УКРАЇНСЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК
ІНСТИТУТ РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКИ ТВАРИН

РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКА ТВАРИН

Міжвідомчий
тематичний
науковий збірник

34

Київ
АГРАРНА НАУКА
2001

УДК 636.081

У збірнику викладено результати досліджень з питань кріоконсервації статевих клітин сільськогосподарських тварин, удосконалення синтетичних середовищ, методів обробки, збереження та використання сперми, ембріонів та ооцитів, формування сперматогенезу та відтворної здатності плідників і самок різних видів тварин, розвитку біотехнології у тваринництві, збереження генофонду порід.

Розраховано на науковців, викладачів, аспірантів та студентів аграрних вузів, спеціалістів сільського господарства, фермерів.

РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ:

В.П. Буркат (відповідальний редактор),

М.Я. Єфіменко (заступник відповідального редактора), **Є.М. Рясенко** (відповідальний секретар), **М.З. Басовський, М.Д. Безуглий, В.М. Іовенко, В.С. Коновалов, А.П. Кругляк** (редактор даного випуску), **В.Є. Кузнєцов, В.В. Мирось, Ф.І. Осташко, І.П. Петренко, Ю.П. Полупан, Б.Є. Подоба, С.Ю. Рубан, Й.З. Сірацький, Б.М. Чухрій, С.Г. Шаловило, М.В. Штомпель**

Адреса редакційної колегії:
08321, Київська область, Бориспільський район
с. Чубинське, вул. Погребняка, 1
Інститут розведення і генетики тварин УААН
Телефони: (04495) **2-10-45, 5-21-45, 2-11-34, 5-69-89**

Р $\frac{3705010000\text{-}05}{2001}$ Без оголошення

ISBN 966-540-126-2

© Інститут розведення і генетики тварин УААН, 2001

Цей випуск збірника присвячується 90-річчю від дня народження **Ігоря Васильовича Смирнова** — видатного вченого-біолога, заслуженого діяча науки України, доктора біологічних наук, професора кафедри розведення сільськогосподарських тварин Української сільськогосподарської академії (нині Національний аграрний університет), якому належить пріоритет відкриття здатності сперміїв ссавців зберігати біологічну повноцінність і генетичну інформацію після глибокого заморожування їх у скраплених газах чи твердій вуглекислоті –180 —196 °С.

Мрією Ігоря Васильовича було створення зоотехнікам умов для спаровування корів, кобил та інших самок з плідниками за їхнім вибором, у якому б місці вони не знаходилися, як єдиного засобу для підвищення ефективності заводської роботи. Розв'язання цієї проблеми було можливим тільки за умов значного продовження терміну збереження сперми плідників. Ігор Васильович розробив метод фізичного анабіозу сперміїв плідників сільськогосподарських тварин шляхом склоподібного (безкристалевого) заморожування їхньої сперми за надто низьких температур –79 —183 —196°С, який забезпечив нескінченно довгий термін збереження їхньої біологічної і генетичної повноцінності.

Він розробив швидкий метод заморожування і розморожування сперми плідників, який і тепер залишається найбільш досконалим і широко використовується у практиці тваринництва понад 100 країн світу.

Професор І.В. Смирнов працював на кафедрі розведення і біології розмноження в Національному аграрному університеті, був засновником і відповідальним редактором вісімнадцяти випусків цього тематичного наукового збірника.

М.В. ЗУБЕЦЬ, В.П. БУРКАТ, А.П. КРУГЛЯК

ЗОЛОТИЙ СКАРБ БІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ ДВОХ ТИСЯЧОЛІТЬ

Визначення штучного осіменіння як зоотехнічного методу значного прискорення якісного поліпшення сільськогосподарських тварин І.І. Івановим частково здійснило мрії колишніх заводчиків про можливість поліпшення якості тварин шляхом більш ефективного використання видатних плідників.

Необхідність повного і максимального використання сперми кращих плідників привела до появи різних способів збереження сперми поза організмом (при 0 — +4 °С, +10, +12 °С), при яких спермії не втрачали запліднювальної здатності протягом декількох днів.

Метод глибокого заморожування сперми, розроблений всесвітньовідомим вченим, нашим співвітчизником — Ігорем Васильовичем Смирновим, дав можливість від кожного висококласного бугая одержувати по 40—50 тис. спермодоз або по 30—35 тис. приплоду в рік, використовувати сперму для замовлених спаровувань, незалежно від часу осіменіння і країни, у якій знаходяться відібрані зоотехніком самки тварин, і саме цим перевершив сподівання селекціонерів тваринництва усіх країн про можливості поліпшення продуктивних і породних якостей тварин шляхом штучного осіменіння.

Хоча метод збереження сперми при 0 °С цілком влаштовував практиків товарних господарств, разом з тим він не міг задовольнити потреби зоотехніків-селекціонерів, заводчиків, котрі працюють із особливо видатними тваринами. У 1940—1950 рр. назріла необхідність розробити такий спосіб тривалого зберігання сперми, який забезпечував би підбір пар тварин незалежно від їхнього територіального знаходження та періоду життя. Для цього необхідно було істотно продовжити термін зберігання запліднювальної здатності сперматозоїдів.

© М.В. Зубець, В.П. Буркат, А.П. Кругляк, 2001

Порівняно швидке зниження запліднювальної здатності сперматозоїдами в умовах їхнього збереження при 0 °С пояснюється тим, що нульова температура недостатньо сильно гальмує обмін речовин у клітинах. Життєві процеси проходять при 0 °С на відносно високому рівні і клітини швидко "старіють", отруюються продуктами розпаду. І хоча вони зберігають рухливість, запліднювальна здатність їх після трьох діб зберігання різко знижується. Виходячи із теорії анабіозу, для зниження рівня обмінних процесів, а значить, і продовження терміну збереження високої запліднювальної здатності сперматозоїдів необхідно було знизити температуру їхнього зберігання і цим самим загальмувати до мінімуму обмін речовин. До цієї думки прийшов ще І.І. Іванов у 1907 році, коли охолодив сперму жеребця до –15 °С і помітив відновлення рухливості сперматозоїдів після їхнього відігрівання. Протягом довгих років зусилля вчених як нашої країни, так і за рубежем були націлені на розробку більш досконалого способу збереження сперми з використанням низьких температур.

Наступні дослідження вчених підтвердили правильність цього наукового напряму. Так учні І.І. Іванова — К.Н. Кржишковський і С.Н. Павлов — встановили здатність сперматозоїдів людини переносити охолодження до –23 °С протягом тривалого часу. Ф. Янель (1938) перший застосував глибоке заморожування сперми людини в скляних пробірках при –79 °С. Після 40-денного зберігання і розморожування він виявив деяке число сперматозоїдів із відновленою рухливістю. Х. Хеглунд і Г. Пінкус (1941) одержали до 40% живих сперматозоїдів людини після їхнього охолодження в рідкому азоті у вигляді емульсії або тонких плівок і швидкого розморожування. А. Паркс (1945) установив, що після охолодження сперми при –2 0°С рухливість сперматозоїдів людини була значно гіршою, ніж за глибокого її охолодження і зберігання при –79 °С протягом двох-трьох діб.

Американський дослідник С. Шафнер (1942) зберігав сперму півнів при –79 °С майже без зниження рухливості клітин.

Після осіменіння курей спермою, що зберігалася при цій температурі протягом однієї години, одержано 48 яєць, 12 із яких було запліднено. Проте зародки замерзли на 10—15-й годині їхнього розвитку.

Таким чином, усі спроби вітрифікувати сперматозоїди різних видів тварин і людини були безуспішними. Не зважаючи на досить пожвавлену наукову роботу в цьому напрямі, жоден із дослідників не отримав приплоду від замороженої сперми. Проте своїми науковими підходами вони внесли певний вклад у розвиток цього напряму. За словами І.В. Смирнова (1949): "негативний результат в науці — теж результат".

Перші серйозні успіхи були досягнуті лише наприкінці 40-х років. У 1947 р. в лабораторії В.К. Милованова у Москві його співробітник І.І. Соколовська одержала потомство від кролиць, яких осіменяли спермою, що протягом п'яти хвилин перебувала при температурі –20 °С та –40 °С. Однак при зниженні температури до –80 °С усі клітини швидко гинули. Як вважає сам автор, у даному випадку мало місце не глибоке заморожування, а лише переохолодження сперми, чим і пояснюється збереження сперматозоїдами рухливості (до 0,5 бала) і запліднювальної здатності. Інших даних про застосування глибокого охолодження сперми домашніх тварин, за якого сперма перебуває у твердому склоподібному стані, на той час у літературі не було. Водночас температури значно нижчі нуля, тобто твердої вуглекислоти (–78 °С), рідких — кисню (–183 °С) та азоту (–196 °С), привернули до себе увагу вчених тим, що рівень обмінних процесів у статевих клітинах за цих температур знижувався досить сильно і сперма затвердівала у вигляді склоподібної маси без порушень протоплазми клітин. Але технічні ускладнення при такому "заскловуванні" сперми були досить великими.

Тому аспірант Всесоюзного інституту тваринництва І.В. Смирнов у 1947 р. поставив собі за мету:

- вияснити можливість збереження сперми плідників сільськогосподарських тварин при температурах твердої вуглекислоти, рідкого кисню та рідкого азоту;

- розробити метод глибокого заморожування сперми;
- вивчити запліднювальну здатність сперматозоїдів при осіменінні самок такою спермою.

Досліди проводились на спермі сімнадцяти кролів, семи баранів, двох бугаїв, одного жеребця та п'ятнадцяти півнів.

Виходячи з гіпотези Б. Лайєта (1941) та Г.А. Таммана (1935) про можливість некристалевого затвердіння біологічних об'єктів у вигляді склоподібної амфорної маси, а не кристалів, І.В. Смирнов дійшов до висновку, що саме при склоподібному затвердінні не відбувається різкого переміщення молекул у клітині, а значить, не пошкоджується її протоплазма.

І.В. Смирнов розробив особисто методику швидкого заморожування сперми у фольгових пакетах об'ємом сперми 0,05—0,2 мл.

Після проведення низки дослідів із спермою кролів автор знайшов такий спосіб її глибокого охолодження, за якого від 5 до 30% клітин могли переносити охолодження до температури –78—183 °С протягом 32 діб і оживали після розморожування. Принагідно нагадаємо, що такі об'єми дози і швидкість заморожування сперми застосовуються і тепер.

Найцікавішим у цих дослідженнях було те, що сперматозоїди після такого тривалого збереження в умовах надто низьких температур не тільки оживали, а й зберігали свою запліднювальну здатність. Від 61 кролиці, яких осіменили "засклованими", а потім розмороженими сперматозоїдами, вперше у світі було одержано 174 кроленят, котрі мали нормальний зовнішній вигляд, добре росли і розвивалися. Після досягнення статевої зрілості молоді самці і самки почали нормально розмножуватися. Частину цих самок знову осіменяли замороженою спермою і отримували нормальний приплід.

Після вирішення принципового питання можливості "засклювання" сперматозоїдів ссавців автор приступив до розробки аналогічного способу глибокого заморожування сперми основних видів сільськогосподарських тварин. Здолавши

ряд технологічних труднощів, автору вдалося успішно заморозити сперму баранів, бугаїв, жеребців і кнурів. Число сперматозоїдів, що оживали після розморожування, в деяких випадках сягало 35%. Проведені автором дослідження за період 1948—1951 рр. у дослідному господарстві Українського науково-дослідного інституту тваринництва по осіменінню овець замороженою до –78 °С спермою дали обнадійливий результат: із 19 овець, котрих осіменяли, окотилося 8, які народили 11 цілком нормальних ягнят.

У цей самий період (літо 1950-го) автором проведено успішні досліди із штучного осіменіння корів глибокозамороженою спермою (–78 °С). У дослідному господарстві "Українка" та колгоспі "Червоний господар" Харківської області він заморожував сперму від 4 бугаїв та штучно осіменяв 17 корів, із яких 5 отелилось.

Таким чином, у 1949 р. І.В. Смирновим були отримані вперше у світі ягнята, а в 1951 р. — телята, які походили від сперматозоїдів, що перенесли глибоке заморожування до температури –78 °С.

Безумовно, наукові розробки І.В. Смирнова щодо виявлення властивостей сперматозоїдів ссавців зберігати біологічну повноцінність після швидкого заморожування є золотим скарбом біологічної науки, відкриттям світового рівня. На основі саме наукових праць І.В. Смирнова 1947—1950 рр. у 1972 р. було зареєстровано наукове відкриття під номером 103, яке назавжди затвердило його пріоритет.

Наукові розробки І.В. Смирнова дали можливість розв'язати проблему тривалого збереження сперми плідників сільськогосподарських тварин поза організмом, максимально їх використовувати, забезпечувати індивідуальні закріплення незалежно від місця і часу їхнього перебування, впровадження найсучасніших методів великомасштабної селекції.

Слід відмітити, що автор сам не стверджував закінченості цих наукових розробок. У 1949 р., після успішних досліджень щодо запліднення кролиць з використанням глибокозамороженої сперми, І.В. Смирнов пише: "Зрозуміло, що наша робота —

лише перший крок в галузі збереження сперми при надто низьких температурах і вимагає подальшого продовження".

Науково обгрунтовані передбачення автора методу глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин здійснилися. Нині його метод вдосконалено як вітчизняними, так і зарубіжними вченими. Вже у 1952 р. англійські вчені С. Полдж, О. Сміт, Л. Роусон запропонували заморожувати сперму бугаїв у середовищах із гліцерином. Розроблено різні технології кріоконсервації сперми: японська у відкритих гранулах (Нагазе і Нива, 1964), французька в пайєтах (Р. Кассу, 1964), українська в облицьованих гранулах (Ф.І. Осташко та ін., 1969), німецька в міні-тюбах (К. Зіммет, 1972), литовська в пайєтах (П. Пакенас, 1972) та інші.

В Україні створено кращу в колишньому СРСР галузь дьюаробудування. Для подальшого вдосконалення існуючих і розробки нових методів біотехнології відтворення тварин було створено Інститут розведення і штучного осіменіння сільськогосподарських тварин.

Через 25 років після всесвітньовідомого відкриття І.В. Смирнова було успішно заморожено ембріони сільськогосподарських тварин (Д. Віттінгам та ін., 1972). Саме метод тривалого зберігання сперми плідників сільськогосподарських тварин у глибокозамороженому стані, розроблений І.В. Смирновим, відкрив новий етап науково-технічної революції у селекції і розведенні тварин практично в усіх країнах світу. Почали будувати великі міжрайонні, обласні та державні племстанції (нинішні племпідприємства), заморожувати сперму від кращих плідників, що забезпечило швидке поліпшення існуючих та виведення багатьох спеціалізованих порід сільськогосподарських тварин, насамперед великої рогатої худоби та овець. Тільки завдяки цьому відкриттю в багатьох країнах створено генофондні банки сперми видатних тварин та локальних зникаючих порід, налагоджено систему транспортування її в будь-яку країну; незалежно від відстані стало реально можливим втілення індивідуальних якостей видатних плідників у групові. Від окремих бугаїв-поліпшувачів одержу-

ють десятки і навіть сотні тисяч високопродуктивних нащадків. У результаті роль спадковості плідників у генетичному поліпшенні молочних порід великої рогатої худоби сягнула 90—95%, у вівчарстві — 70—80.

Таким чином, плідники-поліпшувачі у прямому розумінні стали золотим фондом тваринництва. Продуктивність 17321 дочки бугая Лінкольна 384785 голштинської породи становила 9416 кг молока, 4,0% жиру та 377 кг молочного жиру.

Творчий внесок автора глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин І.В. Смирнова у біологічну науку має неоціненне значення і залишається основним методом відтворення великої рогатої худоби, овець, свиней та інших видів тварин у третьому тисячолітті більш ніж у 100 країнах світу.

Українська академія аграрних наук

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.453.53

Н.З. ЖИЛЬЦОВ, А.Д. СУБОТИН, А.С. ГОЛУБЬ, А.В. ЧИЧИЛОВ

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ГЛУБОКОГО ЗАМОРАЖИВАНИЯ СЕМЕНИ БЫКА

В последние годы исследователи в области глубокого замораживания семени сельскохозяйственных производителей направили свои усилия на разработку методов замораживания семени барана, хряка, жеребца, в то же время совершенствование метода замораживания семени быка, особенно в технологии разбавления и охлаждения (синтетические среды, эквилибрация), просто прекратилось.

Отсюда среда ГЛЦЖ (В.Ф. Турбин, 1967) до сих пор является основной для разбавления и замораживания семени быка.

© Н.З. Жильцов, А.Д. Суботин, А.С. Голубь, А.В. Чичилов, 2001

Дело в том, что почти 30 лет ученые усиленно работали в области разработки технологических линий по промышленной расфасовке семени быков в пластиковые соломинки или облицованные гранулы (французская, башкирская, байсогольская, харьковская технологии).

Однако исследователи в области замораживания семени барана, хряка, жеребца испытали множество веществ, которые позволили, в конце концов, разработать методы замораживания семени указанных выше производителей.

Интересно, что в средах для указанных производителей успешно использовали динатриеву соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (хелатон), которая в 1972 г. на ЦСИО была введена в среду для замораживания семени быка. Она давала прекрасные результаты по активности и живучести оттаяного семени, однако оплодотворяемость коров и телок от такого семени снизилась. Поскольку результаты работы были признаны неправомерными с определенными оргвыводами, хелатон, естественно, был удален из сред, а сам препарат стал запретным для семени быка почти четверть века.

Однако этот же хелатон позволил решить проблему глубокого замораживания семени хряка, а комплексонаты магния, меди, кальция и цинка практически дали возможность получать приемлемые для практики результаты ягнения от глубокозамороженного семени барана.

Правда, в 80-х годах В.К. Милованов и Л.С. Жильцова (1985) пытались ввести в среды для быка указанные выше комплексонаты и получили положительные результаты в колхозе "Сельская жизнь" Тульской области, но дальше указанные авторы не пошли, поскольку стресс от хелатона все еще давлел над сознанием чиновников Минсельхоза СССР.

В 1998 г.в своих исследованиях по тематике отдела биологии А.В. Чичилов обнаружил повышенную нуклеазную активность в семени быка за счет желтка куриного яйца, чего он не обнаружил в семени хряка и барана, что, несомненно, можно объяснить присутствием в средах для этих видов хелатона и комплексонатов. Эти исследования проведены по теме, свя-

занной с попытками трансформирования спермиев сельскохозяйственных животных.

В последние годы появились работы и целые кандидатские диссертации, посвященные трансформированию сперматозоидов (Багиров Вугар, 1997; Щит Т., 1998), в которых показано, что глубокое замораживание может трансформировать ДНК живчиков.

Такие предпосылки заставляют исследователей искать пути снижения в синтетической среде нуклеазной активности за счет замены полностью или частично желтка куриного яйца вытяжкой из желтка или лецитина желтка с использованием холина. А поскольку в последние годы появился препарат бетаин, который получают из сахарной свеклы по технологии компании "Финшуга" (это вещество превращения холина в митохондриях клетки), есть возможность ввести это вещество в синтетические среды для семени быка, как источник метильных групп. Бетаин имеет тесную связь с обменом метионина, он на 10—15% сохраняет метионин за счет прекращения изъятия метильных групп из этой аминокислоты, и следовательно, он как бы выступает защитником метионина при процессах метилирования в живой клетке.

Кроме того, бетаин является регулятором осмоса при стрессовых процессах и обладает определенным антибактериальным воздействием.

