

## ЗАСТОСУВАННЯ НОВІТНІХ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ МЕТОДІВ ДЛЯ ЗБЕРЕЖЕННЯ ГЕНОФОНДУ СВИНЕЙ

*Т. В. Галицька\*, С. І. Ковтун, П. А. Троцький*  
*Інститут розведення і генетики тварин НААН*

Нині внаслідок інтенсивного розвитку свинарства значна кількість вітчизняних порід свиней знаходиться на межі зникнення (миргородська, українська степова ряба, українська степова біла, мангалиця та ін.), а деякі породні групи втрачено назавжди (дніпропетровська, кролевецька, подільська породні групи, українська (місцева популяція європейської коротковухої). Цьому сприяє практика використання світових генетичних ресурсів для підвищення продуктивних якостей тварин, яка нині має масовий характер. Тому на даному етапі є актуальною проблема збереження та раціонального використання генетичного потенціалу тварин у вигляді кріоконсервованих гамет самиць та одержання в умовах *in vitro* ембріонів із деконсервованих і дозрілих поза організмом яйцеклітин. Метод збереження генетичних ресурсів протягом необмеженого часу при  $-196^{\circ}\text{C}$  є одним із засобів надійного зберігання у незмінному виді генетичного потенціалу не лише чистопородного поголів'я, але й нових високопродуктивних ліній та окремих тварин у вигляді ооцитів, яйцеклітин і ембріонів. Разом із тим для збереження статевих клітин необхідно розробляти високоефективні технології кріоконсервування біологічних об'єктів. Наразі використовують різні підходи для вирішення проблеми кріоконсервування ооцитів свинок, що зумовлено їх морфофункціональними і біохімічними особливостями, зокрема, зниженою проникністю мембран до кріопротекторів. Водночас фактором істотного впливу на результати кріоконсервування є також використання біологічного матеріалу від тварин різних вікових груп, про що свідчать численні експериментальні дані. Отже, існує необхідність вдосконалення існуючих та розробки нових підходів щодо ефективного кріоконсервування статевих гамет самок.

Метою досліджень було вивчити вплив віку свиней-донорів ооцит-кумулясних комплексів на життєздатність та подальший розвиток деконсервованих гамет.

Об'єктом експериментальних досліджень були ооцит-кумулясні комплекси свинок порід велика біла і ландрас. Ооцити отримували шляхом надрізу лезом видимих антральних фолікулів, вимивали середовищем Дюльбекко, виловлювали пастерівською піпеткою та оцінювали за морфологічними ознаками. Для заморожування використовували ооцити свинок із гомогенною тонкозернистою ооплазмою, неушкодженою прозорою оболонкою, щільним або частково розпушеним кумулюсом. Перед заморожуванням гамети обробляли 10 хв еквілібраційним розчином (10 %

---

\* Науковий керівник – д-р с.-г. наук, професор, член-кореспондент НААН С.І. Ковтун

© Т. В. Галицька, С. І. Ковтун, П. А. Троцький, 2012

гліцерин + 20 % пропандіол) потім переносили у вітрифікаційний розчин (25 % гліцерин + 25 % пропандіол). Група К, в якій ооцит-кумулюсні комплекси свинок не заморожували, була контрольною. Еквілібраційний та вітрифікаційний розчини були приготовлені на фосфатно-сольовому буфері Дюльбекко з додаванням 20 % сироватки крові корів, яку попередньо інактивували при +56°C протягом 30 хв. Після розморожування гамет свинок виведення кріопротекторів проводили шляхом перенесення їх на 10 хв у розчин 1,0 М сахарози. Потім клітини тричі відмивали середовищем М-199, оцінювали за морфологічними ознаками і переносили в середовище для культивування. Ооцит-кумулюсні комплекси свинок культивували в чотирьохлункових планшетах протягом 44 год при температурі +38,5°C, 5 % CO<sub>2</sub> у повітрі, в середовищі 199 з 20 % попередньо інактивованою еструсною сироваткою крові корів, 2,0 мМ натрію пірувату, 2,92 мМ кальцію лактату, 40 мкг/мл гентаміцину. Деконсервовані гамети свинок після культивування поза організмом підлягали заплідненню *in vitro*. Для запліднення *in vitro* яйцеклітин свинок використовували нативну сперму кнур (Ла1 №1061). Капацитацію сперматозоїдів здійснювали гепарином (100 од/мл) за методикою J. J. Parrish et al. Після 12–18 год спільного інкубування яйцеклітини і зиготи відмивали від прилиплої сперми і переносили в краплі середовища CDM для подальшого культивування. Цитогенетичні препарати гамет свинок після запліднення *in vitro* та зародків свиней готували за методом M. Ushijima et al., забарвлювали 2,0 % розчином Гімза та досліджували під мікроскопом.

