Общее количество антральных фолликулов на один яичник составило  $18,7 \pm 1,45$ , в том числе диаметром до 2 мм –  $10,6 \pm 0,83$ ; от 2 до 4 мм –  $6,1 \pm 0,93$  и диаметром свыше 4 мм –  $2,0 \pm 0,59$  с размахом колебаний 5 – 15; 1 – 15 и 1 – 5, соответственно. Что касается выхода ооцитов, то на один яичник было получено  $11,5 \pm 0,93$  ооцита, в том числе  $5,9 \pm 0,57$  пригодных для постановки на дозревание (51,3%).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Шпаковская, О.А. Новое в биотехнологии воспроизведения сельскохозяйственных животных / О.А. Шпаковская [и др.] // Проблемы микробиологии и биотехнологии: Материалы межд. конф. – Минск, 1998. С. 114 -115.
2. Эрнст, Л.К. Получение телят из дозревших и оплодотворенных вне организма коровы фолликулярных ооцитов / Л.К. Эрнст, М.И. Прокофьев // Вестник сельскохозяйственной науки. - 1987. - № 6. - С.82-87.
3. Assay, R.J. Oocyte morphology in dominant and subordinate follicles / R.J. Assay, P. Hitter, T. Greave // Mol. Reprod. Dev. - 1994. – Vol. 37. - P. 334-335.