Таким образом, можно констатировать, что холин и бетаин могут с успехом использоваться в синтетических средах для семени быка как криопротекторы и защитники обменных процессов в живчиках при глубоком замораживании. В связи с этим, несомненно, большой интерес вызывает возможность использования в синтетической среде в качестве неэлектролитов аминокислот — лизина, метионина и глицина. Причем эти аминокислоты можно ввести на фоне уже используемых углеводов (глюкоза, лактоза, сахароза).

Целью наших исследований являлось дальнейшее совершенствование технологии глубокого замораживания семени быка и повышение результативности осеменения коров и те-

лок замороженным семенем. Для достижения поставленных целей планировалось решить следующую задачу: разработать новую синтетическую среду для замораживания семени быка, которая бы обеспечила снижение нуклеазной активности в семени перед замораживанием, повышение биологической полноценности живчиков и их оплодотворяющей способности.

Определение нуклеазной активности в семенной плазме и суспензии сперматозоидов путем электрофореза в агаре дало интересные результаты. Например, в среде 199 и 3% цитрата натрия со спермия хряка в течение двух часов не было замечено следов проявления нуклеазной активности. В свежей семенной плазме быка нуклеазная активность начинает проявляться после одночасовой инкубации, и в разбавленном семени хряка средой для замораживания семени активность нуклеаз также проявляется после часа инкубации. А вот в семенной плазме барана и быка наблюдалась очень высокая нуклеазная активность уже в первую минуту инкубации. В опытах замечено, что активность нуклеаз повышает добавление желтка куриного яйца в среду для замораживания и сделан вывод о том, что при отсутствии в средах реагентов, снижающих нуклеазную активность (тот же хелатон, как в среде для хряка), желток может быть опасным для хромосомальной ДНК живчиков с точки зрения её деградации. Активность желтка куриного яйца может привести к деградации определенной части ДНК сперматозоида.

В данной работе наряду с определением нуклеазной активности раствора куриного желтка и среды для замораживания в целом были изучены также активность амилазы, пероксидазы, протеазы, каталазы и липазы (табл. 1).

Было установлено, что амилазная активность среды находится на одном уровне с активностью семенной плазмы. Активность липазы отсутствовала как в одной, так и в другой среде. Активность пероксидазы и протеазы отмечалась в среде для замораживания и отсутствовала в семенной плазме. Наибольшее различие наблюдалось по активности нуклеаз.

В соответствии с планом работ по использованию новых

1. Определение ферментативной активности стандартной среды для замораживания семени быка и семенной плазмы

Показатели	Семенная плазма	Среда для замораживания
Амилаза	40 ед. В	40 ед. В
Пероксидаза	Отсутствует	4,2 мг/мл
Протеаза	Отсутствует	1,0 мг/мл
Каталаза	0,02 ед.	—
Липаза	Отсутствует	Отсутствует
Нуклеаза	5%	90%

синтетических сред для замораживания изучалась нуклеазная активность в средах с добавками лактозы, холин-хлорида, комплексонатов меди (табл. 2). Было установлено, что наименьшая степень нуклеазной активности среды наблюдалась в случае добавок комплексонатов меди и холин-хлорида.

Совершенствование синтетической среды проводилось путем введения в состав новых компонентов, посредством установления биологического уровня исследуемых аминокислот методами встречных рядов и треугольника. Расчетные изотонические растворы: для лизина — 4,8% (А); для метионина — 3,9% (В); для бетаина — 4,4% (С).

Из 20 опытов по определению живучести в смесях по методу треугольника с интервалом 20% изотонических растворов указанных выше аминокислот установлено, что смеси изотонических растворов А, В и С наиболее благоприятны для живчиков быка в 12-й и 17-й пробирках (табл. 3).

2. Нуклеазная активность стандартной среды для замораживания семени быка с добавками

Ингредиенты	Деградация контрольного образца ДНК, %
Лактоза	94
Лактоза + холин 0,2 мл	64
Комплексонат меди	50
Комплексонат меди + холин 0,2 мл	3
Комплексонат меди + холин 0,1 мл	20

3. Соотношение растворов А, В и С в пробирках с оптимальной живучестью

Номер пробирки	А	В	С
12	20	60	20
17	0	80	20

Итак, после разбавления семени быка средой, состоящей из лизина, метионина и бетаина при указанных в таблице соотношениях, сохраняется подвижность живчиков в пределах 50%, в остальных же 19 сочетаниях семя гибнет немедленно после разбавления.

Если считать пробирки 12-ю и 17-ю синтетическими средами, то их состав представлен в табл. 4.

4. Состав сред из аминокислот на 100 мл воды

Ингредиенты	№ 12 (г)	№ 17 (г)
Лизин	0,96	—
Метионин	2,34	3,12
Бетаин	0,88	0,88

Выявленные зоны биологического уровня на треугольнике с интервалом 20% позволили определить живучесть семени по схеме треугольника с интервалом 10%. Как показали исследования живучести в пробирках 12-й и 17-й по 10% -му треугольнику, биологические уровни изотонических растворов исследуемых аминокислот, по всей видимости, лежат в пределах от 0 до 10%.

Исходя из вышесказанного, были предприняты попытки смоделировать синтетическую среду на основе комплексонатной среды Л.С. Жильцовой (1986) за счет снижения уровня изотоничности (табл. 5).

Данные табл. 6 свидетельствуют, что создание изотонии среды за счет частичной замены комплексонатов приводит к негативным результатам по подвижности семени после оттаи-

5. Соотношение уровня изотоничности среды комплексонатной с вариациями изотонических растворов А, В и С в пределах уровня от 10% и ниже

Номер пробирки	Уровень изотонического раствора, %				Подвижность		
	комплексонатная среда	лизин	метионин	бетаин	разбавление	эквилибрация	оттаивание
1	80	3	10	7	0,6	0,6	0,2
2	80	2	10	8	0,6	0,6	0,25
3	90	2	4	4	0,6	0,6	0,25
4	90	1	5	4	0,6	0,6	0,25
Контроль	100	0	0	0	0,8	0,8	0,5

Примечание: Подвижность неразбавленного семени — 0,8.

вания в сравнении с контролем. В следующем опыте мы пытались смоделировать среду, исходя из объемных введений незначительного количества исследуемых аминокислот А, В и С.

Проведенные исследования дали возможность нам смоделировать синтетическую среду (новую), состоящую из комплексонатов, аминокислот и витаминов. Замораживание семе-

6. Живучесть семени быка при добавлении к комплексонатной среде разных уровней изотонических растворов аминокислот А, В и С

Номер пробирки	Объемное соотношение в пробирках, мл	Активность, %			
		после разбавления	после эквилибрации	после оттаивания	после двух часов при 37 °С
1	0,9К+0,1А	80	80	40	20
2	0,9К+0,8В	80	80	40	20
3	0,8К+0,1А+0,1В	80	80	40	20
4	0,7К+0,1А+0,1В+0,1С	70	80	40	Еп
5	0,85+0,05А+0,05В+0,05С	80	80	50	30
6	0,8К+0,05А+0,1В+0,05С	80	80	50	40
7	1,0К	80	80	50	20

Примечание: После шести часов инкубирования оттаявшего семени только в 5-й и 6-й пробирках были подвижные живчики (Еп).

7. Качество семени быка, замороженного и оттаявшего в разных средах

Номер среды	Подвижность после разбавления, %	Подвижность после оттаивания, %	Выживаемость, ч	Сохранность акросом, %
3 (лактоза+ комплексонаты)	80	55—60	10,0	84,1
5 (сахароза+ комплексонаты)	80	60	10,0	87,5
1 контрольная (лактоза)	80	55—60	9,0	80,5

ни в разработанной среде имеет определенное преимущество перед стандартной лактозной средой по активности живчиков после оттаивания и особенно по скорости движения (большее число живчиков в дозе для осеменения с суперактивностью, а также по живучести оттаявшего семени при температуре тела). Живучесть семени больше в опытной среде на два часа по сравнению с контролем (лактозная среда).

Более высокая сохранность акромального чехлика живчиков после замораживания в новой среде также свидетельствует о более высоких протекторных свойствах новой среды.

Нами также разработаны для замораживания семени быка среды (табл. 7) на основе комплексонатной среды с добавлением сахаров (лактоза, сахароза).

Из данных табл. 7 видно, что лучшая подвижность, выживаемость и сохранность акросом после замораживания и оттаивания были в сахарозной среде с комплексонатами. В новой среде с аминокислотами заморожено 150 доз семени, а также 100 доз в среде № 5. Указанное семя использовалось в производственной проверке оплодотворяющей способности в хозяйствах Подольского района Московской области.

От первого осеменения спермой, замороженной в опытной среде, получена стельность 55%, в контроле — 45%, и хотя разница статистически не достоверна (n=30), полученные результаты вселяют надежду на перспективность избранного направления по совершенствованию технологии глубокого замораживания семени быка.

УДК 591.15.16

Ф.І. ОСТАШКО, В.Ф. ОСТАШКО

ДО МЕХАНІЗМУ ТЕМПЕРАТУРНОГО ШОКУ КЛІТИН

Завдяки відомим працям І.В. Смирнова, В.К. Милованова, І.І. Соколовської, С. Полджа, О. Сміт [1, 2] та інших, відкрито нові технологічні засади та створено біотехнічні методи і техніку низькотемпературного зберігання біологічних матеріалів, що широко використовуються у тваринництві, біології, а також у практиці гуманної та ветеринарної медицини. З того часу в усьому світі проводяться дослідження із створення фундаментальної теорії кріобіології, особливо в напрямах вивчення механізмів кріоушкодження і розробки методів кріопротекції біологічних клітин.

Серед причин ушкодження клітин при їхньому охолодженні та заморожуванні одним з найпоширеніших факторів є температурний шок, а тому його вивченню слід приділяти належну увагу. Тепер уже загальновизнано, що явище температурного шоку клітин [3] пов'язане з ушкодженням цитоплазматичної мембрани потоком води, зумовленим урівноваженням осмотичного градієнта, що утворюється внаслідок раптового охолодження системи "клітина—середовище" [4]. Але сам механізм ушкодження цитоплазматичної мембрани поки що не одержав належного роз'яснення. Ще не створено конструктивної моделі руйнівної дії цього потоку і далеко не висвітлено характер та розмірність сил, що виникають при цьому, і на які структури біологічної системи вони діють. При вивченні цього питання необхідно уявити собі саму біологічну систему "клітина—середовище" і розглянути всі явища, перш за все фізико-хімічні процеси, що виникають при охолодженні та фазових переходах цієї системи.

Як уже зазначалось, біологічна система являє собою складний водний розчин найрізноманітніших компонентів — від

© Ф.І. Осташко, В.Ф. Осташко, 2001

звичайних електролітів та недисоціюючих органічних речовин (цукрів, алкоголів, амінів, мономерів) до високомолекулярних полісахаридів, ліпідів, нуклеїнових кислот, білків, ферментів та їхніх комплексів, що вкраплені у мембранні структури багатофункціональних органел живої клітини, — і виконує роль протоплазми, де безперервно відбуваються складні обмінні процеси з оточуючим середовищем.

У зв'язку з цим усі процеси та реакції біологічної системи на охолодження і фазові переходи слід розглядати з позиції колегативних властивостей протоплазми та оточуючого клітину середовища.

Охолодження та переохолодження розчину призводить до таких змін:

- зменшення концентрації розчинних компонентів, згідно із законом Вант-Гофа, на 1/273початкової величини на кожен градус унаслідок зниження швидкості руху молекул та іонів розчинених речовин, а відтак зниження осмолярності;
- зниження ступеня електролітичної дисоціації складових розчину і зменшення концентрації осмотично активних частинок та осмолярності;
- підвищення в'язкості розчину і зниження швидкості руху осмотично активних частинок і знов-таки зниження осмолярності розчину;
- збільшення ентропії системи у зв'язку з втратою енергії;
- зменшення електропровідності розчину;
- зниження тиску пари над поверхнею рідини;
- збільшення щільності (питомої ваги) води, яка сягає максимального значення при температурі +4 °С;
- об'ємне розширення рідини після охолодження нижче +4 °С;
- збільшення кількості структурних форм і полімерних асоціантів води — кластерів;
- відповідно до законів термодинаміки змінюються теплоємкість, поверхневий натяг, теплопровідність, температуропровідність, діелектрична проникність та інші фізико-хімічні параметри протоплазми.

Таким чином, при охолодженні системи, передусім, знижується осмолярність оточуючого клітину розчину, що зумовлює потік води в клітину, тобто у замкнений простір.

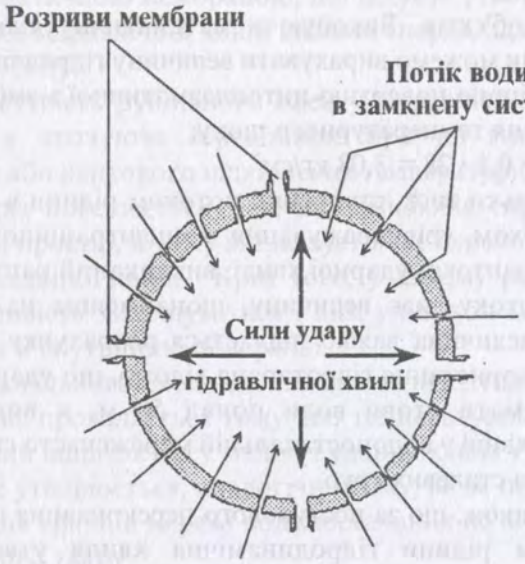
За повільного зниження осмолярності (концентрації) оточуючого розчину вода повільно входить в середину клітини. При цьому об'єм клітини збільшується, мембрана розтягується, а якщо рівень гіпотонії досягає критичної межі, то розривається, спричиняючи незворотні ушкодження і загибель. Якщо ж ступінь гіпотонії не перевищує критичного рівня, то в системі урівноважується градієнт без шкоди для клітини.

За раптового зниження тонічності оточуючого розчину вода раптово прориватиметься в середину клітини, зумовлюючи виникнення явища, подібного до гідравлічного удару, що характеризується раптовим підвищенням тиску рідини на внутрішню поверхню мембрани клітини, викликаним раптовою зміною швидкості її натікання в закриту систему або зупиненням. За тисячні секунди на внутрішню поверхню мембрани може раптово розвинутися тиск високої енергії, здатний зруйнувати мембрану задовго до досягнення критичного рівня гіпотонії зовнішнього розчину. Теоретичні засади цього явища виклав Жуковський ще в 1898 р. [5] для руху рідини в замкненому трубопроводі при раптовому його перетинанні. Він довів, що за раптової зміни швидкості руху рідини або за раптового його зупинення у закритій системі виникають гідродинамічні напруги високих енергій, що можуть бути описані формулою:

$$\Delta p = \rho \cdot \upsilon_0 \cdot C, \qquad (1)$$

де Δp — значення зміни тиску, кг/см^2; ρ — щільність рідини; υ_0 — середня швидкість руху рідини до моменту раптового її зупинення чи раптової зміни швидкості її руху, м/с; C — швидкість розповсюдження у рідині хвилі високого тиску, викликаної раптовою зміною швидкості руху рідини, або швидкість розповсюдження ударної хвилі в рідині, м/с.

Цю закономірність ми використали для розробки теоретичної моделі руйнування цитоплазматичної мембрани



Руйнування мембрани клітини гідравлічним ударом при різкому падінні осмолярності або температури

внаслідок температурного (осмотичного) шоку клітини. Схематично для системи із замкненою напівпроникною мембранною поверхнею дане явище пояснюється на рисунку. Процес розвивається так: при раптовому падінні температури міжклітинного розчину, щільність якого дорівнює приблизно 1,1 г/см^3, вода через усі пори мембрани вривається в середину клітини і, не маючи виходу, розтягує її до критичного стану, коли мембрана вже втрачає здатність розтягуватися. При цьому потік розчину раптово зупиняється, що зумовлює виникнення ударної хвилі високого тиску, яка розповсюджується у тому ж напрямку з великою швидкістю і, наштовхуючись на напружену до критичного стану мембрану, розриває її.

М.Є. Жуковський у своїх розрахунках встановив, що швидкість розповсюдження ударної хвилі (величина "С") для металевих труб дорівнює приблизно 1200 м/с, а для еластичних (наприклад, гумових труб) ця величина лежить в межах 17 — 28 м/с. Остання величина найбільш вірогідна і для

біологічних об'єктів. Виконуючи математичну дію за цією формулою, ми можемо вирахувати величину гідравлічного тиску на внутрішню поверхню цитоплазматичної мембрани під час проявлення температурного шоку:

$$\Delta p = 1{,}1 \cdot 0{,}1 \cdot 28 = 3{,}08 \text{ кг/см}^2. \quad (2)$$

Але це тільки тиск, створений потоком рідини в середину клітини шляхом урівноважування концентраційного градієнта, а тиск раптової ударної хвилі, викликаний раптовим зупиненням потоку, має величину, щонайменше на порядок більшу. Ця величина важко піддається розрахунку. Однак з практики використання гідротарана відомо, що ударна хвиля здатна піднімати стовп води понад 50 м, а виникнення гідравлічної хвилі у водопостачальній мережі часто спричиняє пошкодження сталевих труб.

Відомо також, що за поступового перекривання шляху перед потоком рідини гідродинамічна хвиля утворюється повільно і не набирає високої енергії, гідродинамічний удар пом'якшується і система не ушкоджується. Аналогічно температурний шок клітин пом'якшується або зовсім не проявляється за повільного зниження температури клітинної суспензії.

Отже, якщо донині вважалося, що ушкодження клітин унаслідок температурного шоку є результатом осмотичного процесу, який виникає при урівноважуванні концентраційного градієнта, описаним нами ще у 1963 р. [6], то тепер теоретичну модель механізму температурного шоку слід доповнити дією руйнівної сили удару гідродинамічної хвилі, яка з'являється унаслідок раптової зміни швидкості руху в закриту порожнину клітини потоку води або його раптовим зупиненням, та напруженою до критичного рівня цитоплазматичною мембраною, яка втратила свою еластичність.

Висновки. 1. Механізм ушкодження мембранного апарату клітини при урівноважуванні гіпотонічного осмотичного градієнта, зумовленого раптовим зниженням температури і концентрації оточуючого середовища, пояснюється раптовим виникненням потоку води в клітину та раптовим його зупиненням у замкненій системі, розтягнутою до критичного рівня

цитоплазматичною мембраною, що індукує утворення раптової ударної гідравлічної хвилі високої енергії, здатної зруйнувати мембрану.

2. Відсутність руйнівного ефекту гідравлічного потоку із клітини в оточуюче середовище при дії гіпертонічного градієнта або раптового підвищення температури оточуючого середовища пояснюється тим, що цей потік спрямований у відкритий простір, а тому він не зустрічає перепон та не утворює гідравлічної хвилі. Крім того, у даному разі мембрана має можливість зморщуватися і цим уникнути механічної дії потоку на її внутрішню поверхню.

3. За повільного охолодження суспензії клітин температурний шок не проявляється тому, що температурний градієнт у відповідний відрізок часу малий і ударна хвиля гідравлічного потоку не утворюється, аналогічно тому, як за повільного перекривання крана в мережі водопостачання не виникає гідродинамічного удару.

1. *Смирнов И.В., Милованов В.К., Соколовская И.И.* Свойства живчиков млекопитающих сохранять биологическую полноценность после быстрого замораживания. Диплом СССР на открытие № 103 с приоритетом от июня 1947 г.

2. *C. Polge, A. Smith, A. Parkes.* Revival of spermatozoa after vitrification and dehidratation at low temperatures. Nature (London), 1949, 164, 666.

