

УДК 636.22/28:591.3

Е.С. Усенбеков, К.У. Койбагаров, А.С. Дильжанова, А.Е. Сериков
 Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Казахстан
 *e-mail: usen03@mail.ru

Выход ооцитов из яичников овец в зависимости от физиологического статуса животных и эффективность различных способов изоляции ооцитов

Установлена высокая эффективность выделения ооцитов из яичников овец методом рассечения зрелых фолликулов с помощью лезвия, по сравнению с методом аспирации фолликулов. Выход ооцитов из яичников овец при использовании метода рассечения фолликулов составляет 4,14 ооцита, при использовании метода аспирации фолликулов 1,3 ооцита на один яичник. Авторы рекомендуют для изоляции ооцитов использовать яичников на стадии фолликулярного роста.

Ключевые слова: Биотехнология размножения, ооциты, методы выделения ооцитов из яичников овец, кумулюсные клетки, питательная среда ТС-199.

Y.S. Ussenbekov, K.U. Koybagarov., A.S. Diljanova, A.Y. Serikov

Out of ovarian oocytes sheep depending on the physiological status of the animal and effectiveness of different isolation method oocytes

The high efficiency of allocation of oocytes from the ovaries of sheep by dissecting mature follicles with a razor blade, compared with the method of follicle aspiration. Exit oocytes from ovaries of sheep using the method of dissecting follicles 4.14 oocyte aspiration method using 1.3 oocyte follicles one ovary. The authors recommend to isolate the use of oocytes from the ovary - ovarian follicular growth stage.

Keywords: Biotechnology of reproduction, oocytes, oocyte recovery methods from the ovaries of sheep, cumulus cell, culture medium TC-199.

Е.С. Усенбеков, К.У. Койбагаров, А.С. Дильжанова, А.Е. Сериков

Қой жұмыртқалығынан бөлінген ооциттер санының жануарлардың физиологиялық жағдайына байланысы

Мақала авторлары қой жұмыртқалықтарынан ооциттерді бөліп алуда, пісіп жетілген фолликулдерді ұстарамен кесіп алу әдісінің, фолликулдерге аспирация жасау тәсілімен салыстырғанда нәтижелі екенін анықтаған. Қой жұмыртқалықтарынан бөлініп алынған ооциттердің мөлшері фолликулдерді кесіп алу әдісімен алғанда 4,14 ооцитті, ал аспирация әдісімен алғанда 1,3 ооцитті құраған. Авторлар жұмыртқалықтардан ооциттер бөліп алу үшін – фолликулярлық өсу сатысындағы жұмыртқалықтарды пайдалануды ұсынады.

Түйін сөздер: Көбею биотехнологиясы, ооциттер, қой жұмыртқалықтарынан ооциттер бөліп алу әдістері, кумулюс торшалары, ТС-199 қоректік ортасы.

К настоящему времени достигнутый прогресс в изучении воспроизводительной функции самок, физиологии оогенеза и раннего эмбриогенеза млекопитающих позволил создать ряд современных биотехнологий по использованию женских половых клеток и эмбрионов для ускоренного размножения выдающихся животных. Процесс генетического улучшения продуктивных качеств животных обеспечивается выявлением, интенсивным размножением и рациональным использованием наиболее ценных в генетическом плане особей. При традиционных методах воспроизводства репродуктивный

потенциал маток полностью не реализуется и получение животных с желательным типом относительно мало и требует длительный срок для осуществления намеченной цели [1].

Исследованиями установлены влияния полиморфизма генов BMP 15 и GDF 9 у овец на количество овулируемых фолликулов и уровень овуляции. Так, аллели гена, Bone morphogenetic protein - BMP 15 у овец, оказывают влияние на процесс фолликулогенеза и гетерозиготные овцы по данному локусу овулируют с двумя-тремя ооцитами. Авторы данного исследования рекомендуют использовать полиморфизм гена

ВМР 15 у овец в качестве ДНК маркера для повышения плодовитости животных в овцеводстве [2].

Кроме генетического фактора, на выход ооцитов из яичников убитых овцематок оказывает влияние физиологическое состояние животных перед убоем. В зависимости от физиологического состояния животных, яичников можно разделить на следующие группы: яичники на стадии фолликулярного роста, яичники со следами свежей овуляции и с желтым телом. Большинство авторов считают, что высокий выход ооцитов обеспечивается при использовании в работе по изоляции ооцитов яичников на стадии фолликулярного роста. Таким образом, перед нами была поставлена задача определить эффективность различных способов выделения ооцитов из яичников овец и разработка способа селекции яичников для изоляции ооцитов.