Проведено порівняльний аналіз використання ооцит-кумулюсних комплексів ремонтних свинок (10–11 міс) та свиноматок (24–32 міс) при кріоконсервуванні. За результатами запліднення *in vitro* попередньо дозрілих поза організмом деконсервованих яйцеклітин свинок, що були заморожені надшвидким методом від різних вікових груп не виявлено істотної різниці в кількості отриманих зародків свиней. В дослідних групах, в яких для кріоконсервування використовували ооцит-кумулюсні комплекси ремонтних свинок (Гр. – А) та свиноматок (Гр. – Б), після запліднення *in vitro* і подальшого 96-годинного культивування встановлено, що загальна кількість отриманих зародків свиней становила 20,5 % (25/122) (Гр. – А) та 27,5 % (22/80) (Гр. – Б). В контрольних групах (в яких гамети свинок не заморожували) показник отримання зародків після запліднення *in vitro* дозрілих поза організмом яйцеклітин був 54,8 % (17/31) та 43,3 % (13/30), відповідно.

Проведено порівняльний аналіз нативних і заморожено-розморожених ооцит-кумулюсних комплексів ремонтних свинок та свиноматок, що були запліднені *in vitro* і прокультивовані поза організмом. Встановлено, що у контрольній групі ремонтних свинок показник дроблення зародків був вищий на 34,3 % ( $p < 0,001$ ) порівняно з дослідною групою. Результати аналізу цитогенетичних препаратів, отриманих із запліднених *in vitro* деконсервованих гамет свиноматок і прокультивованих поза організмом ембріонів, виявили, що немає різниці ( $p > 0,05$ ) між конт-

рольною та дослідною групами за такими показниками, як кількість отриманих зародків.

Кріоконсервування ооцит-кумулюсних комплексів ремонтних свинок (10–11 міс) та свиноматок (24–32 міс) можна успішно застосовувати для збереження генофонду тварин. Встановлено, що використання ооцит-кумулюсних комплексів ремонтних свинок, порівняно із гаметами свиноматок, не призводить до збільшення кількості отриманих зародків свиней після запліднення *in vitro* деконсервованих яйцеклітин.

Таким чином, за результатами наших досліджень не встановлено взаємозв'язку між використанням для кріоконсервування ооцит-кумулюсних комплексів ремонтних свинок порівняно із гаметами свиноматок та рівнем формування ембріонів отриманих *in vitro* з деконсервованих і дозрілих поза організмом яйцеклітин. Виходячи із одержаних нами даних кріоконсервування ооцит-кумулюсних комплексів свинок, отриманих від різних вікових груп та рівнем формування ембріонів *in vitro*, вважаємо, що для збереження генофонду свиней та ефективного їх використання слід використовувати ооцити з щільним або частково розпушеним кумулюсом, неушкодженою прозорою оболонкою, тонкогранульованою гомогенною або гетерогенною ооплазмою. Отримані результати засвідчують потребу більш глибокого вивчення кріорезистентних властивостей ооцитів свинок при подальшому удосконаленні методів кріоконсервування, враховуючи фізіологічний стан тварини, морфологічний стан яєчників, ооцитів, а також процесів, які протікають у гаметах при кріоконсервуванні.

УДК.636.2:034.082.2

## **ФОРМИРОВАНИЕ ВНУТРИПОРОДНОЙ СТРУКТУРЫ СОЗДАВАЕМЫХ ПОРОД МОЛОЧНОГО СКОТА**

***М. Я. Ефименко***

***Институт разведения и генетики животных НААН***

В соответствии с современной концепцией преобразования генофонда молочного скота отечественной селекции использование улучшающих пород осуществляется на 85–90 % поголовья, в т.ч. и племязаводов, что приводит к автоматическому поглощению сложившейся в породе генеалогической структуры. Поэтому при разработке программы селекции новообразованной породы возникает проблема создания новой ее структуры. При этом необходимо учитывать следующие положения: формирование внутрипородных и заводских типов с учетом особенностей маточной основы и создания достаточного генетического разнообразия для дальнейшего совершенствования новой породы; минимальное количество линий, необходимое для их ротации в товарной части породы, исключая

---

© М. Я. Ефименко, 2012