3. *Кузнецова Н.А.* Первый опыт применения искусственного осеменения в каракулеводстве // Проблемы животноводства. — 1932. — № 6.

4. *Осташко Ф.И.* Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. — К., 1978.

5. *Жуковский Н.Е.* Гидравлический удар. — БСЭ. — Том 11. — С. 260.

6. *Осташко Ф.И.* О природе холодового удара живчиков // Искусственное осеменение с.-х. животных: Сб. работ НИИЖ Л. и П. УССР.— Харьков, 1963.

Харківський біотехнологічний центр УААН

Харківський державний медичний університет

УДК 57.08:636.22/.28.082.453.5

М.П. ПАВЛЕНКО

НОВІ АЛЬТЕРНАТИВНІ АНТИШОКОВІ КОМПОНЕНТИ РОСЛИННОЇ ПРИРОДИ І ЇХНІЙ ВПЛИВ НА КРІОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ТА БІОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ СТАТЕВИХ КЛІТИН БУГАЇВ ПРИ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ У БЕЗЖОВТКОВИХ СЕРЕДОВИЩАХ

При консервуванні сперми холодом обов'язковим компонентом кріопротекторного середовища є нативний жовток, багатий фосфоліпідами і ліпопротеїдами, які при взаємодії з плазматичними мембранами сперміїв модифікують їх у напрямі підвищення міцності та стабільності [1, 3]. Адсорбуючись ліпофільними і гідрофільними ділянками плазматичних мембран, ліпоїдні комплекси майже удвічі-втричі потовщують клітинну оболонку, що надає стійкості гаметам до екстремальних температурних, осмотичних, імунологічних, фізико-хімічних і механічних ушкоджень. У зв'язку з цим жовткові розбавлювачі стали основою виробничих технологій консервування сперми тварин. Проте жовток за своїми негативними властивостями відносно сперми (нестандартність, термолабільність, бактеріоносійство, імуноспецифічність і токсичність) не є ідеальним компонентом штучних середовищ, що спонукає до пошуку ефективних його замінників, насамперед із сировинних джерел рослинного походження. Раніше [2] було виділено із соєвих бобів фосфоліпід — ліпозитол і доведено, що він захищає статеві клітини бугая від холодового удару при нульових температурах на одному рівні з лецитином курячого жовтка. Однак, за даними досліджень В. Семенової (1987), використання рослинного фосфоліпіду у формі спиртової витяжки при кріоконсервації сперми не забезпечує

© М.П. Павленко, 2001

кріозахисного ефекту, рівноцінного використанню нативного жовтка, а відтак ці дослідження не набули подальшого розвинення. Пізніше [2] цими авторами було експериментально доведено, що більш ефективними для захисту статевих клітин від температурного шоку є не вільні фосфоліпіди жовтка, а їхні ліпопротеїнові комплекси з умістом до 50 % білків. Вивчаючи це питання, ми вперше успішно заморозили сперму бугая у середовищі, виготовленому на основі ліпопротеїнової витяжки (РАФ-1) із соєвого борошна, що відкрило перспективу для створення дешевих, термостабільних, екологічно чистих і ефективних кріопротекторних середовищ для сперми тварин. У зв'язку з цим метою наших досліджень було розробити методику одержання антишокових компонентів із сировинних джерел рослинного походження і вивчення їхньої дії на спермії бугаїв.

Матеріали і методика досліджень. Для дослідів використовували сперму бугаїв, стандартне лактозо-жовтково-гліцеринове середовище № 1 і безжовткове лактозо-цитратно-гліцеринове середовище № 2, які призначені для кріоконсервації сперми за харківською технологією. Як сировину для одержання антишокового компонента використовували насіння сої, гороху, сочевиці, арахісу і квасолі.

При виготовленні експериментальних середовищ насіння бобових висушували до 1%-ї вологості, після чого його мололи до борошна. Борошно розчиняли бідистильованою водою у співвідношенні 1:3. Екстрактивну масу перемішували протягом 1 год. при кімнатній температурі на магнітному змішувачі, а потім прогрівали на водяній бані при температурі + 65 °С протягом 30 хв. Після цього екстрактивну суміш центрифугували при 7 тис. обертів за хвилину протягом 20 хв. Осад видаляли, а супернатант використовували в дослідах.

Осмотичний тиск супернатанту вимірювали кріоскопічним методом, концентрацію водневих іонів — на іонометрі ЕВ-74 (за ДЕСТ 20909.5—75).

Компенсацію осмотичного тиску проводили додатковим внесенням цукрози в одержані супернатанти, після чого їх ви-

користовували як основу для кріопротекторних середовищ. Загальним контролем було лактозо-жовтково-гліцеринове середовище. Одержаними зразками середовищ розбавляли дослідні проби сперми у співвідношенні 1:1, витримували їх при кімнатній температурі протягом 5 хв., після чого додатково розбавляли сперму безжовтковим лактозо-цитратно-гліцериновим середовищем № 2 у співвідношенні 1:10. Оброблену таким чином сперму випробували на кріорезистентність за нашою методикою та на здатність до заморожування в рідкому азоті за харківською технологією. При цьому вивчали вплив заморожування на рухливість сперміїв після деконсервації, виживаність статевих клітин при температурі +38 °С та її запліднювальну здатність.

Результати досліджень. Установлено, що при екстрагуванні антишокового компонента з насіння бобових у всіх використаних зразках концентрація водневих іонів становила 6,2 — 6,4 од. і відповідала рівню цього показника в жовтковому розбавлювачі, який був контролем.

При кріоскопії екстрактів, отриманих за описаною методикою, встановлено, що осмотичний тиск тільки в соєвому і сочевичному екстрактах становив 8,2 од. і був на рівні контрольного розбавлювача, що пояснюється високим вмістом у цих бобах осмотично активних речовин. У всіх інших екстрактах дефіцит осмотичного тиску становив: по арахісу — 4,4; гороху — 4,8 і квасолі — 4,9 атм. Ці нестачі ми компенсували до значення 8,2 атм. внесенням в екстракти потрібної кількості дисахариду — цукрози (табл. 1).

Для вивчення кріорезистентності та здатності до глибокого заморожування сперми в отриманих екстрактах нами використано 12 розділених еякулятів бугаїв.

Дослідженнями антишокових властивостей вказаних фортифікантів встановлено їхню здатність захищати статеві клітини від температурного шоку. В умовах миттєвого зниження температури в інтервалі +28 °С — 0 °С найбільш ефективний захист статевих клітин від ушкоджень забезпечувався при використанні антишокових компонентів соєвих бобів, со-

1. Показники концентрації водневих іонів та осмотичного тиску (атм.) в екстрактах, одержаних з сировинних джерел рослинного походження

Показники	Контроль жовтка	Рослинні замінники жовтка				
		квасоля	горох	арахіс	сочевиця	соя
Концентрація водневих іонів, pH	6,2	6,2	6,2	6,4	6,3	6,2
Осмотичний тиск:						
після екстрагування	8,2	3,3 –4,9	3,4 –4,8	3,8 – 4,8	8,2	8,2
після компенсації цукрозою	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2

чевиці та арахісу. При цьому коефіцієнт кріорезистентності становив: R = 0,83; 0,87 і 0,82 од. відповідно (табл. 2).

Дещо нижчу кріорезистентність (R=0,7) відмічено в компоненті, одержаному з гороху. Найнижчі захисні властивості (R=0,38) відносно сперміїв проявляє екстракт із бобів квасолі.

Аналогічну залежність ефективності використання цих компонентів відмічено також і при глибокому заморожуванні сперми бугаїв до температури –196 °С. Після заморожування і відтанення в контролі залишалося 42% повноцінних сперміїв; в екстракті із сої — 41%; сочевиці — 42%; арахісу — 37%; гороху — 35% і квасолі —20%. Виживаність при температурі + 38 °С становила 6,0; 8,0; 7,8; 8,0; 8,0 і 3,0 год., а показник абсолютної виживаності був 17,5; 20,2; 19,8; 16,1; 18,5 і 4,0 од. відповідно.

Аналіз експериментальних даних свідчить про те, що всі вивчені компоненти тією чи іншою мірою здатні захищати статеві клітини бугая від температурного шоку при їхній гіпотермії як у зоні плюсових, так і в зоні субнульових температур. Встановлено високу захисну дію від кріоушкоджень статевих клітин компонентів сої, сочевиці, арахісу і гороху, які можуть

2. Вплив рослинних антишокових компонентів на сперму бугаїв при її гіпотермії

Показники	Контроль жовтка	Рослинні замінники жовтка				
		квасоля	горох	арахіс	сочевиця	соя
Оцінка сперми, бали:						
при одержанні	8,0 ± 0,001	8,0 ± 0,001	8,0 ± 0,001	8,0 ± 0,001	8,0 ± 0,001	8,0 ± 0,00
після розбавлення	7,8 ± 0,01	7,8 ± 0,01	7,8 ± 0,01	7,8 ± 0,01	7,8 ± 0,01	7,8 ± 0,01
після температурного шоку	6,7 ± 0,01	3,0 ± 0,02	5,5 ± 0,01	6,4 ± 0,01	6,8 ± 0,01	6,5 ± 0,01
Коефіцієнт кріо-резистентності сперми (R)	0,85 ± 0,01	0,38 ± 0,01	0,7 ± 0,01	0,82 ± 0,01	0,87 ± 0,01	0,83 ± 0,01
Оцінка сперми після заморожування, бали	4,2 ± 0,01	2,0 ± 0,01	3,5 ± 0,01	3,7 ± 0,01	4,2 ± 0,01	4,1 ± 0,01
Виживаність сперми при + 38 °С, год.	6,0 ± 0,5	3,0 ± 0,5	8,0 ± 0,3	8,0 ± 0,3	7,8 ± 0,01	8,0 ± 0,02
Показник абсолютної виживаності сперми, од. (Sa)	17,5 ± 1,0	4,0 ± 0,05	18,5 ± 1,1	16,1 ± 1,2	19,8 ± 1,2	20,2 ± 1,1

бути рівноцінними замінниками нативного жовтка у кріопротективних середовищах.

Запліднювальну здатність сперми перевіряли в дослідному господарстві "Українка" і радгоспі "Безлюдівський" Харківської області. Було осіменено 260 корів, з яких запліднилося після першого осіменіння 182 голови (70%). На контролі із 240 голів запліднилося 158 (66,5%).

Отримані дані показують високу ефективність використання антишокових компонентів рослинного походження при кріоконсервуванні сперми бугаїв-плідників.

Висновки. 1. Ліпопротеїнові витяжки із сої, сочевиці, арахісу і гороху проявляють властивість захищати статеві клітини від температурного шоку в умовах миттєвого зниження температури від 28 °С до 0 °С на одному рівні з нативним жовтком.

2. Встановлено пряму залежність осмотичного тиску в екстрактах від температури експозиції і умов екстрагування. Оптимальні параметри екстрагування забезпечуються при безперервному змішуванні екстрактивної суміші протягом 1 год., витримування її при температурі +65°С з наступним розділенням суміші на фракції.

3. Екстракти сої, сочевиці, арахісу і гороху компенсовані за осмотичним тиском дисахаридом сахарозою за наявності кріопротектора гліцерину (5%) забезпечують високу виживаність статевих клітин при заморожуванні до –196°С. При цьому виживаність сперми становила 20,0; 19,8; 16,1 і 18,5 од. і вірогідно не відрізнялася від використання для заморожування стандартного кріопротекторного середовища з умістом 30% жовтка.

4. За умов заміни в кріопротекторних середовищах нативного жовтка антишоковими компонентами рослинного походження забезпечується збереження високої запліднювальної здатності заморожено-відталої сперми після першого осіменіння .

5. Використання рослинного фортифіканта плазматичних мембран замість нативного жовтка дає змогу запобігти за-

брудненню сперми і статевих шляхів самиць збудниками захворювань, які передаються з жовтком, застосувати прості і надійні способи стерилізації, уникнути використання дефіцитного дієтичного жовтка, а також розв'язати проблему централізованого виготовлення кріопротекторних середовищ і постачання їх племінним підприємствам.

1. *Милованов В.К., Селиванова О.А.* Разбавители для спермы сельскохозяйственных животных // Проблемы животноводства. — 1932. — № 2. — С. 75—86.

2. *Милованов В.К.* Биология воспроизведения и искусственное осеменение животных: Монография. — М.: Изд-во с.-х. литературы, журналов и плакатов.— 1962. — 696 с.

3. *Осташко Ф.И.* О природе холодового удара живчиков // Искусственное осеменение сельскохозяйственных животных: Сб.науч. тр. НИИЖ Л. и П. УССР. — Харьков, 1963. — С. 22—41.

Харківський зооветеринарний інститут

УДК 636.2.453.5:57.08

Б.М. ПАВЛЕНКО*

РЕЗУЛЬТАТИ ВИВЧЕННЯ КРІОКОНВЕКТОРНОГО СПОСОБУ ЗАМОРОЖУВАННЯ СПЕРМИ

Однією з причин зниження якості сперми при кріоконсервуванні в герметичних упаковках є нерівномірна взаємодія холоду заданої температури з усією поверхнею кожної спермодози, що особливо проявляється при заморожуванні великих партій сперми. Це пояснюється тим, що відомі способи заморожування сперми грунтуються на принципі пасивної конвекції холоду, що призводить до інерційності та дестабілізації режиму охолодження спермодоз і, як наслідок, — до розбіжностей у якості деконсервованої сперми.

---

* *Науковий керівник — академік Ф.І. Осташко.*

© Б.М. Павленко, 2001

З метою стабілізації режиму охолодження ми розробили і виготовили спеціальний пристрій — кріоконвектор для заморожування герметизованих спермодоз. Принциповою функціональною особливістю пристрою є те, що він у робочому стані автоматично створює додатковий потік холодного газоподібного азоту по внутрішньому каналу контейнера з герметизованими спермодозами, що забезпечує індивідуальне дозоване обдування холодом кожної спермодози під час заморожування, активізуючи таким чином конвекційні процеси до оптимальних значень.

У зв'язку з наведеним ми вивчали ефективність кріоконвекторного способу заморожування сперми бугаїв. При цьому визначали залежність якісних показників сперми від місця розташування облицьованих спермодоз у контейнері, вплив різних рівнів завантаження контейнера спермодозами на виживаність деконсервованої сперми та проводили порівняльне вивчення способів заморожування сперми і її запліднювальної здатності.

Установлено, що біологічні показники сперми у досліджуваних спермодозах, відібраних з різних місць контейнера, після заморожування не мали відхилень у межах одного еякуляту і по 10 розділених еякулятах у середньому становили за активністю — 5,1 бала, за виживаністю статевих клітин при +38 °С — 8,5 год. і за показником абсолютної виживаності — 28,8 од.

Вплив рівня завантаженості контейнера спермодозами на результативність заморожування сперми визначали при розміщенні 50, 100, 150 і 200 спермодоз у контейнері. Активність і виживаність статевих клітин в усіх пробах не залежали від кількості розміщених у контейнері спермодоз і були на одному рівні — 4,5 бала і 6,5 год. відповідно.

При порівняльному вивченні заморожування сперми контрольні спермодози консервували за харківською технологією. Дослідженнями доведено, що використання кріоконвектора запропонованої моделі забезпечує одержання більш високих якісних показників сперми порівняно з контролем: за

активністю після розморожування — на 0,6 бала, за виживаністю при +38 °С — на 1,1 год. і за показником абсолютної виживаності — на 3,3 од. Водночас вдалося досягти рівномірного охолодження кожної спермодози і таким чином запобігти розбіжностям у якості сперми в межах одного еякуляту.

Визначення запліднювальної здатності сперми проводили в КСП "Восток" Ізюмського району Харківської області на поголів'ї 250 корів. За даними ректальних досліджень, після кожного осіменіння не прийшло у повторну охоту 180 корів (або 70,2%), що було на одному рівні з використанням незамороженої сперми розділених еякулятів цих самих бугаїв.

Таким чином, запропонований пристрій і спосіб заморожування герметизованих спермодоз можуть бути використані для роботи на племінних підприємствах з метою підвищення якісних показників глибокозамороженої сперми в різних формах упаковок.

Використання пристрою порівняно з аналогами дає змогу:

- заморожувати сперму без застосування дорогого обладнання і термореєстраційних приладів;
- забезпечити раціональне використання енергії холоду й економію скрапленого азоту;
- використовувати контейнери як для заморожування, так і для подальшого зберігання сперми без перефасування спермодоз;
- завдяки стабілізації режиму заморожування сперми зосередити контрольні спермодози різних еякулятів у одному контейнері, що значно спрощує трудомісткий процес відбору спермодоз для їхньої оцінки після розморожування.

Харківський зооветеринарний інститут

УДК 636.018/088

О.І. СМИРНОВА

МЕТОДИ ЗАПОБІГАННЯ ЗГУБНІЙ ДІЇ ПЕРЕПАДІВ ОСМОТИЧНОГО ТИСКУ ЕЛЕКТРОЛІТІВ І НЕЕЛЕКТРОЛІТІВ НА СПЕРМІЇ БУГАЯ

Уже з перших спроб зберігання генетичного матеріалу плідників поза організмом було встановлено, що в спермі відбуваються значні зміни осмотичного тиску. Наприклад, температурний шок, який спостерігається при швидкому охолодженні сперміїв нижче 20 °С, призводить до зрушень осмотичного градієнта на межі клітина—середовище, що спричиняє руйнування і загибель сперміїв. Ця фаза діє на гамети як гіпотонічний розчин. Уникнути останнього можна шляхом розбавлення сперми спеціальними захисними середовищами, що містять у своєму складі жовток курячого яйця, який є обов'язковим компонентом більшості розбавлювачів для сперми бугаїв. Можливо, основну захисну дію своєрідного осмотичного буфера виконує лецитин, що у великій кількості знаходиться саме в жовтку.

Нативну сперму бугаїв чорно-рябої породи розділяли навпіл: одну частину розбавляли 1:1 ізотонічним розчином цитрату натрію, а другу — таким самим розчином, але з добавлянням 20% жовтка свіжих яєць.

Одночасно у флакони відміряли по 1 мл розчинів натрію хлориду, тризаміщеного цитрату натрію, глюкози, фруктози і рафінози в концентраціях від 40 до 160% ізотонічної. У кожний флакон вносили по 0,1 мл з першої та другої частин розбавленої сперми. Таким чином, кінцеве розбавлення сперми становило 1:20. Через 10 хв. після розбавлення досліджували рухливість сперміїв у кожному зразку при температурі +38°С, окремо відмічаючи кількість клітин з нормальним прямолінійним рухом, манежним рухом, а також відсоток сперміїв з морфологічними деформаціями.

© О.І. Смирнова, 2001

1. Кількість живих сперміїв у розчинах з різним осмотичним тиском

Розчин	Рух сперміїв	Концентрація речовин, % до ізотонічної													
		40		60		80		100		120		140		160	
		–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+	–	+
Натрій хлориду	П	5	8	10	20	40	45	55	60	45	60	10	20	5	10
	М	5	10	5	10	5	10	0	5	0	0	3	0	0	0
	Д	3	5	18	25	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	13	23	33	55	50	55	55	65	45	60	13	20	5	10
Натрій цитрату	П	1	1	1	1	5	5	70	75	65	70	55	70	35	45
	М	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	5	0	10	15
	Д	5	10	30	40	60	65	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	6	11	31	41	65	70	75	75	70	70	60	70	45	60
Глюкоза	П	0	0	0	3	5	20	10	45	8	40	0	45	0	45
	М	0	0	0	1	3	5	5	5	3	15	0	5	0	0
	Д	0	5	5	5	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	Σ	0	5	5	9	11	28	18	53	11	55	0	50	0	45
Фруктоза	П	0	1	3	8	5	35	8	40	3	30	1	25	1	25
	М	0	0	1	1	3	10	5	10	1	5	0	5	0	5
	Д	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	0	1	4	9	8	45	13	50	4	35	1	30	1	30
Лактоза	П	1	1	3	25	25	65	15	65	1	5	0	1	0	1
	М	0	0	0	0	0	0	10	5	5	10	0	0	0	0
	Д	5	30	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	6	31	7	26	25	65	25	70	6	15	0	1	0	1

Примітка: П — спермій з прямолінійним рухом; М — з манежним; Д — деформовані спермії; + — розчин із жовтком; – — розчин без жовтка.

