

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАННИХ ЭМБРИОНОВ КОРОВ К КРИОПРОТЕКТОРАМ

Л.Л. ЛЕТКЕВИЧ¹, А.И. ГАНДЖА¹, О.П. КУРАК¹, А.А. ПУТИК²

¹РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

²Белорусский государственный педагогический университет имени
Максима Танка

В последнее время интенсивно разрабатываются новые способы замораживания доимплантационных эмбрионов млекопитающих путём их прямого погружения в жидкий азот без использования специальных программных замораживателей. Они основаны на дегидратации эмбрионов при комнатной температуре путём их эквilibрации в смеси проникающих или проникающего и непроникающего криопротекторов. После такой эквilibрации в течение непродолжительного времени зародыши можно сразу переносить в жидкий азот. Однако используемые для витрификации очень высокие концентрации криопротекторов могут оказывать токсическое действие на зародыши. В связи с этим при разработке подходов для криоконсервирования ранних эмбрионов коров, полученных вне организма, нами на начальном этапе изучена токсичность криопротекторов и резистентность к ним эмбрионов.

Для исследований использовали эмбрионы на разных стадиях дробления (2, 4, 8, 16 клеток, морулы), а в качестве проникающих и непроникающих криопротекторов 1,4М глицерин, 1,2М пропандиол, 1,5М этиленгликоль, 0,3М сахарозу.

Насыщение эмбрионов растворами криопротекторов проводили в 4 этапа по возрастающей концентрации. Однако погружение в азот не производили. Напротив, после насыщения криопротекторами и эквilibрации в течение 5 минут начинали осуществлять вывод криопротекторов. Результаты исследований сопоставляли в группах по количеству эмбрионов, продолживших своё развитие после 24-

часового

культивирования, и сравнивали между собой группы с разными криопротекторами. Базовыми средами для приготовления растворов криофилактиков служили ТС-199 и Хенкса с 20% фетальной сыворотки.

По результатам проведённых исследований в качестве базовой среды для приготовления криофилактиков наилучшим образом

зарекондовала себя среда ТС-199 по сравнению со средой Хенкса. Во всех опытах со средой ТС-199 количество эмбрионов, продолживших дальнейшее развитие, было на 3,8 %, 5,4, 7,6 % больше чем с использованием среды Хенкса.

Лучшие результаты получены при использовании в качестве криоконсерванта 1,4М раствора глицерина: на среде Хенкса продолжили дробление 37,0 % клеток, на ТС-199 – 42,4 %, всего – 40,0 %. Наименьшим оказалось количество зародышей, продолжавших своё развитие, после вывода 1,2М пропандиола и культивирования в течение 24 часов; всего – 17,3 % (15,0 % – с Хенкса и 18,8 % – с ТС-199). Незначительно отличались результаты применения 1,5М этиленгликоля по сравнению с 1,2М пропандиолом. Всего продолжили развитие 21,6 % зародышей: 17,4 % – на среде Хенкса и 25,0 % – на ТС-199. Следует отметить, что в контроле (без эквilibрации в криофилактике) за этот период времени 47,6 % зародышей продолжили развитие.

Таким образом, установлено, что наилучшей резистентностью обладают ранние эмбрионы коров после эквilibрации в 1,4М глицерине по сравнению с зародышами после 1,5М этиленгликоля и 1,2М пропандиола. После последовательного насыщения в течение 5 минут без криоконсервирования и вывода криофилактика с использованием 0,3М сахарозы 40 % зародышей на начальных стадиях дробления продолжили своё развитие. УДК 636.32/.