

Приведены результаты исследований поведения коров различного типа стрессоустойчивости при привязном и беспривязно-боксовом способах содержания. Установлено, что в условиях последнего способа содержания коровы сильного типа стрессоустойчивости на протяжении суток на 68 минут больше отдыхают лёжа в сравнении с ровесницами уравновешенного типа стрессоустойчивости.

Поведение, содержание, украинская красная молочная порода

CONDUCT OF COWS OF THE UKRAINIAN RED MILK BREED AT DIFFERENT METHODS OF MAINTENANCE. Shkurko T. P., Tskhvitava O. K.

The results of researches of conduct of cows of a different type of stress stability are resulted at fastened and unfasten-boxing methods of maintenance. It is set that in the conditions of the last shift of maintenance of cow of strong type of stress stability for a day long on 68 minutes anymore rest lying by comparison to persons the same of age of the balanced type of stress stability.

Conduct, maintenance, Ukrainian red milk breed

УДК 636.4.082.4:57.085

О. В. ЩЕРБАК, А. Б. ЗЮЗЮН

Институт розведення і генетики тварин НААН

ВИКОРИСТАННЯ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦІАЛУ СВИНОК В ТЕХНОЛОГІЇ ФОРМУВАННЯ ЕМБРІОНІВ *IN VITRO*

*У статті наведено результати експериментальних досліджень використання ооцит-кумулясних комплексів свиней породи ландрас і велика біла при одержанні ембріонів *in vitro*. Доведена ефективність використання репродуктивного потенціалу самиць даних порід у технології *in vitro* та програмах збереження генофонду генетично цінних особин.*

Яєчники, фолікули, ооцит-кумулясні комплекси, ембріони

© О. В. Щербак, А. Б. Зюзюн, 2011
Розведення і генетика тварин. 2011. № 45

Сучасні інтенсивні промислові технології у тваринництві зумовили зростання продуктивних навантажень на тварин. Тому велика кількість особин, у тому числі і генетично цінних самиць сільськогосподарських тварин, вибраковується достроково. В такому випадку значний потенціальний запас ооцитів у фолікулах яєчників самиць залишається невикористаним. Кількість ооцитів у одному яєчнику свині складає близько 120 тис. [6] і за життя використовується лише частково. Нині розроблено ряд біотехнологічних підходів, коли після культивування і запліднення ооцитів поза організмом, можливим є ефективно додаткове використання репродуктивного потенціалу самиць. Основними етапами біотехнологічного підходу отримання ембріонів поза організмом є вилучення ооцит-кумуляусних комплексів, їхнє дозрівання в умовах *in vitro* до стадії метафази II мейозу та подальше запліднення.

Мета роботи. Дослідити ефективність використання репродуктивного потенціалу свинок різних порід (ландрас і велика біла) у технології формування ембріонів *in vitro*.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження були виконані в лабораторії біотехнології Інституту розведення і генетики тварин НААН. В експериментах використано яєчники, ооцит-кумуляусні комплекси (ОКК) та ембріони на доімплантаційних стадіях розвитку. Яєчники відбирали від забитих статевозрілих свинок. Ооцити дозрівали *in vitro* у середовищі 199 (Sigma) з додаванням 20% еструсної сироватки крові корів і $3-5 \times 10^6$ клітин гранульози/мл. Дозрівання відбувалося 46 годин при $+38,8^\circ\text{C}$ і 4% CO_2 у повітрі. Для запліднення *in vitro* яйцеклітин свиней використовували нативну сперму кнура. Спільну інкубацію дозрілих ооцитів та відібраних методом swim-up сперматозоїдів кнура проводили у модифікованому середовищі Тіроде (TALP) упродовж 18 год. Відмиті від сперматозоїдів зиготи культивували в середовищі NCSU-23 [3]. Цитогенетичні препарати гамет та ембріонів свиней готували за модифікованим методом Тарковського [5]. Аналіз препаратів проводили під світловим мікроскопом при збільшенні 120 та 1000 разів.