У гіпо- і гіпертонічних розчинах жовток виявляє свої захисні властивості. За однакової вихідної рухливості клітин у зразках із жовтком незначні відхилення від ізотонічної (80 і 120%) майже не були помічені, як у зразках сперми без жовтка. У гіпо- і гіпертонічних розчинах кількість сперміїв з прямолінійним рухом зменшувалася у 10—14 разів (табл. 1).

В ізотонічних розчинах неелектролітів (глюкоза, фруктоза і лактоза) без жовтка рухливість клітин значно знижувалась, що, можливо, відбувалося внаслідок дефіциту іонів металів, необхідних для участі ферментів у біохімічних процесах сперми. Введення жовтка помітно активізувало рухливість сперміїв в ізотонічних розчинах і при невеликих відхиленнях від ізотонії (80 і 120%).

Ми провели дослідження захисної дії жовтка при різкій зміні температури зберігання розбавленої сперми (холодовий удар). З цією метою зразки сперми, розбавленої ізотонічними розчинами натрію цитрату і натрію хлориду без жовтка або з добавлянням 20% жовтка, переносили із термостата з температурою +38 °С на лід, що танув (0 °С). Захисну дію жовтка було визначено за кількістю клітин з прямолінійним рухом. У зразках сперми з жовтком рухливість сперміїв була у п'ять—сім разів вищою (табл. 2).

2. Кількість живих сперміїв бугая після швидкого охолодження залежно від наявності жовтка у розчині

Холодний розчин	Рухливість сперміїв, %				
	до охолодження	після охолодження			
		сперміїв з прямолінійним рухом		сума живих сперміїв	
		—	+	—	+
2,8% -й натрію цитрату	80	0	5	0	25
1% -й натрію хлориду	80	5	35	15	50
6%-й глюкози	80	1	5	6	25

Примітка: + — розчин із жовтком; – — розчин без жовтка.

Таким чином, результати дослідів підтвердили припущення про те, що застосування жовтка курячих яєць у середовищах для розбавлення та зберігання сперміїв бугая є одним з методів уникнення шкідливої дії гіпо- і гіпертонічних розчинів електролітів та неелектролітів.

Національний аграрний університет

УДК 636.018/088

О.І. СМИРНОВА

ВИКОРИСТАННЯ ДРІБНОДИСПЕРСНИХ КРЕМНЕЗЕМІВ У СЕРЕДОВИЩАХ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ БАРАНІВ

Розвиток технології глибокого заморожування сперми баранів пов'язаний з пошуком найбільш ефективних кріопротекторів у складі штучних середовищ, захисна дія яких стосовно до репродуктивних клітин повинна бути спрямована на зменшення пошкоджень мембранних структур. У зв'язку з цим були проведені випробування різних модифікацій дрібнодисперсних кремнеземів у складі існуючих середовищ для розбавлення сперми баранів з метою стабілізації її біологічної повноцінності.

Дрібнодисперсний кремнезем являє собою оброблений у спеціальному термічному режимі діоксид кремнію. При малих розмірах частинок (100—300 А) він має велику питому поверхню і високі сорбційні властивості відносно біомолекул та клітин, що дає змогу використовувати його як неорганічного носія при іммобілізації різних речовин. За фізико-хімічними показниками дрібнодисперсні кремнеземи нетоксичні і біологічно сумісні з живими об'єктами. Раніше було встановлено, що кремнезем з гідроксильованою поверхнею має високу адгезивну здатність стосовно гамет бугая завдяки взаємодії з певними компонентами клітинної поверхні, які представля-

© О.І. Смирнова, 2001

ють її рецепторну систему. Такі властивості кремнезему підсилюють дію середовища для кріоконсервації.

Таким чином, метою досліджень було з'ясувати дію дрібнодисперсних кремнеземів у синтетичних середовищах на сперму баранів. Різні модифікації кремнеземів використовували у вигляді компонентів середовищ для розбавлення і кріоконсервації сперми баранів з наступним осіменінням овець у господарствах. Щойно приготовлене середовище Волкова ділили на п'ять частин, одну з яких залишали для контролю, а в інші чотири (дослідні) додавали кремнеземи певної концентрації. У досліді використовували діоксид кремнію з гідроксильованою поверхнею, а також створені на його основі з модифікованою вуглеводами поверхнею, зазначені як марки А, АФ, АГ і АС, і вносили у розбавлювач у концентраціях 0,025—0,5%, після чого розбавляли сперму у співвідношенні 1:2. Кріоконсервацію проводили за загальноприйнятою технологією на фторопластовій пластині. Критерієм оцінки стабілізуючої дії кремнезему слугувала виживаність сперміїв при температурі + 38 °С.

Найбільш перспективним за цим показником виявився кремнезем АС у концентрації 0,1 і 0,25% та 8,5 і 9,0 год. виживаності (табл.1). Встановлено, що малі (0,025%) і великі (0,5%) концентрації всіх модифікацій кремнеземів помітно не вплинули на виживаність сперміїв.

1. Виживаність сперміїв баранів у середовищах з різною концентрацією дослідних кремнеземів, год

Концентрація кремнеземів, %	Контроль	Марка кремнезему			
		А	АФ	АГ	АС
0,025	7,2	7,2	7,2	7,3	7,3
0,05	7,0	7,3	7,7	7,2	7,8
0,1	7,3	7,5	8,0	7,3	8,5
0,25	7,7	7,8	8,8	7,8	9,0
0,5	8,0	8,0	8,0	8,0	8,1

2. Результати осіменіння овець спермою, обробленою кремнеземами різних марок

Показники	Контроль	Марки кремнезему		
		А	АФ	АС
Осіменено овець, гол.	295	192	228	211
Запліднюваність, %	50±3	51,0	56,9	58,5±3,5
Плодючість, %	111	114	120	122
Отримано ягнят, гол.	167	112	156	151
Отримано ягнят на 100 вівцематок, гол.	57,0	58,0	68,0	72,0

Кремнезем у середовищі виявив високі адгезивні властивості щодо поверхні репродуктивної клітини барана. Можливо, що це зумовлено його фізико-хімічними властивостями, а також здатність до адсорбції на певних ділянках мембрани гамет залежить від структури поверхні діоксиду кремнію.

Як було встановлено, у дослідах з кремнеземом, який має гідроксильовану поверхню, лише 10% поверхневих білків взаємодіяли з кремнеземом. Зв'язок з глікопротеїнами залежав від того, який вуглевод був кінцевим. Найбільшу ефективність в цьому процесі виявили компоненти з альдозою (25%), дещо меншу — компоненти з кетозою.

Не виключено, що ефект кремнезему пов'язаний з конформаційними перебудовами компонентів мембран, які взаємодіють з кремнеземом. Саме це і сприяє стабілізації мембран клітин.

Враховуючи, що до складу препаратів входить не лише дисперсний кремнезем, а й вуглеводи, можна припустити, що найбільша стабілізація мембран гамет відбувається в результаті зв'язку з певними ділянками мембрани, оскільки вуглеводні фрагменти рецепторів мають високий ступінь хімічної схожості до структур собі подібних, а саме вуглеводів. Крім того, вуглеводи є джерелом енергії, завдяки чому досягається сильніший ефект дії середовища на клітину.

Результати осіменіння маточного поголів'я спермою, обробленою різними кремнеземами, наведено у табл. 2. Найефективнішим виявилося застосування кремнеземів марок АФ і АС.

Національний аграрний університет

УДК 636. 2.31. 082. 453

**П.А. КРУГЛЯК*, С.Д. МЕЛЬНИЧУК,
М.В. МАРЕНЕЦЬ, О.І. СМИРНОВА, М.П. ЖУРАВЕЛЬ**

СПОСІБ ТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ ІНАКТИВОВАНИХ СПЕРМІЇВ БУГАЇВ ПРИ ТЕМПЕРАТУРІ +2 — +15 °С

Метод глибокого заморожування статевих клітин плідників сільськогосподарських тварин, відкритий І.В. Смирновим [1—3], розв'язав проблему раціонального використання найцінніших з них у селекції незалежно від відстані та часу заморожування сперми і, безумовно, є відкриттям світового рівня. Окрім цих переваг, при впровадженні даного методу відпала необхідність в утриманні великого парку автомобілів, які щодня розвозили сперму, що зберігалася при температурі від 0 до +4 °С. У подальших наукових дослідженнях (С. Полдж, О. Сміт, Л. Роусон, 1952; Н. Нагазе, М. Нива, 1964; Р. Кассу, 1964; Ф.І. Осташко 1969; К. Зіммет, 1972; П. Пакенас, 1972; І. Хабібуллін, 1976 та ін.) розроблено різні технології кріоконсервації сперми, які забезпечили широке впровадження цього великого відкриття у біології.

Однак метод глибокого заморожування сперми і нині є незавершеним до кінця, на що вказував у своїх роботах і сам автор. Відомо, що в процесі глибокого заморожування і розмо-

* *Науковий керівник — академік УААН М.В. Зубець.*

© П.А. Кругляк, С.Д. Мельничук, М.В. Маренець, О.І. Смирнова, М.П. Журавель, 2001

рожування гине 50 % сперматозоїдів, а у значної частини їх порушується акросомний апарат, унаслідок чого останні не беруть участі в заплідненні яйцеклітин.

У цьому плані заслуговує на увагу температурно—хімічний спосіб анабіозу, за якого також різко сповільнюється обмін речовин у клітинах і який не менше привертав увагу багатьох учених, серед них і І.В. Смирнова навіть після захисту його кандидатської дисертації. Суть цього способу консервування статевих клітин полягає у насиченні розріджувача вуглекислим газом, при якому останній, з'єднуючись з водою, утворює вугільну кислоту з малою константою дисоціації, що легко проникає у клітини і, розпадаючись на іони, гальмує дихання і гліколіз. У результаті цього статеві клітини переходять у стан гіпобіозу.

Такого складу розбавлювач був розроблений в університеті штату Іллінойс (США), завдяки чому дістав назву іллінойський. В основний рецепт його входить двовуглекислий натрій, цитрат натрію, хлористий натрій, глюкоза, сульфаніламід та CO_2.

У дослідженнях І.В. Смирнова і В.І. Поставної [3] встановлено чітку залежність рухливості і резистентності інактивованих вугільною кислотою спермиїв від температури зберігання. Найкращі результати одержано при температурі +10 °С, при якій спермії зберігали запліднювальну здатність протягом чотирьох-п'яти діб. Однак автори не враховували роль карбонатів у середовищі, що не дало можливості вивчити вплив різних pH на показники якості сперми.

У подальших дослідженнях встановлено, що у глибокий стан гіпобіозу статеві клітини самців входять при спільній дії чотирьох факторів — температури, концентрації вуглекислоти та бікарбонатів у ній, pH середовища, — що, на думку авторів, повинно продовжувати тривалість зберігання сперми.

В останнє десятиріччя в окремих регіонах країни впроваджено маршрутно-кільцеву форму організації штучного осіменіння корів і телиць, за якої один технолог об'їжджає щодня за маршрутом 20—30 господарств і осіменяє по 70—100 корів. За

цих умов забезпечується 100%-ве використання сперми бугаїв, уведеної в стан штучного гіпобіозу, внаслідок чого спосіб може бути економічно вигідним, адже статеві клітини не піддаються дії низьких температур і не порушується акросомний апарат.

Метою наукових досліджень було розробити синтетичне середовище, здатне переводити у більш глибокий гіпобіоз сперматозоїди та відпрацювати оптимальну модель співвідношення pH і температури зберіганням сперми, визначити біологічні показники і запліднювальну здатність сперміїв, інактивованих у такий спосіб та збережених протягом шести-семи діб при плюсових температурах, вивчити вплив штучного гіпобіозу сперми бугаїв-плідників на відтворну здатність великої рогатої худоби.

Матеріали і методика досліджень. Дослідження проводили на спермі 12 бугаїв голштинської породи Головного селекційного центру України, яку розбавляли розробленим нами (С.Д. Мельничук, Д.О. Мельничук, А.П. Кругляк, О.І. Смирнова, М.П. Журавель, П.А. Кругляк, М.В. Маренець) бікарбонатно-діоксидвуглецевим середовищем, що включає (мас. %): глюкозу медичну безводну — 2,4, натрій лимоннокислий тризаміщений п'ятиводний — 1,122, жовток курячих яєць — 16,2, натрій двовуглекислий — 0,2 — 0,27, діоксид вуглецю — 0,028 — 0,034 і воду бідистильовану. (Патент 6 А 61 D7/00 № 24696А від 16.12.1997 р.) Після цього клітини вводили у гіпобіотичний стан шляхом введення CO_2 до такої його концентрації, яка вирівнювала pH сперми до його початкового показника у нативній спермі (6,75). Розбавлену сперму зберігали при температурі =+2 — +4 та +10 — +15 °С. Оцінку якості сперми проводили двічі на добу під мікроскопом за рухливістю гамет до повної їхньої загибелі. Запліднювальну здатність сперміїв визначали у шести господарствах Київської області. Контролем була сперма цих самих бугаїв із розділених еякулятів і розбавлена ГЦЖ середовищем. Усього було осіменено 196 корів контрольною та 302 корови дослідною спермою.

Результати досліджень. Найкращі результати одержано при добавлянні у ГЦЖ середовище бікарбонату натрію у дозі

50 ммоль/л та доведення pH середовища діоксидом вуглецю до рівня 6,7 при температурі зберігання від +2 до +4 °С. При цьому рухливість сперматозоїдів буґаїв дослідної групи утримувалася значно вищою (на 1 бал у перші три доби, на 2 бали — на 4-ту та 5-ту добу та на 3 бали — на 6-ту добу зберігання сперми порівняно з контролем). Виживаність сперматозоїдів за умов гіпобіозу збільшилася від 192 (на контролі) до 216 год. (у досліді), а абсолютний показник виживаності — від 780 до 1078 у.о., або на 30% (табл. 1).

Із 195 корів, осіменених дослідною спермою за перші три дні її використання, запліднюваність у середньому становила 69,3%, а контрольною (196 корів) — 60,7%. Різниця між запліднюваністю корів у дослідній і контрольній групах дорівнювала 8,6% на користь дослідної групи, що статистично вірогідно при $P<0,01$. Рухливість сперматозоїдів контрольної групи після трьох діб зберігання знизилася нижче 6 балів, а відтак ми її не використовували згідно з інструкцією. У дослідній групі цей показник був вище 6 балів протягом 4-ї і 5-ї, а окремих буґаїв і 6-ї доби. Це дало нам змогу додатково осіменити групу корів,

1. Показники якості сперміїв у середовищах з різною концентрацією бікарбонату і CO_2

Концентрація бікарбонату натрію, ммоль/л		CO_2, г/л	Виживаність	
			год.	Sa
При t° = +2 — +4 °С				
Контроль	—	—	192	780
Низька	10,0	0,1105	192	703
Середня	30,0	0,3316	168	862
Підвищена	40,0	0,4421	192	828
Висока	50,0	0,5526	216	1078
При t° = +10 — +15 °С				
Контроль	—	—	168	626
Висока	50,0	0,5526	216	903

2. Вплив гіперкапнії на запліднювальну здатність сперматозоїдів бугаїв-плідників

Порядковий день використання сперми	Розбавлена ГЦЖ і збережена при t=+2 — +4°С (контрольна)			ГЦЖ + $NaHCO_3$ + CO_2 і збережена при t=+2 — +4°С (дослідна)		
	осімен., гол.	запліди., гол.	%	осімен., гол.	запліди., гол.	%
1-й	30	22	73,3	45	36	79,3
2-й	30	19	63,4	40	27	67,5
3-й	136	78	57,5	110	72	65,5
Разом	196	119	60,7	195	135	69,3
Різниця						+8,6
4-й	—	—	—	31	19	61,3
5-й	—	—	—	34	15	44,1
6-й	—	—	—	42	15	35,7
Разом				107	49	45,8
Усього за 6 днів				302	184	57,8

запліднюваність яких становила за 4-й день 61,3%, за 5-й — 44,1 і за 6-й — 35,7% (табл. 2).

Таким чином, запропоноване нами середовище і спосіб розбавлення та зберігання сперми продовжують тривалість збереження інактивованих спермиїв бугаїв при плюсових температурах до п'яти діб і забезпечують повне використання сперми за підвищеного рівня відтворення в перші три доби її використання. При цьому число спермодоз з одного еякуляту збільшується удвічі. Різниця між заплідненістю корів у дослідній та контрольній групах протягом трьох діб використання сперми становить 8,6 %. Це свідчить про те, що на кожні 100 корів можемо додатково отримувати майже 9 телят.

Висновки. 1. Розроблено середовище для тривалого зберігання сперми бугаїв-плідників з використанням явища гіперкапнії та гіпотермії, яке забезпечує збереження життєздатності сперматозоїдів при температурі від +2 до +15 °С з рухливістю не нижче 5 балів протягом п'яти діб.

2. Застосування штучного гіпобіозу сперматозоїдів дає

змогу продовжити термін їхньої життєздатності з рухливістю не менше 5 балів від трьох до п'яти діб без істотного зниження запліднювальної здатності. Це дає можливість повністю використовувати розріджену сперму бугаїв-плідників.

3. Спосіб штучного гіпобіозу сперми бугаїв може бути з успіхом використаний в умовах маршрутно-кільцевої системи організації штучного осіменіння корів і телиць.

1. *Милованов В.К.* Биология воспроизведения и искусственного осеменения животных. — М.: Изд-во с.-х. литературы, журналов и плакатов, 1962. — 696 с.

2. *Остапшко Ф.И.* Длительное хранение спермы производителей сельскохозяйственных животных в замороженном состоянии. — М.: Сельхозиздат, 1962. — 28 с.

3. *Смирнов И.В., Поставная И.В.* Хранение семени быков посредством инактивации живчиков угольной кислотой // Доклады советских ученых к 5-му Международному конгрессу по биологии воспроизведения и искусственного осеменения животных. — 1964. — С. 31 — 34.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

Національний аграрний університет

УДК 636.082.453.53

М.П. ЖУРАВЕЛЬ

ВПЛИВ ГІПООСМОЛЯРНОСТІ НА ХАРАКТЕР І МЕХАНІЗМ УШКОДЖЕННЯ СПЕРМІЇВ ШЛЯХОМ СПЕЦИФІЧНОЇ ДЕФОРМАЦІЇ ЇХ

Як відомо, на різних етапах заморожування і відтавання сперми можуть відбуватися значні зрушення осмотичного тиску як у бік гіперосмолярності, так і гіпоосмолярності, тобто порушується осмотична рівновага між протоплазмою спермія і середовищем, яке оточує клітину. Про це повідомляють автори багатьох робіт. Однак досліджень, присвячених

© М.П. Журавель, 2001

безпосередньо вивченню впливу розчинів різної осмолярності на спермії, в літературі не так уже й багато. Насамперед — це роботи В.К. Милованова, В.О. Морозова, І.В. Смирнова, Ф.І. Осташко, А.Д. Бугрова, Є.М. Платова та інших дослідників.