Материалы и методы

Исследования проводились в лаборатории кафедры акушерства, хирургии и биотехнологии воспроизводства Казахского национального аграрного университета. Яичники для проведения эксперимента были взяты от убитых животных на пункте по забое скота на рынке «Тау-Самалы», в течение 2-3 часов были доставлены в лабораторию для проведения экспериментов.

Нами, для извлечения ооцитов из яичников овец были использованы два способа: метод рассечения зрелых фолликулов с помощью лезвия и аспирация зрелых фолликулов. Сущность первого способа заключается в том, что ооциты извлекают из яичников путем надреза фолликулов от 1 до 5 мм в диаметре.

Вторым способом извлечения ооцитов из фолликулов является аспирация фолликулярной жидкости из них, от 3 до 5 мм в диаметре. Однако эффективность этого способа довольно низкая, так как время затрачиваемое на постановку эксперимента, значительно увеличивается по сравнению с первым методом [3].

Оценку качества изолированных ооцитов проводили с помощью стереоскопического микроскопа МСП 1 вариант 2. При проведении оценки качества ооцитов обратили внимание на состояние кумулюсных клеток, расположение зоны пеллюцида, на ширину и

равномерность перивителлинового пространства, на структуру ооплазмы.



Рисунок 1 – Ооцит хорошего качества

На рисунке 1 ооцит хорошего качества, кумулюс равномерный, однородный, зона пеллюцида хорошо видна, ооплазма мелкозернистая. При морфологическом исследовании ооцитов нами были выявлены также ооциты удовлетворительного качества. При этом мы обратили внимание на структуру кумулюса, в данном случае кумулюс неравномерный, ооплазма не четко видна, зона пеллюцида неравномерная.

К основным морфологическим критериям полноценности ооцитов относят структуру клеток кумулюса и признаки самого ооцита. Ооциты культивируют в комплексе с клетками кумулюса. Поэтому биологически полноценными должны быть как ооциты, так и окружающие их фолликулярные клетки.

В экспериментах по выделению ооцитов из яичников овец, мы использовали яичников на стадии фолликулярного роста, яичников с признаками свежей овуляции и с желтым телом. Выход ооцитов из одного яичника наиболее высоким был при использовании яичников на стадии фолликулярного роста и составил 16-18 ооцитов, количество изолированных ооцитов из яичников с желтым телом было 3-5 единиц.

Результаты и их обсуждение

Эффективность двух способов выделения ооцитов из яичников оказалась разной, так более оптимальным способом выделения является метод рассечения зрелых фолликулов.

Таблица 1 – Результаты выделения ооцитов из яичников овец разными способами

№ опыта	Количество яичников	Выделены ооциты из яичников овец	
		Рассечение зрелых фолликулов	Аспирация фолликулов
		Количество яичников/ выход ооцитов	
1	12	9/27	3/6
2	10	8/31	2/5
3	10	7/29	3/4
Всего	32	24/87	8/15

Возможен также следующий вариант получения ооцитов: вначале выделяют фолликул из яичника, а затем разрывом его стенок пинцетом высвобождают фолликулярную жидкость с ооцитом. Наиболее высокий выход яйцеклетки обеспечивает способ выделения ооцитов методом рассечения зрелых фолликулов, на один яичник выделены ооциты в третьем опыте 4,14 ооцита, во втором опыте 4,12 и в первом 3,22 ооцита. Применение второго способа, аспирация фолликулов

позволяет выделить на одного яичника 1,3 и 1,5 ооцитов.

Оптимальным и эффективным способом выделения ооцитов из яичников овец является метод рассечения зрелых фолликулов с помощью устройства многолезвенной бритвы. Результаты исследования показывают, что наиболее высокий выход ооцитов хорошего качества из яичников овец обеспечивается при использовании яичников на стадии фолликулярного роста.

Литература

- 1 Тойшыбеков М.М. Использование метода трансплантации эмбрионов в овцеводстве. Аналитический обзор. - Алматы, 1988. – 258 с.
- 2 Barzegari A, Atashpaz S, Ghabili K, Nemati Z. Polymorphisms in *GDF9* and *BMP15* associated with fertility and ovulation rate in Moghani and Ghezel sheep in Iran // *Reprod. Domest. Anim.* - 2010. – V. 45. – P. 666-669.
- 3 Голубев А.К., Завертяев Б.П., Кузьмина Т.И., Никитин Н.С., Галиева Л.Д., Свириидов Б.Е., Бехтина В.Г. Методические рекомендации по культивированию ооцитов и фолликулов коров. – ВНИИРГЖ, Ленинград, 1989. – 136 с.