Результати досліджень. В технології отримання ранніх зародків поза організмом одним із критеріїв потенційної можливості дозрівання поза організмом гамет свинок слугує структура кумулюсу, який оточує незрілі ооцити [2]. Встановлено, що зовнішній вигляд кумулюсних клітин та структура ооплазми мають вплив на здатність ооцитів до дозрівання *in vitro* [1, 4]. З метою відбору найбільш придатних гамет для повноцінного дозрівання поза організмом та оцінки якості незрілих ооцитів ми розподіляли вилучені популяції ОКК на основі морфологічної оцінки на чотири групи: група 1 – із щільним кумулюсом, неушкодженою прозорою оболонкою та гомогенною невакуолізованою ооплазмою правильної округлої форми (рис. 1); група 2 – із розпушеним кумулюсом та однорідною ооплазмою; група 3 – частково позбавлені клітин кумулюсу та однорідною ооплазмою; група 4 – атретичні ОКК (денудовані, або з малою кількістю кумулюсних клітин, ооплазма з ознаками дегенерації).

За результатами морфологічного аналізу незрілих ооцитів свинок різних порід встановлено, що із яєчників свинок породи ландрас та велика біла отримано майже однаковий відсоток ооцитів групи 1 (табл. 1). Кількість ооцитів 2-ї групи відрізнялась. Із яєчників свинок породи ландрас отримано 35,4 % таких гамет, а породи велика біла – 29 %. Порівнюючи показники виходу ооцитів із щільним та розпушеним кумулюсом із яєчників свинок різних порід, спостерігалась тенденція до збільшення цього показника у породи ландрас порівняно з великою білою. Вірогідна різниця спостерігалась за кількістю ооцитів, частково позбавлених кумулюсу, тобто групи 3.

1. Морфологічна характеристика популяції незрілих ооцитів свинок порід велика біла і ландрас

Порода свинок	Загальна кількість ооцитів, n	Ооцит-кумулюсні комплекси			
		група 1 n (%)	група 2 n (%)	група 3 n (%)	група 4 n (%)
Ландрас	288	120 ^a (41,7±2,9)	102 ^b (35,4±2,8)	26 ^c (9,0±1,7)	40 ^e (13,9±2,0)
Велика біла	310	127 ^a (41,0±2,8)	90 ^b (29,0±2,6)	54 ^d (17,4±2,2)	39 ^e (12,6±1,9)

$c:d - p < 0,01$, критерій χ^2 . В цій та наступних таблицях різні суперскрипти у межах однієї колонки вказують на вірогідну різницю між показниками (p не більше 0,5).

В середньому з фолікулів одного яєчника свинки породи ландрас нами вилучено 36 ОКК, а породи велика біла – 39 ОКК. Загальна кількість незрілих ооцитів, придатних для культивування *in vitro*, на один яєчник становила для породи ландрас 28 гамет і 27 ОКК для породи велика біла. Для культивування поза організмом ми відбирали ооцити з щільним та розпушеним кумулюсом і ооплазмою без ознак дегенерації. За морфологічною оцінкою та даними цитогенетичного аналізу визначено, що через 46 год. культивування *in vitro* у підібраних нами умовах 87,2% (123/141) ооцитів свинки породи ландрас і 87,9 % (116/132) ОКК вилучених від свинок породи велика біла, відновили мейотичне дозрівання і досягли стадії ядерного дозрівання – метафази II мейозу. Критерієм морфологічної оцінки дозрівання ооцитів була наявність першого полярного тільця.

Отримані загальні результати досліджень показали, що рівень дозрівання *in vitro* ооцитів, вилучених з яєчників свинок порід ландрас і велика біла, склав 87,5 % (239/273). Отже, ОКК, які вилучені з яєчників свинок даних порід, можна успішно використовувати в технології отримання ембріонів *in vitro* для більш повного використання репродуктивного потенціалу самиць. Цей факт підтвердився подальшим аналізом результатів формування ембріонів свиней поза організмом (рис. 2).

Встановлено (табл. 2), що з використанням гамет свинок породи ландрас одержано вищий рівень формування зигот і дроблення ембріонів порівняно із гаметами свинок породи велика біла (на 8,3 % і 6,5 %, відповідно), хоча різниця невірогідна.