Перш за все, результати цих робіт змусили переглянути питання про стеносмотизм спермій. Виявилось, що спермії в багатьох випадках здатні витримувати досить значні відхилення від ізоосмолярності, причому в гіперосмолярних розчинах їхня життєздатність зберігається краще, ніж у гіпоосмолярних. Враховуючи цю обставину, деякі автори рекомендували гіперосмолярні розчини для розбавлення сперми перед зберіганням і заморожуванням.

Так В.О. Морозов (1940, 1957, 1959, 1963) використовував у своїх дослідах розріджувач з концентрацією глюкози і лимоннокислого натрію у півтора-два рази вище ізоосмолярного рівня. Автор довів, що при дії ізоосмолярних розчинів частина спермій може переходити у стан зворотної інактивації, яку назвали осмотичним анабіозом. Вивести спермії із стану анабіозу можна шляхом нормалізації осмотичного тиску, що досягається добавлянням до сперми ізоосмолярних розчинів, а також підвищенням температури. За В.О. Морозовим, перехід спермій до активного стану відбувається порівняно повільно — при температурі +38—40 °С протягом 10—15 хв.

У класичних роботах І.В. Смирнова встановлено неоднакову стійкість спермій за їхньою реакцією на вплив осмотичних зрушень. Такі відмінності спостерігаються не тільки в еякуляті різних плідників, а і в одного й того самого плідника. На думку автора, в кожному еякуляті частина спермій витримує значні відхилення від ізоосмолярності, тоді коли більш слабкі гинуть при порівняно невеликих зрушеннях осмотичного тиску.

І.В. Смирновим (1957, 1963, 1964) вперше у світі встановлено і вивчено явище специфічної деформації спермій у гіпоосмолярних розчинах. Автор цей негативний артефакт пояс-

нював тим, що спермій згинається в точці з'єднання тіла з хвостом, неначе складається навпіл. Не зважаючи на це, хвіст продовжує енергійно коливатись і спермій швидко рухається вперед з відігнутою назад головкою і тілом. І під час спостереження при невеликому збільшенні в полі зору мікроскопа створюється враження, що спермій рухається зігнутою частиною і хвостом вперед. Насправді хвіст залишається у звичайному положенні щодо напрямку руху.

Далі І.В. Смирнов констатує, що процес деформації сперміїв відбувається не миттєво, а протягом деякого часу — від декількох секунд до декількох хвилин. І перегину підлягають тільки рухливі спермії: чим енергійніше здійснюється коливання хвоста, тим швидше відбувається перегин спермія. Мертві спермії, а також ті, які перебувають у стані анабіозу, не деформуються. Можливо, це явище було покладено в основу рекомендацій багатьох авторів вводити розріджувач з гліцерином поступово і тільки в охолоджену сперму з температурою, близькою до 0 °С. За таких умов рухливість сперміїв призупиняється і їхня деформація не відбувається. А як відомо, гліцерин, який додають у середовище, знижує осмотичний тиск у розріджувачі і створює, таким чином, гіпоосмолярні умови.

Проте, оскільки дослідження деформованих сперміїв у звичайних препаратах (роздавлена крапля), проведені І.В.Смирновим, дають певний відсоток помилок, ми для визначення цього показника використали мазки сперми як непофарбовані, так і пофарбовані фіолетовим чорнилом і 5% -м водним розчином еозину. Фарбування чорнилом посилює різкість зображення сперміїв, а фарбування розчином еозину, крім того, дає змогу диференціювати живих і мертвих сперміїв. Приготовлені мазки використовували для порівняння підрахунку кількості сперміїв, ушкоджених шляхом деформації за допомогою світлового мікроскопа при збільшенні у 600 разів. Дослідження механізму деформації сперміїв здійснювалося шляхом електронної мікроскопії при збільшенні у 10000 — 78000 разів.

Підготовку препаратів для електронної мікроскопії прово-

дили за такою методикою. Кожний еякулят від бугаїв плідників ділили на дві частини. Одну з них розбавляли ізотонічним розчином цитрату натрію (2,9%) у співвідношенні 1:10, другу — в такому самому співвідношенні гіпоосмолярним розчином цитрату натрію (1,86 %) при температурі +38—40 °С. Одержані зразки сперми бугаїв відмивали триразовим центрифугуванням в кокадилатному буфері (рН 7,2 — 7,4), який містить 300 М сахарози. Фіксація здійснювалася в 2,5% -му глютаральдегіду на фосфатному буфері (рН 7,2—7,4) з 4%-м вмістом сахарози протягом 1 год. при кімнатній температурі і 2 год. у холодильнику при 2—4 °С. Кількість фіксатора за об'ємом бралась із розрахунку в 1 мл 104 — 105 клітин. У подальшому спермії відмивали триразовим центрифугуванням у тому самому буфері та дофіксовували 1%-м розчином Os_5O_4 , зневоднювали в ряді спиртів висхідної концентрації і поміщали в суміш епоксидних смол +S аралдит. Ультратонкі зрізи, одержані на ультрамікротомі ЛКБ, константрували 2 %-м спиртовим розчином уранілацетату і лимоннокислим свинцем, після чого проглядали під електронним мікроскопом ІЕМ -100 СХ. При цьому вивчали морфологічні зміни чотирьох структурних елементів спермія: головки, шийки, тіла і хвоста. На кожному зрізі товщиною 500 А досліджували по 30 фрагментів кожного із вказаних структурних елементів.

Використання світлової і електронної мікроскопії дало можливість розкрити механізм деформації сперміїв. Спочатку на каудальній частині тіла спермія під дією гіпоосмолярного розчину відбувається відшаровування клітинної мембрани, яка потім переходить на краніальну частину хвоста. Набрякла і відшарована мембрана підтягує хвіст спермія до нижньої (каудальної) частини тіла, до речі виникає не різкий злам (перелом), а невелика петля, що практично неможливо побачити в полі зору світлового мікроскопа. Утворюється своєрідний мішок, заповнений продуктами розпаду протоплазми.

Постає питання, чому деформація відбувається безпосередньо в цій частині спермія? На нашу думку, це відбувається тому, що при скороченнях хвоста, який зумовлює рух

сперміїв, каудальна частина спермія, залишаючись нерухомою, випробовує максимальну механічну напругу. Ця обставина пояснює, чому деформуються тільки рухливі спермії, а також чому найбільший відсоток деформованих сперміїв спостерігається при порівняно невеликих ступенях гіпоосмолярності (65% від ізоосмолярної концентрації цукрів і солей). Вплив на спермії більш значних відхилень від ізоосмолярності відразу не призводить до загибелі спермія, а отже, деформація просто не встигає відбутися.

При дії гіперосмолярних розчинів відбувається не набухання, а навпаки, часткове зневоднення сперміїв і, можливо, деяке ущільнення структури клітини. Відшарування мембрани в таких розчинах не відбувається.

Таким чином, поява в спермі деформованих сперміїв є безпомилковим свідченням того, що на певному етапі обробки сперми мав місце вплив на спермії гіпоосмолярного середовища.

Національний аграрний університет

УДК 636.082.453.53

М.П. ЖУРАВЕЛЬ

К ИСТОРИИ ПРОБЛЕМЫ ХРАНЕНИЯ СПЕРМЫ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ПОСРЕДСТВОМ АНГИДРОБИОЗА

Несмотря на то, что высказывания о необходимости разработки метода длительного хранения спермы посредством высушивания (ангидробиозом, ксеробиозом) встречаются в литературе очень часто, экспериментальные работы в этом направлении весьма немногочисленны.

Одна из первых работ по высушиванию спермы быка была проведена В.А. Морозовым в 1940 г. Методика, предложен-

© М.П. Журавель, 2001

ная автором, была очень проста: образцы спермы помещали под стеклянный колпак и высушивали при комнатной температуре. После потери спермой около 60% воды и последующего "обводнения" (гидратация) автор наблюдал в образцах небольшое количество подвижных спермиев.

В 1949 г. C. Polge, A.U. Smith and A.S. Parkes сообщили об удовлетворительных результатах при высушивании спермы петуха. Эти авторы, по сути дела, первыми применили метод лиофилизации — удаление воды из замороженных образцов спермы. Свежеполученную сперму петуха разбавляли раствором Рингера, содержащим 30% глицерина, и высушивали при температуре –25 °С. После удаления 85—90% воды и последующего восстановления её первоначального уровня сохраняли подвижность около 50% спермиев. Однако хранение спермы в высушенном состоянии при комнатной температуре в течение двух часов привело к полной гибели спермиев. О причинах такого явления авторы ничего не сообщают.

В 1950 г. A.U. Smith and C. Polge применили лиофилизацию спермы быка при температуре –25 °С. После высушивания на протяжении пяти часов к высушенной сперме добавляли воду и исследовали под микроскопом. Результаты опытов были неутешительными: в поле зрения микроскопа обнаруживали лишь незначительное число подвижных спермиев. Авторы не учитывали процент потери влаги и поэтому трудно судить, насколько глубоко была высушена сперма.

Об опытах по обезвоживанию спермы человека и быка путем лиофилизации сообщил J.K. Sherman (1954, 1957). Процесс проходил при температуре –65 °С, а продолжительность высушивания составляла 6, 12, 24, 36 и 48 часов. Сперму предварительно разбавляли желточно-глицериновым разбавителем, содержащим 7% глицерина. Во всех случаях были получены отрицательные результаты. Автор считает, что причиной гибели спермиев является несовершенство метода, высокая концентрация глицерина и солей в высушенных образцах спермы. Гибель спермиев могла также происходить и в процессе гидратации образцов спермы.

В 1954 г. появилось сообщение M.D. Leid, который высушивал сперму быка при температуре –70 °С. Сперму, разбавленную цитратно-желточным разбавителем, содержащим 10% глицерина, подвергали лиофилизации до такой степени, когда содержание воды во всей пробе составляло примерно 5% от исходного, а содержание глицерина повышалось не более чем на 50%. Автор наблюдал единичных подвижных спермиев лишь в том случае, когда высушиваемые образцы спермы увлажнялись тотчас же после завершения процесса лиофилизации. Живые спермии, по мнению автора, размещались в центральной зоне замороженного образца спермы, несколько менее обезвоженной, нежели периферические слои. Причиной получения столь низких результатов автор склонен считать повышение концентрации глицерина в высушиваемой сперме до токсического уровня. Попытка удаления глицерина из разбавленной спермы перед началом процесса лиофилизации не увенчалась успехом.

G. Bialy and V.R. Smith (1957) разбавляли сперму быков средой, содержащей цитрат натрия, желток куриных яиц и глицерин, конечная концентрация которого составляла 7,5%. Образцы разбавленной спермы сублимировали в ампулах, пробирках и на предметных стеклах при температуре от +20 до –70 °С до достижения разных степеней высушивания. Показатели подвижности и выживаемости спермиев определяли визуально и путем окрашивания эозин-нигрозином. Положительные результаты были получены только при низкой температуре лиофилизации и при условии немедленного обводнения спермы после окончания процесса сублимации. Во всех случаях определение жизнеспособности спермиев путем их окрашивания давало более высокие результаты, чем визуальное определение процента подвижности. При 40%-м содержании оставшейся воды в сперме подвижность спермиев составляла 11,5%, то есть была примерно такой же, как и перед началом обезвоживания. Затем по мере высушивания этот показатель снижался и при 75%-м обезвоживании он составил 4,1%, а при 95%-м лишь единичные спермии сохраняли движение. Авторы

рекомендуют проводить обезвоживание спермы в тонких слоях, чтобы обеспечить более равномерное высушивание всех участков образца спермы.

Наиболее совершенной методикой высушивания характеризуются исследования, проведенные Н.П. Ющенко (1957). Автору впервые удалось получить высокие результаты при лиофилизации спермы быка, барана и кролика. Это первый, зафиксированный в специальной литературе, случай, когда сохранение обезвоженной спермы проводилось при относительно высокой температуре (18—20 °С) и в течение довольно продолжительного периода.

Экспериментальная часть работы Н.П. Ющенко состояла в следующем: свежеполученную сперму разбавляли обычной синтетической средой для замораживания, содержащей от 7,5 до 20% глицерина. После 12—24-часового периода эквилибрации сперму разливали в пробирки, содержащие смесь фреона с гептаном. В результате центрифугирования со скоростью 6—7 тыс. оборотов в минуту в течение 15—30 мин. происходило отделение спермиев от межклеточной среды (плазмы), затем погружали их в смесь фреона с гептаном. Пипеткой удаляли надосадочную жидкость, а оставшихся в смеси фреона с гептаном спермиев замораживали при –20 — 78 °С и высушивали в сублимационно-вакуумной установке при остаточном давлении 10^{-3} — 10^{-4} мм ртутного столба. Продолжительность высушивания составляла от 2 до 18 ч. Всего было доведено 130 опытов. Наилучшие результаты были получены при высушивании спермы быка при температуре –2—3 °С с продолжительностью периода сублимации 2 ч. Высушенную сперму хранили в запаянных ампулах при комнатной температуре на протяжении 18—20 месяцев. Выяснилось, что замена водной среды спермы неводной (фреоно-гептановой смесью) значительно снизила гибель спермиев. В отдельных опытах автор наблюдал восстановление подвижности 15—20% спермиев.

Н.П. Ющенко высушивал по сходной методике сперму барана и кролика. Высушенная сперма хранилась в течение 6—8 месяцев в условиях комнатной температуры, а затем обводня-

лась дистиллированной водой, растворами лимоннокислого натрия и другими растворами, применяемыми обычно для разбавления спермы. Автор наблюдал в поле зрения микроскопа восстановление подвижности части спермиев барана и кролика. Подвижных спермиев можно было наблюдать даже спустя 30 ч. с момента гидратации спермы.

Оплодотворяющую способность спермиев, сохраненных 30—40 дней в высушенном состоянии, автор проверял на крольчихах. Один из вариантов опыта дал положительные результаты. Из 23 осемененных крольчих 12 окролилось. Из них одна принесла 8 крольчат, три — по 6, четыре — по 4—5, а остальные четыре крольчихи — по 2—3 крольчонка. Таким образом, Н.П. Ющенко первым получил жизнеспособное потомство от крольчих, осемененных высушенной спермой.

В 1958 г. J.L. Albright, R.E. Erb and M.H. Ehlers перед обезвоживанием применили в качестве разбавителя спермы цельное молоко с добавкой в него 10% глицерина. Разбавленную сперму разливали в ампулы и медленно охлаждали до температуры –50 °С, после чего помещали в прибор для лиофилизации на 45 мин. Лиофилизованные образцы спермы немедленно разбавляли 3%-м раствором фруктозы, температура которого была равной +38 °С. Авторы наблюдали примерно 5—10% спермиев, движущихся прямолинейно-поступательно. В работе не сообщается, почему был использован гипотонический (3%-й) раствор фруктозы.

Несомненный интерес представляют работы американских исследователей H.T. Meryman and E. Kafig (1959, 1963). В первоначальных опытах (1959) по лиофилизации спермы быка авторы получили положительный результат: от коровы, осемененной спермой, подвергавшейся высушиванию, родилась здоровая телочка. Важной чертой примененной авторами методики является отсутствие в разбавителях глицерина. Сперму разбавляли цельным коровьим молоком, цитратно-желточным разбавителем или же изотоническим раствором цитрата натрия (2,9%) и наносили на поверхность нейлоновой ткани по площади, равной 19,4 см² (2,54 × 7,62), с отверстиями

диаметром 1 мм и помещали в камеру для высушивания. За счет снижения степени вакуума в системе создавались определенные условия сублимации: при испарении влаги температура образца спермы понижалась до – 3 — – 40 °С. Продолжительность высушивания составляла 7 мин. Затем восемь высушенных и сразу же обводненных проб спермы смешивали и использовали для осеменения.

Те же авторы провели рекогносцировочный опыт по хранению высушенной спермы в условиях комнатной температуры. Пробы спермы хранили в сушильном шкафу над парами пятиокиси фосфора. После 24-часового хранения исследователи наблюдали подвижных спермиев.

В пробах, которые хранились в течение одной недели, также были обнаружены подвижные спермии. В 1963 г. H.T. Meryman and E. Kafig повторили свои опыты, но получили отрицательные результаты. Поэтому авторы считают, что первоначальный успех был случайным. Причины последующих неудач остались не выявленными.

J. Anderson and H.T. Meryman (1960) в процессе высушивания спермы быка путем лиофилизации использовали различные разбавители и разные условия сублимации, в том числе применяли методику, предложенную Н.П. Ющенко (1957). Для удаления глицерина использовали окислители (марганцовокислый калий, двухромовокислые калий и натрий, хромовую кислоту). Для обезвоживания замороженной спермы был использован и ацетон. Однако ни один из примененных вариантов не дал положительного результата.

R.G. Saacke and J.O. Almguist (1961) предприняли попытку лиофилизировать сперму быка с использованием методов, предложенных M.D. Leid (1954), Н.П. Ющенко (1957) и H.T. Meryman, E. Kafig (1959). Ни один из 250 экспериментов не дал положительных результатов. Авторы пришли к выводу, что наличие глицерина в разбавленной сперме приводит к образованию восковидного осадка, который обволакивает клетки, что затрудняет процесс высушивания, а при восстановлении спермы этот осадок растворяется с большим трудом. Уст-

ранение глицерина по способу, предложенному Н.П. Ющенко, не решило эту проблему. Электронно-микроскопическое исследование высушенных, а затем восстановленных спермиев показало, что в процессе обезвоживания нарушается целостность цитоплазматической мембраны и это, по мнению авторов, является одной из возможных причин гибели спермиев.

G.S. Singh and D.J. Roi (1967) использовали различные по составу разбавители, разную температуру лиофилизации, а также определенные значения вакуума. Наивысшая подвижность спермиев после лиофилизации составляла в среднем для спермы быка 26,2 + 2,0%, а для буйвола — 22,1 ± 2,3%.Такая подвижность была достигнута после полного высушивания образцов спермы. Однако это утверждение вряд ли соответствует действительности, поскольку степень обезвоживания спермы оценивалась авторами только визуально.

На сложность хранения спермы животных в высушенном состоянии указывают Е.М. Платов и А.Н. Успенский (1967). Они отмечают, что решение этой проблемы немыслимо без глубоких теоретических и экспериментальных исследований и что познание причин, вызывающих потерю подвижности спермиев, сыграет значительную роль в решении этой трудной задачи. Одной из таких причин авторы считают повреждение сократительного белка спермиев. Поэтому целью их исследования было изучение действия вакуумной сушки спермы барана на функцию контрактильных элементов спермиев.

Методика, предложенная авторами, сводилась к следующему: свежеполученный эякулят барана делили пополам и разбавляли одну часть глюкозо-желточно-цитратной средой, а другую — этой же средой с добавкой в нее глицерина из расчета, чтобы концентрация его в разбавленной сперме составляла 7%. Охлажденную и адаптированную сперму разливали по 0,5 мл в ампулы, которые затем присоединяли к вакуумной установке с величиной вакуума 10^{-3} мм ртутного столба. В вакууме сперма замерзала при температуре – 2 — 3 °С. Высушивание спермы проводилось в течение 20—70 мин.

