

ОЦЕНКА КАЧЕСТВА И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭМБРИОНОВ КОРОВ IN VITRO

А. С. ЛИСОВЕНКО, С. Б. ШУЛЬГА, науч. сотр.
В. Н. БОНДАРЬ, ст. ветврач

УкрНИИ разведения и искусств. осеменения круп. рогатого скота

В животноводстве все шире внедряют трансплантацию зародышей крупного рогатого скота. Она способствует улучшению продуктивности стада путем увеличения качества потомства от высокопродуктивных коров. Технология трансплантации зародышей включает несколько основных процессов, среди которых особенно важны поиск и оценка качества.

Целью наших исследований было ускорить процесс поиска эмбрионов; изучить морфологию зародышей, полученных от суперовулировавших коров-доноров, на 7—8 сутки после осеменения; определить эффективность морфологической оценки методом культивирования эмбрионов *in vitro* в питательных средах.

Методика исследований. Опыты проводили на 7—8-дневных эмбрионах коров-доноров. Для извлечения эмбрионов применяли фосфорно-буферный солевой раствор Дюльбекко с добавлением антибиотиков и 1 % фетальной сыворотки крови телят. Расход среды Дюльбекко на одного донора составил 1 л, по 500 мл на один рог матки. После 20-минутного отстаивания собранной после вымывания жидкости (в термостате при температуре 37 °С) удаляли верхний слой среды с помощью сифона из силиконовой трубки диаметром 2—3 мм. В оставшихся 80—

100 мл жидкости проводили поиск половых клеток. Для этого использовали микроскопы марки МБС-9 и пластмассовые бактериологические чашки объемом 50 мл³. Дно чашки с внешней стороны тонкой иглой расчерчено на квадраты, площадь квадрата соответствует величине поля зрения микроскопа при увеличении в 25 раз. Это позволяет просмотреть весь объем жидкости и обнаружить эмбрионы быстрее, чем искать последние на часовых стеклах. Кроме того, при данной методике поиска практически обнаруживают все эмбрионы, так как в бактериологических чашках площадь просмотра большая, а дно чашки плоское.

Для оценки качества эмбрионов применяли микроскоп марки Лейтц диаверт с использованием шкалы оценки, разработанной В. И. Букаровой (1985). Согласно этой шкале с учетом морфологического строения и стадии развития мы оценивали зародыши: отличные — ++ (без видимых нарушений); хорошие — + (с небольшими морфологическими отклонениями); условно пригодные — +- (с явными морфологическими отклонениями); непригодные — (разрушенные, дегенерированные зародыши).

Качественные эмбрионы первых трех категорий культивировали по кратковременному (2—5 ч) или длительному

1. Стадия развития и качество зародышей, %

Стадия развития эмбриона	Всего	В том числе			
		отличные	хорошие	условно пригодные	непригодные
До 16 blastomeres	154—33	—	1—1	—	153—99
Mo I	69—15	3—4*	32—46	16—24	18—26
Mo II	116—25	19—16	52—45	37—32	8—7
Bl I	77—16	9—12	53—69	15—19	—
Bl II	53—11	29—55	21—40	3—5	—
Итого	469—100	60—13	159—34	71—15	179—38

* % к числу эмбрионов той же стадии развития.

2. Результаты культивирования эмбрионов in vitro

Качество зародышей	Стадии развития и наличие дробления после культивирования			Всего
	до 16 blastомеров	Mo	В1	
Отличные	3/0	10/10	8/8	21/18
Хорошие	3/0	5/4	5/5	13/9
Дегенерированные	7/0	5/0	5/0	17/0
Итого	13/0	20/14	18/13	51/27

Примечание. Числитель — число зародышей до культивирования, знаменатель — число зародышей, продолжающих дробление при культивировании.

(6—24 ч) режиму в среде Дюльбекко с добавлением 30 % фетальной сыворотки крови телят. Известно, что добавление в культуральную среду белка оказывает сильное ростстимулирующее влияние на зародыши (Шмидт Г., 1937).

Культивировали зародыши в маркированной малой бактериологической чашке объемом 1,5—2 мл, которую ставили на дно большой бактериологической чашки, покрытое увлажненным бумажным фильтром, и в закрытом состоянии помещали в термостат со стабильной температурой 37 °С. При таком способе хранения эмбрионы находились в постоянном температурно-влажностном режиме. Через 2—24 ч наблюдали под микроскопом за даль-

нейшим развитием зародыша. Зародыши с продолжающимся при культивировании развитием пересаживали реципиентам с синхронным донору половым циклом, а неразвивающиеся в течение 24 ч эмбрионы выбраковывали.

Результаты исследований. За три года исследований получили 1480 зародышей и яйцеклеток от коров-доноров, в том числе в 1985 г.—689. Из них 220 (32 %) составили неоплодотворенные яйцеклетки и 469 — зародыши. Оценка качества последних приведена в таблице 1.

Таким образом, из общего количества половых гамет (689) около 60 % составили неоплодотворенные яйцеклетки и дегенерированные зародыши и 40 % — качественные зародыши. Это свидетельствует о том, что при искусственной суперовуляции часть яйцеклеток не способна оплодотворяться, а некоторые зиготы погибают в первые дни эмбрионального развития на стадии до 16 blastомеров. Из 290 качественных зародышей большинство составили зародыши на стадии поздней морулы и ранней blastоцисты (n=185).

Кратковременному культивированию подвергали все качественные зародыши перед пересадкой. Для длительного культивирования (24 ч) использовали 51 зародыш разного качества и стадий развития (табл. 2).

Морулы и blastоцисты, оцененные нами как «отличные», продолжали дробление в 100 %, а эмбрионы с оценкой «хорошие» продолжали развитие в 90% случаев, у дегенерированных эмбрионов признаков развития за это время не наблюдали.

Выводы. При суперовуляции ббольшая часть гамет не пригодна для пересадки. Культивирование зародышей можно применять как дополнительный тест оценки качества зародышей.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Букарова В. И. Качество зародышей крупного рогатого скота и результаты их трансплантации: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.— Дубровицы, 1985.— 20 с.
Методы биологии развития.— М.: Наука, 1974.— 218 с.

Получена редколлегией 24.11.85.