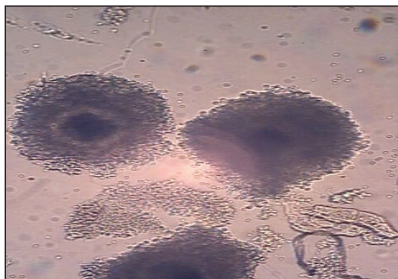


Рис. 1. Зажиттєве фото ОКК свиней 1 групи. ОКК придатні для культивування *in vitro*. Об.10х, ок.10х

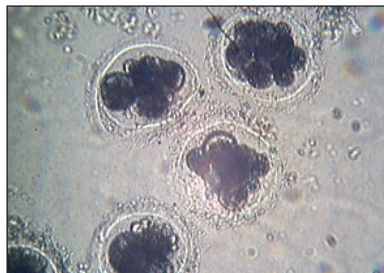


Рис. 2. Зажиттєве фото сформованих поза організмом на різних стадіях розвитку ембріонів свиней. Збільшення в 100 раз

2. Одержання ембріонів свиней *in vitro* залежно від породної належності свиней-донорів ооцитів

Порода свинок	Осіменених ооцитів	Кількість, %		
		зигот	2–4- клітинних зародків	ранніх морул
Ландрас	132	84 ^a (63,6±4,2)	60 ^b (45,5±4,3)	24 ^c (18,2±3,4)
Велика біла	141	78 ^a (55,3±4,2)	55 ^b (39,0±4,1)	32 ^c (22,7±3,5)

Висновки. Морфологічним аналізом незрілих ооцитів свинок порід ландрас та велика біла встановлено, що вихід ооцитів із щільним кумулюсом або розпушеним кумулюсом, гомогенною ооплазмою не відрізняється. Такі ооцит-кумулюсні комплекси придатні для культивування поза організмом, що підтверджено високим рівнем дозрівання (87,5 %) та формуванням зигот (59,3 %) в умовах *in vitro*. Отже, ОКК, які вилучені з яєчників свинок обох порід, можна успішно застосовувати в технології *in vitro*.

Цитогенетичним аналізом раннього ембріогенезу свиней порід ландрас і велика біла доведено доцільність додаткового використання репродуктивного потенціалу самиць даних порід у технології формування ембріонів *in vitro* та програмах збереження генофонду генетично цінних представників породи.

1. Кузнецов, В. Є. Вплив різних клітинних систем на розвиток зародків великої рогатої худоби *in vitro* / В. Є. Кузнецов, І. Б. Кузнецова, С. І. Ковтун // Наук. праці Полтавської держ. аграр. акад. – 2002. – Т. 1 (20). – С. 130–133.

2. Ковтун, С. І. Одержання зародків свиней *in vitro*: стан та перспективи використання / С. І. Ковтун // Вісн. аграр. науки. – 2004. – № 5. – С. 52–54.

3. Gajda, B. *In vitro* culture of pig embryos // Roczn. Nauk. Zoot. – 1998. – 25. – P.31–38.

4. Chin, R. Effects of cumulus cells on male pronuclear formation and subsequent early development of bovine oocytes *in vitro* / R. C. Chin, K. Niwa, M. A. Sirard // Theriogenologi. – 1994. – V. 41. – P. 1499–1509.

5. Tarkowski, A. K. An air-drying method for chromosome preparation from mouse eggs / A. K. Tarkowski // Cytogenetics. – 1966. – Vol. 5, № 3. – P. 394–400.

6. Яблонський, В. А. Ветеринарне акушерство, гінекологія та біотехнологія відтворення тварин з основами андрології / В. А. Яблонський, С. П. Хомин, Г. М. Калиновський. – Вінниця, 2006. – 592 с.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕПРОДУКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА СВИНОК В ТЕХНОЛОГИИ ФОРМИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ IN VITRO. Щербак О. В., Зюзюн А. Б.

В статье представлены результаты экспериментальных исследований по использованию ооцит-кумулюсных комплексов свиней пород ландрас и большая белая при получении эмбрионов in vitro. Доказана эффективность использования репродуктивного потенциала самок данных пород в технологии in vitro и программах по сохранению генофонда генетически ценных представителей пород.

Яичники, фолликулы, ооцит-кумулюсные комплексы, эмбрионы

USE OF GENESIAL POTENTIAL OF FEMALES PIGGY IN TECHNOLOGY OF OBTAINS EMBRYOS IN VITRO. Scherbak O. V., Zyuzyun A. B.

In the article the results of experimental researches the use oocytes of Landrace pigs breed and Large White of obtain in vitro embryos. Expedience of the use of genesial cycle potential of females is well-proved in technology in vitro and programs of maintenance of gene pool genetically valuable representatives of breed.

Ovaries, follicles, oocytes complexes, embryos