Чтобы ускорить процесс высушивания, в качестве погло-

тителя влаги использовали пятиокись фосфора. Высушенную сперму немедленно обводняли дистиллированной водой до первоначальной массы и готовили препараты для изучения подвижности и состояния сократительных элементов спермиев по методике, предложенной Х. Гофманом-Берлингом (1957). Было установлено, что уменьшение первоначальной массы высушенной спермы без глицерина на 60—65% не влияет на количество спермиев с вибрирующим жгутиком. Даже при потере 87—88% первоначальной массы количество спермиев с неповрежденными сократительными элементами составляет 10—45%, хотя подвижные спермии полностью отсутствуют. При высушивании спермы в среде, содержащей глицерин, количество спермиев с неповрежденными сократительными элементами примерно такое же, как и в первом варианте, но в этом случае наблюдали спермиев, сохранивших подвижность. В среде с глицерином при потере 35% влаги сохраняло подвижность до 10—15% спермиев, а при обезвоживании до 57% наблюдались единичные поступательно движущиеся спермии. Отмечено также, что для повреждения контрактильных белков спермиев барана требуется большая степень обезвоживания, чем та, при которой происходит полное прекращение подвижности. Отсюда авторы делают вывод, что подвижность спермиев не связана с нарушением функций контрактильных белков.

К числу наиболее удачных экспериментов по высушиванию спермы быка относятся исследования E.V. Larson, E.F. Graham and B.G. Grabo (1974). Эти авторы сообщили о рождении одного теленка. А в 1976 г. на VIII Интернациональном конгрессе по воспроизводству и искусственному осеменению животных E.V. Larson and E.F. Graham доложили о получении нескольких телят после осеменения коров высушенной спермой. Авторы лиофилизировали сперму быка в среде без глицерина. Свежеполученную сперму разбавляли специальным разбавителем, состоящим из 50% трисбуферной смеси, 30% - раствора цитрата натрия и 20% желтка. В состав трисбуферной смеси входит N -трис-метил-2-аминоэтансуль-

фоновая кислота (325 мосм), титрованная до pH 7,2 трисом аминометаном (325 мосм).

Разбавленную и охлажденную до 5 °С сперму выдерживали пять часов, а затем замораживали на блоках сухого льда (–78 °С) в форме гранул объемом 0,025 мл. Гранулы общей массой 400 г помещали в камеру и подвергали сублимации при температуре –50°С с величиной вакуума ниже 30 мторр и температурой конденсатора –196 °С. После трехсуточного высушивания образцы спермы содержали 50% влаги (потерю влаги определяли путем взвешивания), а спустя шесть суток — всего лишь 7%. Одну часть высушенных образцов спермы помещали в жидкий азот на хранение, а вторую хранили в условиях комнатной температуры (25 °С) в течение 28 суток. Высушенные образцы спермы восстанавливали раствором цитрата натрия на водяной бане при температуре 37 °С, а затем проводили осеменение коров дозой спермы 2 мл, содержащей 160 млн. спермиев. Изучение различных степеней высушивания спермы позволило авторам сделать выводы, что подвижность спермиев практически не изменялась до уровня, наблюдаемого при обезвоживании спермы, содержащей всего лишь 30% влаги. При содержании в сперме около 3% влаги были обнаружены только единичные подвижные спермии. Электронно-микроскопические исследования акросом показали, что их повреждения наблюдались при 7%-й влажности, а содержание аспартатаминотрансферазы практически не изменилось при влажности 0,5%.

По мнению авторов, способность к оплодотворению спермиев, подвергшихся значительному обезвоживанию, представляет собой реальное и повторимое явление. Одна из трех осемененных коров принесла нормальное потомство даже при осеменении почти полностью высушенной спермой, хранившейся в течение одного месяца при температуре – 25 °С.

Таким образом, разработка длительного хранения спермы в высушенном состоянии находится пока в начальной стадии. Число работ, посвященных непосредственно этой проблеме, крайне невелико: сообщения об успешном высушивании сперм-

мы исчисляются буквально единицами. Почти все работы имели чисто эмпирический характер. Теоретические исследования по этому вопросу фактически отсутствуют. Ни в одной работе не указываются конкретные причины гибели спермиев при высушивании: высказываются лишь предположения о возможности действия тех или иных факторов. Кроме того, показателем слабой разработанности данного метода является то обстоятельство, что почти все авторы, сообщившие о положительных результатах, в дальнейшем не смогли повторить свои же собственные эксперименты.

Национальный аграрный университет

УДК 636.082.453.53

В.П. БУРКАТ, Л.О. БЕГМА, А.А. БЕГМА, П.А. КРУГЛЯК

СПОСІБ РАЦІОНАЛЬНОГО ВИКОРИСТАННЯ СПЕРМИ БУГАЇВ-ЛІДЕРІВ

Існуючий рівень технології кріоконсервації сперми бугаїв на племпідприємствах України дає змогу одержувати від кожного плідника в середньому 19 тис. спермодоз на рік. Для ефективного використання бугаїв-лідерів загальнопородного значення вихід спермодоз повинен становити не менше 50—100 тис. на рік. Значним резервом збільшення виходу їхньої спермопродукції може бути використання спермодоз із зниженим числом рухливих сперміїв (5—8 млн.). Однак питання практичного використання таких спермодоз носить дискусійний характер. За деякими літературними даними (R. Jondet, 1980; С.А. Сидашева, 1991; Ф.И.Осташко, 1995),

© В.П. Буркат, Л.О. Бегма, А.А. Бегма, П.А. Кругляк, 2001

при використанні сучасних технологій зменшення спермиїв бугаїв до 5 млн. на одне осіменіння не призводить до зниження запліднености. Водночас практика штучного осіменіння спермодозами з концентрацією 10 млн. рухливих спермиїв (1981 — 1983) показала значне зниження рівня запліднености корів такою спермою.

Наші дослідження підтвердили, що заморожування за загальноприйнятими технологіями спермодоз з концентрацією 5—8 млн. активних спермиїв, наприклад у формі необлицьованих гранул, супроводжується значним зниженням їхньої якості: удвічі-втричі зменшуються показники виживаності відталих спермиїв, хоча в деяких випадках їхня рухливість залишалася на рівні контролю (15 млн.). І при осіменінні телиць спермою з різною концентрацією рухливих спермиїв у спермодозі (15—10—8,5—5,3—3,6 млн.) встановлено також послідовне зниження запліднювальної здатности цих спермодоз: 87,5%—72,0—66,6—45,0—33,3% відповідно.

Враховуючи те, що основною технологією кріоконсервації сперми бугаїв в Україні залишається заморожування в необлицьованих гранулах, ми пропонуємо удосконалення деяких її технологічних елементів, які дають можливість зберігати високу запліднювальну здатність спермодоз із низькою концентрацією (5—8 млн.) рухливих спермиїв.

В основу способу покладено використання дворазового розрідження сперми за спеціальною схемою: спочатку додатковим середовищем — для створення сталих умов сперміям, потім СГГЖЕ-середовищем, як основним кріоконсервантом.

СГГЖЕ-середовище створено на основі препарату, одержаного нами з ехінацеї пурпурової *(Echinacea purpurea Moench)*. Препарат ехінацеї пурпурової містить набір антиоксидантів, полісахаридний комплекс, завдяки яким підвищується життєздатність спермиїв, стабілізується рецепторний апарат їхньої акросоми, що сприяє реакції ооцит-спермій при заплідненні. Тобто СГГЖЕ-середовище може компенсувати втрачені при значному розрідженні властивості нативної сперми, необхідні для запліднення.

Виробничу перевірку способу заморожування спермодоз із зниженим числом спермій проводили на Київському і Полтавському облплемпідприємствах. Для перевірки було відібрано на Київському племпідприємстві 32 мл нативної сперми від п'ятьох бугаїв та на Полтавському — 40 мл від семи бугаїв. Кожний еякулят ділили на дві рівні частини. Першу частину, (контроль) заморожували згідно з прийнятою технологією (15 млн. активних спермій у спермодозі), другу — з використанням розроблених нами нових кріоконсервантів і способу розбавлення для одержання 7,5 млн. активних спермій у спермодозі. Всього було заморожено на Київському племпідприємстві контрольним способом 557, дослідним — 1139 спермодоз, на Полтавському — відповідно 505 і 1065 (від однакової кількості нативної сперми). Запліднювальну здатність контрольних і дослідних спермодоз перевіряли на коровах і телицях у господарствах Київської та Полтавської областей.

Виробнича перевірка показала, що застосування нових технологічних елементів кріоконсервації дає змогу заморожувати спермодози з низькою концентрацією (5—8 млн.) рухливих спермій без зниження їхньої якості, а за показниками виживаності вона перевищувала контроль майже на 30%. Запліднювальна здатність такої сперми становила 62,3% проти 59,8% на контролі.

Таким чином, запропонований спосіб заморожування спермодоз із зниженим числом спермій дає можливість збільшити вихід замороженої спермопродукції більш ніж удвічі при збереженні її високої запліднювальної здатності, що є особливо важливим для раціонального використання високоцінних у генетичному відношенні племінних бугаїв-поліпшувачів.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 591.15.16.

В.В. СИВОПЛЯС*

ПУТИ СНИЖЕНИЯ ЭКОНОМИЧЕСКИХ ЗАТРАТ ПРИ ДЛИТЕЛЬНОМ ХРАНЕНИИ СПЕРМЫ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ В ЗАМОРОЖЕННОМ СОСТОЯНИИ

Со времени открытия способности биологических материалов сохранять свои свойства после замораживания-оттаивания (И.В. Смирнов, 1947—1949) в научных кругах не прекращаются споры по поводу того, какая температура хранения биоматериалов является оптимальной. Под термином "оптимальная" следует понимать такую температуру, которая позволяет сохранять биоматериалы без снижения их качества в течение длительного времени. В настоящее время технология глубокого замораживания и длительного хранения спермы производителей базируется на использовании в качестве источника глубокого холода жидкого азота. Разработано и внедрено в широкое производство множество различных методов замораживания и хранения спермопродукции в жидком азоте.

Одной из наиболее перспективных и отвечающих всем биологическим, ветеринарным и технологическим требованиям является харьковская технология асептического взятия, разбавления и длительного хранения спермы быков-производителей (Ф.И. Осташко, М.П. Павленко, 1980—1986). Особой отличительной чертой этой технологии есть возможность исключения микробного загрязнения спермы во время получения, разбавления, глубокого замораживания и длительного хранения ее в условиях племпредприятий и сельскохозяйственных предприятий (Ф.И. Осташко, М.П. Павленко, 1980—1986).

В последнее время уделяется большое внимание изыска-

*Научный руководитель — доктор биологических наук Ф.И. Осташко.

© В.В. Сивопляс, 2001

нию путей снижения экономических затрат, связанных в первую очередь с тем обстоятельством, что в качестве источника холода при использовании этой технологии применяется жидкий азот. Как известно, экономические затраты при использовании жидкого азота складываются из затрат на производство жидкого азота, транспортных расходов при его транспортировке на племпредприятия и в хозяйства и расходов на производство сосудов Дьюара. Значительное снижение затрат возможно при условии получения сверхнизких криогенных температур, достаточных для сохранения биоматериалов непосредственно в хозяйствах. Этого можно добиться, разработав новую безазотную технологию длительного хранения биоматериалов в замороженном состоянии, используя холодильные агрегаты, работающие от сети переменного тока.

В нашей стране первые попытки создать холодильную машину, в рабочей камере которой можно получить температуру, достаточную для замораживания и хранения биоматериалов, были предприняты еще в начале 60-х годов. В то время был сконструирован низкотемпературный генератор холода с программным управлением (НГП-1), имеющий камеру для замораживания емкостью 2,5 л и для хранения биопродуктов емкостью 50 л (Ф.И. Осташко, 1968).

Генератор длительное время успешно эксплуатировался в лабораторных условиях. В нем использовался принцип каскадного сочленения двух герметичных фреоновых машин, работающих на фреоне 22 и фреоне 13. Использование каскадного принципа не давало возможности сделать машину небольшой и простой в обслуживании и эксплуатации, к тому же генератор потреблял большое количество электроэнергии.

В 1996 г. ОАО "Холод" и МНПА "Эмбрион" разработали исходные данные к новому классу криобиологических агрегатов. Основные требования к приборам этого класса такие: прибор должен быть сконструирован на базе стандартного сосуда Дьюара; рабочая камера должна иметь замок и устройство для пломбирования; агрегат обеспечивается показателем температуры; внешний вид агрегата должен отвечать требова-

ниям современного дизайна; холодильник должен иметь аккумулятор холода на случай отключения электроэнергии, при этом температура –160 — –130 °С в агрегате должна поддерживаться не меньше трех-четырех суток, температура –79 °С — не меньше пяти суток; электросеть — одна фаза, 220 В, 50 Гц; режим работы агрегата автоматический; устройство должно быть экологически безвредным.

С учетом этих требований ОАО "Холод" (Киев, Н.Ф. Ивченко) в 1996—1998 гг. были сконструированы низкотемпературные холодильники: КНХ-150—20 с рабочей камерой емкостью 20 л, который предназначен для замораживания и длительного хранения генетических материалов, и КНХ-150—5 для пунктов искусственного осеменения емкостью 5 л (табл.1, 2).

Оборудование предназначено для эксплуатации в закрытых отапливаемых помещениях при температуре окружающего воздуха от 0° до 35 °С.

Агрегаты снабжены удобной системой управления и контроля, позволяющей задавать в рабочей камере холодильников необходимую температуру до –150 °С. Разработчикам удалось за счет использования одноступенчатой компрессионной машины и многокомпонентной рабочей смеси создать холодильник небольших размеров, отвечающий требованиям современного дизайна и достаточно экономичный и простой в эксплуатации. Данный агрегат, работая в режиме хранения биоматериала, потребляет 0,5—2,5 кВт электроэнергии в сутки в зависимости от задаваемой температуры (–100 — –130 °С).

Эксплуатационные расходы при использовании холодильного агрегата составляют 0,07—0,30 грн. в сутки (50—180 грн. в год), тогда как использование жидкого азота обходится в два—пять раз дороже, и этот показатель будет со временем увеличиваться, так как с открытием новых источников получения электроэнергии стоимость ее будет снижаться. В то же время стоимость автотранспорта, рабочей силы, дорог и горюче-смазочных материалов, необходимых для доставки жидкого азота на пункты искусственного осеменения, будет неуклонно расти.

1. Технические данные КНХ-150—20

Параметры	Величина параметра
Внутренний объем холодильника, дм³	18
Диапазон регулирования температуры при температуре окружающего воздуха не выше 25°С, °С	От –150 до –130
Допустимая погрешность поддержания температуры, °С	±2
Питание холодильника от однофазной сети переменного тока:	
напряжение, В	(220±22)
номинальная частота, Гц	(50±1)
Габаритные размеры, мм (ширина × глубина × высота)	109 × 801 × 060
Масса, кг, не более	150
Потребляемая мощность, кВт, не более	0,55

2. Технические данные КНХ-150—5

Параметры	Величина параметра
Внутренний объем холодильника, дм³	5
Диапазон регулирования температуры при температуре окружающего воздуха не выше 25°С, °С	От –150 до –130
Допустимая погрешность поддержания температуры, °С	±2
Питание холодильника от однофазной сети переменного тока:	
напряжение, В	(220±22)
номинальная частота, Гц	(50±1)
Габаритные размеры, мм (ширина × глубина × высота)	630 × 300 × 650
Масса, кг, не более	50
Потребляемая мощность, кВт, не более	0,4

Корпус и рабочая камера агрегата выполнены из материалов, позволяющих поддерживать агрегат в чистоте и проводить его дезинфекцию слабыми растворами обычных дезинфицирующих средств.

Холодильники потребляют тем меньше энергии, чем менее низкая температура задана в их рабочих камерах, поэтому можно значительно снизить затраты, если повысить температуру хранения до – 80 — – 90 °С.

Многие авторы [1, 3] сообщают, что повышение температуры замороженной в жидком азоте спермы уже до –120 °С вызывает рекристаллизацию твердой фазы льда, что может повреждать спермии. Изучая этот вопрос, мы не установили изменения активности, выживаемости, коэффициента абсолютной выживаемости и оплодотворяющей способности спермы быков в результате повышения ее температуры в процессе хранения до – 130— – 180 °С (табл. 3).

Объяснить этот факт мы можем следующим образом: в жидкой фазе подготовленная для замораживания сперма представляет собой суспензию спермиев, взвешенных в желточно-лактозо-глицериновой водной среде, в которой объем спермиев составляет не более 1%. Режим замораживания подобран так, что в процессе охлаждения суспензии до –196 °С вся способная кристаллизоваться вода успевает выйти из протоплаз-

3. Выживаемость спермиев после размораживания, сохраняемых при разных минусовых температурах

Группы быков, n	Режим хранения спермы	Количество эякулятов	Активность и выживаемость спермиев при 38°С по часам								Sa
			0	1	2	3	4	5	6	7	
Эксперимент, n=9	–130— –180 °С	27	4	3,4	2,9	2,4	2,1	1,5	0,8	0,3	14
Контроль, n=9	–196 °С	27	4	3,3	2,9	2,3	2,0	1,5	0,8	0,2	14

мы спермиев и кристаллизуется в межклеточном пространстве. Структура межклеточного льда при этом мелкокристаллическая и имеет скрытую теплоту, которая при повышении температуры может инициировать процесс рекристаллизации.

Однако, как сообщают [2, 4, 5], этот процесс возникает в диапазоне температур –30— –50 °С, тогда как в нашем случае температура не подымалась выше –80 °С. Кроме того, процесс разыгрывается в межклеточном пространстве, а не в протоплазме спермиев, которые остаются интактными. Оплодотворяемость после 1-го осеменения 107 коров спермой, которая сохранялась два—четыре месяца при температуре –130 °С, достоверно не отличалась от контроля и составляла 62,4% (опыт проводился в КСП "Родина" Лозовского района Харьковской области).

Эти результаты дают основания выразить мнение о возможности использования безазотной технологии длительного хранения спермы быков.

1. *Курбатов А. и др.* Криоконсервация спермы сельскохозяйственных животных.— Л.: Агропромиздат, 1988.

2. *Осташко Ф.И.* Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. — К.: Урожай, 1978.

3. *Пушкарь Н., Белоус А. и др.* Низкотемпературная кристаллизация в биологических системах. — К.: Наук. думка, 1977.

4. *Смирнов И.В.* Сохранение семени быков-производителей при температуре –79 °С // Научные труды ИЖ. — К., 1954. — Вып. XXV.

5. *J. Omar Bustamante and Danuta Jachimowicz.* Cryopreservation of Heart Cells, Cryobiology 25, 394—408, 1988.

Харьковский биотехнологический центр

УДК 636.2.053.082.4/52

А.П. КРУГЛЯК

ЯКІСТЬ ЗАМОРОЖЕНОЇ СПЕРМИ, ЩО ЗБЕРІГАЛАСЯ ПОНАД 40 РОКІВ

Науковими дослідженнями І.В. Смирнова, (1973), Ф.І. Осташко (1978), В. Петер (1978) установлено, що 5—6-річне витримування сперми бугаїв у рідкому азоті забезпечує стабільність показників якості і запліднювальної здатності сперматозоїдів. За даними Мікснера, рівень заплідненості корів від осіменіння їх глибокозамороженою спермою утримувався на однаковому рівні протягом одинадцяти років.

Визначення допустимих строків збереження сперми має актуальне значення в плані тривалого збереження генофонду порід. У зв'язку з цим ми вивчали вплив тривалості збереження сперми 183 бугаїв у рідкому азоті на показники якості сперматозоїдів. За основний показник якості сперми взяли лінійну швидкість руху сперматозоїдів при температурі +38 °С, як показника енергетичних запасів, що збереглися у клітинах у процесі тривалого зберігання їх у рідкому азоті.

