

показывает долю влияния генотипа матери на фенотип потомка.

В связи с этим, были рассчитаны коэффициенты наследуемости показателей молочной продуктивности стада. Анализ данных показал, что удой и содержание жира являются средненаследуемыми признаками (h^2 равен 0,44 и 0,4 соответственно), а содержание белка – низконаследуемый признак (h^2 равен 0,18).

УДК 636.2:612.64.089.67

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ЭМБРИОНОВ КРС, ПОЛУЧЕННЫХ В КУЛЬТУРЕ IN VITRO

Дешко А.С., Голубец Л.В., Попов М.В., Белевич В.И.

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

Известно, что эмбрионы, полученные методом *in vitro* обладают более низким функциональным статусом. Клеточная масса эмбриобласта и трофобласта ниже, чем у эмбрионов, полученных классическим методом *in vivo*, вследствие чего эмбрионы более восприимчивы к крио-повреждениям и требуют применения более деликатных методов криоконсервации, позволяющих гарантированно сохранить качество эмбриона.

В связи с этим, для определения оптимального протокола и метода заморозки, нами был проведен ряд опытов по сравнению методов криоконсервации, а также растворов криопротекторов.

Для опыта использовали доимплантированные эмбрионы КРС, полученные из ооцит-кумулюсных комплексов. Ооцит-кумулюсные комплексы извлекали прижизненно методом ОРУ (трансвагинальной аспирации) из антральных фолликулов яичников коров доноров. Поиск и морфологическую оценку осуществляли на стереомикроскопе лабораторного класса Olympus SZ51 при 16-кратном увеличении. Для дозревания ооцитов использовали среду 199 (Medium 199, Heres modification, 25mM.) с добавлением 10% эстральной сыворотки крови крупного рогатого скота, Na-пирувата, BSA, 1.0 ЕД/мл лютенизирующего гормона, 10 МЕ/мл фолликулостимулирующего гормона, 1,0мкг/мл эстрадиола (спиртовой раствор) и 50 мкг/мл гентамицина.

Для оплодотворения использовали среду Fert-TALP и разделённое по полу криоконсервированное семя быков. Для оплодотворения яйцеклетки перемещались в лунки со средой объёмом 80 мкл и инкубировались совместно со сперматозоидами в течение 18-20 часов при температуре 38,5⁰С в газовой среде с содержанием 5% CO₂.

После оплодотворения зиготы отмывали в растворе SOF и механически удаляли клетки кумулюса посредством пипетирования при помощи наконечников для денудации ооцитов диаметром 135 мкм. Очищенные зиготы помещали в среду на основе SOF с добавлением BSAMEM vitamins, MEM Niaa, MEM iaa в лунки планшетов объёмом 500 мкл, покрытые минеральным маслом (Sigma, США), и культивировали при температуре 38,5⁰С в увлажненной атмосфере под

газовой фазой (по 5% CO₂ и O₂ и 90% N₂) в течение 7-8суток. Для опыта использовали эмбрионы только отличного качества, находящиеся на стадии развития от BL-II (поздняя бластоциста) до BL-IV (полностью экспандированная). Выход доимплантированных бластоцист от числа поставленных на созревание яйцеклеток составил 29,42%.

Криоконсервация опытных образцов 1-3 группы осуществлялась с помощью программного замораживателя фирмы «CRYOLOGIC» (модель CL 5500), а эмбрионы 4 группы замораживались с помощью метода витрификации при помощи готовых наборов криопротекторов «Криотек» (Япония).

Для криоконсервации эмбрионов 1-3 группы использовали протокол, где начало охлаждения идёт с +20 °С, охлаждение ведётся со скоростью 2 °С/мин. до -6 °С, далее следует индукция кристаллизации (сидинг) и выдержка при этой температуре в течение 10 мин, далее охлаждение до -35 °С со скоростью 0,5 °С/мин.

После завершения цикла заморозки пайеты с эмбрионами переносились в жидкий азот и хранились при температуре -196⁰С.

Четвёртая группа замораживалась витрификацией, где в качестве криопротектора использовали стандартный раствор фирмы «Криотек». После проводки в растворе криопротектра эмбрион помещался на носитель «криотоп» и погружался в жидкий азот.

Оттаивание пайет с эмбрионами 1- 3 групп производилось в водяной бане при температуре +37 °С. Эмбрионы, криоконсервированные методом витрификации оттаивались по схеме девитрификации.

Морфологическая оценка производилась на стереомикроскопе Olympus SZ 51 при 40-кратном увеличении. Эмбрионы, оценённые как пригодные, после выведения криопротектора помещались в среду SOF.

Исходя из полученных данных можно сделать вывод, что наилучший результат сохранности показали эмбрионы 4 группы, криоконсервированные методом витрификации. Из 77 замороженных эмбрионов 75 получили оценку как пригодные, что составило 97,40%. Наименьший результат сохранности показали эмбрионы, криоконсервированные в 1,8 М этиленгликоле, что составило 50 пригодных эмбрионов, или 59,44%. Эмбрионы, замороженные в 1,5 М этиленгликоле и 1,4 М глицерине, заняли промежуточное положение.

Основываясь на результатах проведённых исследований, можно сделать вывод, что метод витрификации позволяет достигать минимальных потерь при заморозке эмбрионов, которые составили 2,6%.