Доведено, що за умов постійного знаходження сперми в

Показники якості розмороженої сперми різних термінів зберігання при +38 °С

Тривалість зберігання, років	Число бугаїв	Після розморожування		Через 5 років інкубації	
		рухливість, бали	лінійна швидкість руху, мкм/с	рухливість, бали	лінійна швидкість руху, мкм/с
1	70	3,4±0,1	111,0±2,3	0,7±0,1	38,7±4,7
10	66	3,4±0,2	109,9±2,1	0,7±0,1	62,1±5,1
20	39	3,5±0,1	107,7±2,7	0,8±0,1	75,8±7,0
40	8	3,2±0,3	102,5±4,6	0,6±0,3	54,1±4,2

© А.П. Кругляк, 2001

рідкому азоті показники рухливості, виживаності і лінійної швидкості руху сперматозоїдів, які зберігалися відповідно 1, 10, 20 та 40 років, практично не відрізнялися (таблиця).

Лінійна швидкість руху сперматозоїдів після розморожування становила відповідно 111—102 мкм/с, що свідчить про високий рівень збереження енергетичних речовин у процесі 40-річного збереження сперми в рідкому азоті.

Таким чином, при дотриманні постійного температурного режиму (–196 °С) сперматозоїди бугаїв не втрачають своїх біологічних показників протягом 40 років.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.453

А.П. КРУГЛЯК, Т.І. ЗЕЛЕНСЬКА

СПОСІБ ЕФЕКТИВНОГО ВИКОРИСТАННЯ БУГАЇВ

Прискорене виведення і консолідація порід за спадковими ознаками забезпечуються через незначне число бугаїв-поліпшувачів, визначених лідерами породи, родоначальниками ліній, їхніми продовжувачами. Співвідношення таких бугаїв і загального поголів'я, поставленого на оцінку, становить 1 : 20; 1 : 30. Саме тому розробка способу ефективного використання їх є актуальною.

Ефективність використання живих бугаїв забезпечується в основному шляхом збільшення виходу спермодоз з одного еякуляту. Це здійснюється підвищенням кратності розбавлення нативної сперми при зменшенні числа живих сперміїв у дозі. Проте у більшості випадків на дату одержання оцінки племінної цінності бугая уже немає в живих. Якщо ж він виявився поліпшувачем, а тим більше родоначальником лінії чи лідером породи, то сперму необхідно використовувати ефективно.

З цією метою ми провели дослідження, у яких вивчали біологічні показники якості розмороженої сперми при

© А.П. Кругляк, Т.І. Зеленська, 2001

збільшенні ступеня її розбавлення 2,8%-м розчином цитрату натрію від 1 : 5 (на контролі) до 1 : 10 — 1 : 80 разів (у дослідах).

Методика досліджень. Визначали показники рухливості, виживаності при +38 °С та запліднювальну здатність клітин. Сперму одних і тих самих серій бугаїв розморожували без розчину цитрату натрію, у 1, 2, 4, 8 і 16 мл 2,8%-го розчину цитрату натрію при +40 °С. Корів осіменяли ректо-цервікальним способом у першу охоту після отелення у КСП "Бориспільське" Київської області.

Рухливість визначали безпосередньо після розморожування та через кожну годину інкубування сперми при +38 °С.

Спермодози, розморожені без розчину цитрату натрію та в 1 мл його, використовували для осіменіння однієї корови, у 2 мл — для двох, у 4 — для чотирьох голів, чим зменшували число сперміїв у дозі від 15 до 3,75 млн.

Осіменіння проводили однократно в одну охоту шляхом введення сперми у різні ділянки статевого апарату (тіло матки,

1. Виживаність сперміїв при різних ступенях розбавлення 2,8%-м розчином цитрату натрію *(in vitro)*, бали

Спосіб розморожування	Виживаність, год.								
	0	2	3	4	5	6	7	8	9
Без розчину цитрату натрію (15 млн.)	4	4	3,5	2,5	2	1	0,5	ОП	ОП
У 1 мл розчину цитрату натрію (15 млн.)	4	4	3,5	2	1,5	1	0,5	ОП	—
У 2 мл розчину цитрату натрію (7,5 млн.)	4	3,5	3	1,5	1	0,5	ОП	—	—
У 4 мл розчину цитрату натрію (3,7 млн.)	4	3,5	2,5	1,5	0,5	ОП	—	—	—
У 8 мл розчину цитрату натрію	4	3	1	0,5	ОП	—	—	—	—
У 16 мл 2,8%-го розчину цитрату натрію	4	2	0,5	ОП	—	—	—	—	—

середина та верхівка рогу матки) тільки за наявності зрілого фолікула. Результати заплідненості корів визначали через 90 днів після осіменіння ректально.

Результати досліджень. Установлено, що найбільша виживаність була у сперміїв при розморожуванні без цитрату натрію та в 1 мл його, з кожним наступним збільшенням об'єму розчину цитрату натрію виживаність та рухливість сперміїв знижувалися (табл. 1).

Одноразове введення сперми з концентрацією сперміїв 15 млн., розмороженої в цитраті натрію та без нього, у тіло матки забезпечило різні показники заплідненості — відповідно 58% і 72,1%. При введенні 7,5 млн. сперміїв з ППР у середину та верхівку рогу матки з боку зрілого фолікула показники заплідненості істотно не відрізнялися і становили відповідно 68% і 64%.

Уведення сперми з низькою концентрацією сперміїв (3,7 млн.) і рухливістю 0,5 бала через п'ять годин після розморожування у верхівку рогу матки забезпечувало високий рівень заплідненості корів — 76% (табл. 2).

Висновки. 1. Істотне зниження виживаності сперміїв при інкубуванні *(in vitro)* починається при розбавленні гранули у співвідношенні 1 : 40 і 1 : 80.

2. За умов контролю за станом фолікула та кваліфіковано-

2. Вплив місця введення і концентрації сперміїв на запліднюність корів

Місце введення сперми	Число сперміїв у дозі, млн.	Осіменено корів	Із них запліднилося	
			гол.	%
Тіло матки (без розчину цитрату натрію)	15	43	31	72,1
Тіло матки	15	50	29	58,0
Середина рогу	7,5	50	34	68,0
Верхівка рогу	7,5	25	16	64,0
	3,7	25	19	76,0

го введення сперми у більш глибокі ділянки статевого тракту запліднюваність корів після осіменіння їх зменшеним числом сперміїв у дозі до 3,75 млн. (1 : 20) залишалася високою. Це свідчить про те, що зниження якості розбавленої при високих ступенях сперми та інкубації *in vitro* через дві години не характеризує аналога, яким осіменили, оскільки спермії відразу ж звільняються від дії розчину цитрату натрію.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.453.5:681.3

Я.Ю. СУРЖАНСЬКА, О.В. МЕДВЕДОВСЬКИЙ, Л.В. ГОРБУНОВ

КОМП'ЮТЕРНИЙ МЕТОД ОЦІНКИ РУХЛИВОСТІ СПЕРМІЇВ

Одним із важливих етапів розробки шляхів успішної кріоконсервації сперми сільськогосподарських тварин є визначення її якості в нативному та заморожено-відталому стані. Незважаючи на те, що у багатьох авторів використовуються тільки комплексні тести (Л.Г. Мороз, 1988; J.H. Brett, N.M. Cox, J.S. Stevenson, 1981; R.G.Saacke, 1983), у даний час також широко застосовуються методи оцінки якості еякуляту лише на підставі визначення рівня рухливості сперміїв (Ф.І. Осташко, В.І. Іващенко, 1988; В. Кононов, І. Голішев, 1998).

Для реалізації умов, яким повинні задовольняти ці методи, зокрема об'єктивності і технологічності, все більша кількість розробок припускає проведення вимірів та опрацювань отриманих даних за допомогою ЕОМ (Ф.І. Осташко, 1995; М.В. Зубець, В.П. Буркат, А.А. Бегма, Л.О. Бегма, 2000). До даної групи методів можна віднести і запропонований нами спосіб оцінки якості еякуляту. Прототипом такого способу є фотограметрична характеристика сперми (Ф.І. Осташко, В.І. Іва-

© Я.Ю. Суржанська, О.В. Медведовський, Л.В. Горбунов, 2001

щенко, 1988), суть якої в підрахунку кількості активних сперміїв в одиниці об'єму за формулою, що облічує число траспрямування живих клітин на негативах або фотографіях сперми, заправленої в лічильну камеру Горяєва. Його аналогом деякою мірою можна вважати комп'ютерний метод всебічної оцінки якості еякуляту (Ф.І. Осташко, 1995), коли формування треків руху сперміїв проводиться за допомогою оригінального програмного забезпечення, що дає змогу оцінювати їхні кінетичні характеристики та утворювати базу даних досліджуваних зразків. Проте ці обидва методи мають свої недоліки, усунення яких і було метою даної роботи. Для вирішення поставленого завдання ми виключили необхідність використання фотоплівок (фотопластин) і затрати часу на їхнє опрацювання, а також необхідність наявності вузькоспеціалізованого програмного і технічного забезпечення етапу оцінки сперми. Особливий інтерес та новизну представляє спосіб одержання треків рухливих сперміїв. Ідея полягає в проведенні комп'ютерного накладання одне на одного відеозображень, знятих відеокамерою через заданий інтервал часу та оброблених за допомогою пакета програм "Adobe Photoshop". Аналіз відеознімків проводиться шляхом підрахунку на об'єднаному шарі живих сперміїв, які мають вид розмитих треків, і мертвих клітин, що мають на знімку форму сперміїв. При цьому також враховується характер прямування живих особин — прямолінійне або манежне (Ф.І. Осташко, В.І. Іващенко, 1988). Активність сперміїв оцінюється в балах за стандартними критеріями ("Инструкция по искусственному осеменению коров и телок", 1982). У результаті значно менших затрат часу на роботу з живою спермою при її оцінюванні (~10 с), застосування даного методу дає змогу підвищити достовірність таких кількісних характеристик, як загальне число сперміїв у полі зору мікроскопа, відсоткове співвідношення рухливих, нерухливих і коливних сперміїв. Завдяки цьому можна класифікувати клітини за видом їхнього прямування, задавати необхідний час дискретизації знімання інформації, створювати банк даних досліджу-

ваних еякулятів із подальшою статистичною обробкою зображень.

Отримані нами результати свідчать про можливість застосування даного способу для оцінки якості сперми за ступенем рухливості спермиїв. Проте відзначимо, що безпосереднє складання відеознімків призводить до втрати якості інформації через зменшення контрастності зображення. Ми вважаємо, що надалі спрощення одержання інформації про якість еякуляту шляхом об'єднання фотограмметричного та комп'ютерного методів можна буде здійснювати формуванням зображень на комп'ютері з використанням цифрової фотокамери.

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.2.082.453.51/.54

Г.С. ШАРАПА

РАЦІОНАЛЬНЕ ВИКОРИСТАННЯ БУГАЇВ І СПЕРМИ

Ефективність селекції у скотарстві насамперед залежить від використання бугаїв-поліпшувачів, якому великого значення надавав І.В. Смирнов. Від них потрібно не тільки одержати якнайбільше якісної сперми, а й раціонально її використати. Метод штучного осіменіння тварин відкрив широкі можливості в цьому напрямі, але за умов, коли дотримувались усіх біолого-технологічних аспектів цього методу. Адже результативність використання бугаїв тісно пов'язана із заплідненістю корів та телиць, яка в кінцевому рахунку залежить від якості сперми, клініко-гінекологічного стану самок і технології їхнього штучного осіменіння.

Передусім слід старанно дотримуватися наукових рекомендацій щодо вирощування і відбору бугайців для племпід-

© Г.С. Шарапа, 2001

приємств, де також необхідно ретельно виконувати технологічні прийоми при годівлі, утриманні та використанні плідників. Аналіз матеріалів досліджень показує, що у виробничих умовах далеко не вичерпано генетико-фізіологічних можливостей і способів використання бугаїв для більш швидкого поліпшення продуктивних якостей корів. Тривалість використання плідників на племпідприємствах, як правило, не перевищує чотирьох-п'яти років. Їх вибраковують найчастіше з причин низької якості сперми і захворювань кінцівок. Порушення сперматогенезу і виникнення захворювань сім'яників та їхніх придатків нерідко пов'язані з годівлею тварин неякісними кормами.

Статева активність бугаїв і показники сперми тісно пов'язані із спадковими ознаками відтворної здатності тварин, умовами їхнього утримання та режимом використання.

Проаналізувавши результати досліджень В.Г. Семакова (1982), Г.Д. Святовця (1985), Є.О. Зайцева (1987), А.С. Яцуна і М.Р. Дородько (1988), Д.І. Савчука і М.М. Майбороди (1988) та інших дослідників щодо строків початку використання бугайців і прогнозування спермопродуктивності плідників та оцінки їхньої відтворної здатності, ми провели аналогічні досліди на тваринах нових чорно-рябої та червоно-рябої українських молочних порід.

У результаті досліджень встановлено, що спермопродуктивність молодих бугайців (64 гол.) тісно пов'язана з умовами їхнього використання і забезпечується на оптимальному рівні тривалий час, якщо плідників починали використовувати при досягненні ними віку 13—15 міс. Більш ранній (10—12 міс.) і більш пізній (16—18 міс.) початок використання бугайців не сприяв високій спермопродуктивності та ранній оцінці плідників. У процесі досліджень порівнювали два режими статевого використання бугайців: помірний (взяття одного еякуляту на тиждень протягом 3—6 міс.) та інтенсивний (взяття дуплетного еякуляту один раз на тиждень) до 18-місячного віку. Потім сперму одержували в основному двічі на тиждень дуплетним еякулятом. Виявилося, що при більш інтенсивному режимі мали кращі показники рухливості та концентрації спермій бу-

гайців. Індекс сперми був у середньому 2,18 млрд. (проти 1,38 млрд.). Різниця становила 0,80 млрд. сперміїв і була статистично достовірною. Абсолютний цей показник виявився вищим у бугаїв при досягненні ними віку 18 і 24 міс. Протягом перших 3 міс. за інтенсивного режиму використання на одного бугайця було заморожено по 1141 гранулі, а за помірного — лише по 299 гранул. Різниця на користь інтенсивного режиму становила 842 гранули. До 24-місячного віку на одного бугая було заморожено по 7287 гранул з великими індивідуальними особливостями (від 3495 до 13235 спермодоз).

У процесі досліджень виявлено, що найбільш характерним для кожного бугая та консервативним є показник концентрації сперміїв і стійкість їх до заморожування.

В окремому досліді встановили (Г.С. Шарапа і О.Г. Панічев), що стійкість сперміїв бугаїв до заморожування пов'язана з кількістю фосфоліпідів у сперміях. Значно більша кількість еякулятів сперми (до 97—100%) була заморожена, коли фосфоліпідів було 44,9—58,4 мкг Р/млрд. сперміїв. При заморожуванні сперми достовірно зменшується кількість фосфоліпідів у всіх фракціях — від 11,9 до 18,2%, а особливо у фракції лецитину.

Науковими дослідами і практикою роботи держплемстанцій доведено, що найбільш раціональним режимом використання бугаїв при заморожуванні сперми є одержання дуплетних еякулятів через три доби на четверту.

У спеціальних дослідах було встановлено: для підвищення якості сперми важливу роль відіграють корми з великим вмістом незамінних амінокислот і жиру. Введення в раціон бугаїв по 100—110 г соєвого борошна на 100 кг живої маси плідника протягом 70 днів забезпечило збільшення кількості сперміїв в еякуляті на 11%, активності і здатності до заморожування — на 10,4 і 12,4%, а заплідненості корів — на 7,5%, порівнюючи з контролем.

Активізують статеву функцію бугаїв фітоестрогени. Якщо плідникам згодовувати по 2—3 кг зеленої маси левзеї протягом 16 днів, то це сприяє підвищенню їхньої статевої актив-

ності протягом трьох місяців, збільшенню об'єму еякулятів на 12%, концентрації сперміїв на 11,0% та зменшенню кількості вибракуваних еякулятів на 20,5%. Позитивні результати одержано також при застосуванні настоїв і екстрактів левзеї та інших препаратів.

На прояв фізіологічних функцій організму бугаїв значно впливають вітаміни, макро- і мікроелементи, яких часто в раціонах недостатньо. Наприклад, коли бугаям згодовували по 300 г малозольного бурого вугілля протягом двох місяців, то це забезпечило збільшення об'єму еякулятів на 13,5%, концентрації сперміїв — на 10,6% і зменшення числа вибракуваних еякулятів на 11,7%.

Раціональне використання бугаїв залежить від дотримання правил заморожування і використання сперми. В цьому напрямі працівники більшості племоб'єднань досягли високих показників, дотримуючись рекомендацій науки. Вони вміло поєднують виконання вимог технології кріоконсервації сперми з організацією та виконанням правил штучного осіменіння корів і телиць.

Відомо, що в основі низької заплідненості корів нерідко може бути біологічна причина — відсутність або недостатня кількість сперміїв у яйцепроводах перед овуляцією внаслідок несвоєчасного осіменіння, порушення техніки введення сперми, неякісної сперми, порушення механізму проникнення сперміїв до яйцепроводів.

Ми встановили, що швидкість руху сперміїв у статевих органах клінічно здорових корів з добре виявленими ознаками статевої охоти і тічки досить велика. Вона залежить від якості сперми, фукціонального стану матки і місця введення сперми в статеві органи самок. Якщо сперму ввести в піхвову частину шийки матки корів на глибину до 3 см, то в рогах матки і яйцепроводах можна знайти близько 13% сперміїв від уведених під час осіменіння. Глибоке ж цервікальне осіменіння корів забезпечує швидкий (до 1—2 год.) рух сперміїв до яйцепроводів. При цьому в матці і яйцепроводах знаходили до 70% сперміїв від числа введених при осіменінні.

Найбільше сперміїв скупчується у верхівках рогів матки, які є своєрідним депо сперміїв при штучному осіменінні корів. Тут вони можуть зберігати свою життєздатність до 32—54 год. і довше. При незначних запальних процесах у статевих шляхах корів і навіть у густому слизу при гіпотонії матки спермії гинуть протягом 4—8 год.

З метою ефективнішого використання сперми бугаїв і підвищення заплідненості самок наукою розроблений і широко застосовується ректо-цервікальний спосіб осіменіння. Він розрахований на введення сперми в канал шийки матки на глибину 5—7 см або навіть у тіло чи ріг матки. За такого способу осіменіння якісною спермою з наявністю в дозі 15 млн. сперміїв з прямолінійним поступальним рухом можна досягти високої заплідненості (60—70%) тварин від першого осіменіння. Якщо ж знехтувати глибиною введення сперми, то це призведе до негативних наслідків — багато корів можуть залишитися не запліднені, особливо, якщо під час осіменіння в них була гіпотонія матки.

У багаторічних дослідах з урахуванням 2910 корів ми встановили, що коли під час осіменіння самок сперму вводили в канал шийки матки на глибину 5—7 см, то від першого осіменіння запліднилося 56,4% корів, а при введенні сперми на глибину 1—3 см — лише 26,6%. Різниця становила 29,8%. Підвищенню заплідненості тварин сприяв масаж статевих органів та застосування нейротропних препаратів при гіпотонії матки.

Переваги глибокого цервікального введення сперми перед неглибоким доведено широкою практикою штучного осіменіння корів і телиць.

Більш ефективне використання бугаїв забезпечується й активізацією функцій статевих органів корів та телиць парувального віку з метою підвищення їхньої заплідненості від першого осіменіння. Цього досягають повноцінною годівлею залежно від фізіологічного стану тварин, організацією моціону, систематичним виявленням тварин в охоті, застосуванням масажу матки і фізіологічно активних речовин.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.454.2

О.Т. БУСЕНКО

РОЗВИТОК СІМ'ЯНИКІВ У БУГАЙЦІВ ЗА РІЗНИХ РІВНІВ ГОДІВЛІ

Метою досліджень було вивчити морфолого-фізіологічні особливості розвитку сім'яників у бугайців чорно-рябої породи за умов оптимального та низького рівнів годівлі, а також вияснити, чи відбувається відновлення нормальної гістоструктури при годівлі досхочу після періоду недогодівлі.

Було проведено дослідження, для якого відібрали 27 новонароджених бугайців, котрих розділили на три групи: I — контрольна, II і III — дослідні. Бугайці I групи від народження й до 15-місячного віку забезпечувалися кормами згідно з нормами, розрахованими на одержання середньодобових приростів 800—1000 г. Тварин II групи від народження до 5 міс. утримували на низькому рівні годівлі, розрахованому на одержання середньодобових приростів 200—250 г. Бугайці III групи до 5 міс. годували так само, як і тварин I групи, а від 5- до 10-місячного віку їх перевели на низький рівень годівлі.

Тварин II групи з 5-місячного, а III — з 10-місячного віку перевели на годівлю досхочу з таким розрахунком, щоб до кінця вирощування вони використали таку саму кількість кормів, як і бугайці контрольної групи у віці 15 міс. За період вирощування до досягнення живої маси 435 кг тварини II групи спожили кормів (у середньому на голову) на 186,6 к.од. більше, а бугайці III — на 154,6 к.од. менше, ніж тварини контрольної. Середньодобові прирости бугайців I групи за весь період вирощування були в межах 832—921 г, II групи від народження до 5 міс. — 211 г, а в інші періоди досліду — 922—953 г, у бугайців III групи в перші 5 міс., від 6 до 10 та з 11-місячного віку — відповідно 862, 186, 1172 г (табл. 1).

З даних таблиці видно, що бугайці II групи, яких утримували на низькому рівні годівлі, у 5-місячному віці за живою

© О.Т. Бусенко, 2001

1. Жива маса та морфологічні показники сім'яників піддослідних тварин, M+m

Група	Вік, місяців—днів	Жива маса, кг		
		до голодного витримування	перед забосм	маса, г
	Новонароджені	—	35,3 ±3,7	5,24±0,9
I	5	166,7±11,8	154,3±10,5	53,6±7,3
II	5	64,0±3,2**	58,7±2,9***	15,1±1,3***
I	10	323,3±12,2	304,3±9,2	335,4±36,3
II	10	212,7±4,7**	200,0±3,6***	167,8±2,5**
III	10	205,0±11,4**	190,3±10,0***	208,2±19,4*
I	15	435,0±9,1	418,7±7,8	448,5±14,1
II	17—26	443,7±7,7	423,7±5,0	422,3±39,4
III	16—12	438,7±11,9	420,3±13,6	446,8±34,9

* P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001.

масою поступалися на 102,7 кг, а III у 10 міс. — на 110,6 кг (P<0,01) тваринам контрольної групи. Бугайці дослідних груп відповідно мали й меншу масу сім'яників на 38,5 і 127,2 г (P<0,01), а також меншу кількість їхньої маси на 100 кг чистої маси тіла тварин на 6,7 г у 5-місячному віці, але у 10-місячному віці останній показник бугайців III групи дещо перевершував (на 9,6 г) такий у тварин контрольної.

Звивисті сім'яні канальці бугайців контрольної групи 5-місячного віку ще не мали отвору, а на базальній мембрані їх спостерігався зародковий епітелій і сперматогонії. У сім'яниках бичків II групи 5-місячного віку, що перебували на низькому рівні годівлі перші 5 міс. життя, спостерігалися атрофічні зміни. За гістоструктурою вони були схожі на сім'яники новонароджених тварин, а діаметр сім'яних канальців у них був більшим лише на 9,1 мкм. Сперматогонії і клітини Сертолі були дуже дрібні. У деяких сім'яних канальцях відбувалося утворення інших стадій спермій, але вони були одиничні і зазнавали дегенеративних змін. Спостерігалося зменшення інтер-

Сім'яники	
на 100 кг чистої маси тіла, г	діаметр сім'яних канальців, мкм
15,0±1,7	35,3±2,0
40,0±4,3	92,2±2,7
33,3±3,4	44,4±2,4**
125,3±9,8	158,0±2,8
96,4±3,9*	132,6±4,7*
134,9±8,2	123,6±4,5*
121,1±3,2	170,9±2,9
110,1±9,1	168,3±3,6
123,3±10,9	170,0±4,0

стеціальної тканини, а в окремих місцях вона залягала тонким прошарком.

Сім'яники в бугайців контрольної групи 10-місячного віку були повністю зрілими органами з нормальним ходом сперматогенезу. Недогодівля бичків III групи від 6- до 10-місячного віку спричиняла дегенеративні зміни в сім'яних канальцях, що виражалося у порушенні сперматогенезу. Сертоліїв синтицій і сперматогонії слабо формувалися і мали пікнотичні ядра. У сім'яних канальцях спостерігалися всі перехідні форми сперміїв, однак процес утворення їх порушувався. Діаметр сім'яних канальців у них був менший порівняно з контрольними тваринами ($P<0,05$).

Годівля досхочу бугайців II групи від 6- до 10-місячного віку не сприяла повному відновленню гістоструктури сім'яників. Діаметр сім'яних канальців був на 25,4 мкм меншим, ніж у тварин контрольної групи ($P<0,01$). Зустрічалися канальці, повністю заповнені сертолієвим синтицієм, але більшість їх перебувала у стадії нормального сперматогенезу. Однак процес формування сперміїв у деяких канальцях був ще порушений, про що свідчило відторгнення сперматид у центральну частину канальців.

Забезпечення тварин обох піддослідних груп кормами за потребою після періодів недогодівлі позитивно вплинуло на відновлення функціональної активності сім'яників. Різниця в діаметрі сім'яних канальців становила лише 0,9—2,6 мкм. Сперматогенез проходив без відхилень від норми, посилився процес ділення сперматогоній, у результаті чого спостерігалося збільшення інших перехідних форм сперміїв.

Національний аграрний університет

УДК 636.2.082.352 : 575.2 : 576.2

Й.З. СІРАЦЬКИЙ, Є.І. ФЕДОРОВИЧ

ЗАКОНОМІРНОСТІ ФОРМУВАННЯ ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ У БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ ЧОРНО-РЯБОЇ ПОРОДИ

Вивчення закономірностей індивідуального розвитку тварин є однією з найбільш актуальних проблем біологічних наук і зоотехнії. Зроблено перші кроки в накопиченні даних про породну різницю в індивідуальному розвиткові тварин. Недостатньо вивчено особливості вікових змін у рості статевих органів, статевих залоз і залоз внутрішньої секреції бичків, розвитку їх у зв'язку з рівнем годівлі та впливу рівня годівлі в період вирощування на формування відтворної функції.

Результати наших досліджень показують, що у бугаїв чорно-рябої породи маса статевого апарату, статевих залоз внутрішньої секреції з віком збільшується, але це збільшення відбувається нерівномірно. Так від народження до 5—6-річного віку маса тіла бичків чорно-рябої породи збільшується у 28,8 раза, маса сім'яників — у 93,3, придатків сім'яників — у 45,2, пузиркоподібних залоз — у 75,4, луковичноподібна — у 15,7, передміхурової залози — у 7,7, ампул сім'япроводів — у 21,7, надниркових залоз — у 12,5 і щитовидної залози — у 5,7 раза. Інтенсивність росту сім'яників у 3,2, пузиркоподібних залоз у 2,6 і придатків сім'яників в 1,6 раза більша від інтенсивності росту маси тіла бугайців. Абсолютна маса інших залоз внутрішньої секреції збільшується менш інтенсивно, ніж маса тіла тварин.

У перші три місяці постембріонального розвитку в бугайців чорно-рябої породи найінтенсивніше ростуть сім'яники, пузирковидні залози і придатки сім'яників. Луковичні та щитовидні залози в цей період ростуть менш інтенсивно. До 6-

© Й.З. Сірацький, Є.І. Федорович, 2001

місячного віку інтенсивність росту тіла і залоз внутрішньої секреції знижується. Від 6- до 9-місячного віку тварин інтенсивність росту сім'яників, придатків сім'яників, ампул сім'япроводів, луковичних і щитовидної залози підвищується. За цей період найбільш інтенсивно збільшується маса луковичних залоз та щитовидної. Інтенсивність росту надниркових, пузирковидних та передміхурової залоз знижується. Після 18-місячного віку бугайців інтенсивність росту статевих органів і залоз внутрішньої секреції зменшується. Маса статевих органів і залоз внутрішньої секреції поступово збільшується до 5—6-річного віку бугаїв. Від 18- до 60-місячного віку тварин маса сім'яників збільшується в 1,2 раза, придатків сім'яників — в 1,8, пузирковидних залоз — у 2,6, луковичних — в 1,5, передміхурової — в 1,2, ампул сім'япроводів — у 2,1, надниркових залоз — в 1,5 і щитовидної залози в 1,8 раза. Бугайці у 18-місячному віці мають добре розвинений статевий апарат. Маса сім'яників і статевих залоз у цьому віці становить 50—90 % маси відповідних органів бугаїв 4—6-річного віку. Встановлено, що з ростом і розвитком сім'яників тісно пов'язані кількісні зміни показників спермопродукції.

Результати вивчення розвитку сім'яників, статевих залоз і залоз внутрішньої секреції в бугайців чорно-рябої породи за різного рівня вирощування показують, що тварини при інтенсивному вирощуванні мають краще розвинені сім'яники і залози внутрішньої секреції. У 15-місячному віці за інтенсивного вирощування бугайці (середня жива маса 471,6 кг) за масою сім'яників переважали тварин помірного вирощування (середня жива маса 391,5 кг) в 1,39 раза, за довжиною, шириною та об'ємом сім'яників — на 5—13 %. Помірна годівля затримувала ріст і розвиток сім'яників та залоз внутрішньої секреції. Сумарний вміст нуклеїнових кислот в 1 г сирої тканини надниркових залоз, сім'яників та щитовидної залози був вищий за інтенсивного вирощування. Абсолютна маса м'язів, кістяка, шлунка з передшлунками, кишечнику, внутрішніх органів була більшою за інтенсивного вирощування. Результати рентгенографічних досліджень розвитку скелета, кінцівок бу-

гайців у різних умовах вирощування свідчать про те, що помірна годівля затримувала ступінь окостеніння і негативно впливала на розвиток їхнього скелета. При інтенсивному вирощуванні загальне навантаження на середню частину діафізу п'ясної та плеснової кісток було значно вищим. За хімічним складом п'ясна і плеснова кістки при інтенсивному вирощуванні мали вищий вміст солей кальцію і фосфору. Відзначено також відмінності в гістологічній будові сім'яників, хімічному й амінокислотному складі м'язів, дихальній функції і легеневому газообміні в бугайців за різного рівня вирощування. Встановлено взаємозв'язок між живою масою бугайців та величиною сім'яників і показників спермопродукції. Між живою масою бугайців у період вирощування та об'ємом еякуляту існує тісний зв'язок (r=+0,64).

Про розвиток сім'яників при житті тварин можна судити за їхніми розмірами. Наші дослідження показують, що між шириною і довжиною сім'яників до забою та після нього існує дуже тісний взаємозв'язок. Коефіцієнт кореляції для ширини сім'яників становить +0,87 і для довжини +0,89. Встановлено, що 49,9 % бугаїв-плідників чорно-рябої породи із племпідприємств вибувало до 60-місячного віку. Середня статистична тривалість життя вибулих плідників дорівнювала 65,1 місяця. Основними причинами вибуття були: порушення відтворної здатності — 36,02 %, неінфекційні захворювання — 18,29, захворювання кінцівок — 17,39, зоотехнічний брак — 5,63, буйний норов — 4,77, інфекційні захворювання — 4,20, фізіологічна старість — 3,47, інші причини — 10,23 %.

У бугаїв чорно-рябої породи спостерігаються вікові особливості спермопродуктивності. Об'єм еякуляту та загальна кількість сперміїв в еякуляті збільшуються до 10-річного віку відповідно в 1,51 і 1,54 раза і на такому рівні з невеликими коливаннями утримуються до 12-місячного віку. Об'єм еякуляту у плідників дворічного віку становить 70 %, трирічного — 80 %, а загальна кількість сперміїв у ньому — відповідно 69 і 80 % об'єму еякуляту і загальної кількості сперміїв в ньому шестирічних бугаїв. Концентрація сперміїв збільшується до 3 —

4-річного віку, активність, резистентність, стійкість сперміїв до заморожування і запліднювальна здатність — до 12-річного віку. Аналіз даних впливу віку на показники спермопродукції і запліднювальну здатність сперміїв показав, що ступінь впливу віку плідників на об'єм еякуляту становить 29,4 %, на концентрацію сперміїв — 2,7, загальну кількість сперміїв в еякуляті — 13,8, активність — 4,3, резистентність — 14,6, стійкість сперміїв до заморожування — 13,8, запліднювальну здатність сперміїв від першого осіменіння — 7,5 і на загальну запліднювальну здатність — 6,9 %. Коефіцієнт кореляції між віком плідника та об'ємом еякуляту становив r=+0,559, а між віком та загальною кількістю сперміїв в еякуляті — r=+0,448.

Доведено значну залежність об'єму еякуляту і загальної кількості сперміїв у ньому від живої маси плідників. Коефіцієнт кореляції для об'єму еякуляту становив r=+0,627 і для загальної кількості сперміїв в еякуляті — r=+0,553. Частка впливу живої маси на об'єм еякуляту була 43,01 %, а на загальну кількість сперміїв в еякуляті — 36,88 %. Такий тісний взаємозв'язок можна пояснити тим, що статева залоза плідників має дуже високий зв'язок з їхньою живою масою. З віком бугаїв коефіцієнти кореляції між об'ємом еякуляту та живою масою і загальною кількістю сперміїв в еякуляті та живою масою знижуються. Так коефіцієнт кореляції між живою масою та об'ємом еякуляту до 2-річного віку плідників становив — +0,767, від 2- до 3-річного віку — +0,648 і в 5-річному віці — +0,622. Частка впливу живої маси на об'єм еякуляту до 2-річного віку бугаїв дорівнювала 59,50 %, від 2- до 3-річного — 46,33 і в 5-річному віці 42,25 %.

Проведений нами кореляційно-регресійний аналіз взаємозв'язку об'єму еякуляту і загальної кількості сперміїв у ньому з живою масою показав, що оптимальною живою масою для бугаїв чорно-рябої породи у 2-річному віці є 630—650 кг, у 3-річному — 800—820 кг і в 5-річному та старшому віці — 1050—1070 кг. Для одержання бугаїв з такою живою масою при вирощуванні необхідно забезпечити до 12-місячного віку середньодобові прирости 1000—1050 г, від одного до

двох років — 600—700, від двох до трьох — 450—500 і від трьох до п'яти років — 300—350 г. На підставі кореляційно-регресійного аналізу взаємозв'язків об'єму еякуляту і загальної кількості сперміїв у ньому з віком та живою масою тварин ми вивели рівняння множинної регресії для об'єму еякуляту і загальної кількості сперміїв у ньому: для плідників 2-річного віку — відповідно $y=0,032X_1+0,0085X_2 - 1,33$ і $y_1=0,0407X_1+ +0,00648X_2 - 0,68$; від 2- до 3-річного віку — $y=0,022X_1+ +0,0037X_2+0,86$ і $y_1=0,034X_1+0,0061X_2 - 1,49$; від 3- до 5-річного віку — $y=0,022X_1+0,00611X_2 - 2,45$ і $y_1=0,022X_1+0,00585X_2 - 2,13$, де y — об'єм еякуляту; y_1 — загальна кількість сперміїв в еякуляті; X_1 — вік бугаїв у місяцях; X_2 — жива маса бугаїв у даному віці в кілограмах. Ці рівняння множинної регресії дають можливість за віком і живою масою прогнозувати стандарти відбору бугаїв за об'ємом еякуляту і загальною кількістю сперміїв у ньому. За об'ємом еякуляту і загальною кількістю сперміїв у ньому можна також прогнозувати і стандарти відбору за концентрацією сперміїв в еякуляті.

На підставі досліджень вікових змін спермопродукції бугаїв можна виділити три основні періоди становлення статевої функції у плідників.

Перший період — *становлення статевої функції.* Він триває від початку статевого дозрівання бугайців (8—9 місяців) до 5-річного віку. Характерною особливістю цього періоду є постійне збільшення об'єму еякуляту, концентрації сперміїв, загальної кількості сперміїв в еякуляті, рухливості, резистентності та стійкості сперміїв до заморожування.

Другий період — *стабілізація статевої функції.* Цей період продовжується від 5-річного до 10—12-річного віку плідників. Характерною ознакою його є константність об'єму еякуляту, концентрації, загальної кількості сперміїв в еякуляті, рухливості, резистентності та стійкості сперміїв до заморожування.

Третій період — *згасання статевої функції.* Настає цей період після 10—12-річного віку плідників. Він характеризується поступовим зниженням показників об'єму, концентрації, загальної кількості сперміїв в еякуляті, рухливості, резі-

стентності та стійкості сперміїв до заморожування.

Між кількісними, якісними показниками спермопродукції та запліднювальною здатністю сперміїв ми встановили певний взаємозв'язок. Результати аналізу показують, що між об'ємом і загальною кількістю сперміїв в еякуляті, концентрацією і загальною кількістю сперміїв в еякуляті, рухливістю і стійкістю сперміїв до заморожування існують прямолінійні взаємозв'язки. Кореляційне співвідношення між цими показниками знаходиться в межах 0,589—0,799. Вони мають високий відсоток взаємозалежності (34,99—63,82 %). Кореляційне відношення між концентрацією і резистентністю, концентрацією і стійкістю сперміїв до заморожування, концентрацією і загальною запліднювальною здатністю, загальною кількістю сперміїв в еякуляті і стійкістю сперміїв до заморожування, рухливістю і запліднювальною здатністю від першого осіменіння було в межах 0,315 : 0,412. Взаємозалежність цих показників становила 9,19—16,95%. Отримані результати показують, що кількісні і якісні показники сперми перебувають у складних функціональних взаємовідношеннях. Виявлення цих взаємозв'язків між окремими показниками сперми та їхніх зв'язків із запліднювальною здатністю сперміїв, визначення їхніх типів і напрямів дає змогу точніше оцінювати кількісні та якісні показники сперми, прогнозувати запліднювальну здатність сперміїв.

На фенотипну різноманітність показників спермопродукції бугаїв відчутно впливає їхня спадковість. Спостерігається значний ступінь спадкової зумовленості кількісних і якісних показників спермопродукції та запліднювальної здатності сперміїв. Коефіцієнти успадковуваності об'єму еякуляту, концентрації сперміїв, загальної кількості сперміїв в еякуляті, активності, резистентності, стійкості сперміїв до заморожування та запліднювальної здатності сперміїв для пар батько-син — 0,221—0,532, дід-онук — 0,221—0,659, прадід-правнук — 0,168—0,585 і прадід-праправнук — 0,128—0,295. Коефіцієнти повторюваності для вище наведених показників були в межах 0,597—0,855.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082.352 : 575.2

В.О. КАДИШ, Й.З. СІРАЦЬКИЙ

ДИНАМІКА СТАНОВЛЕННЯ СТАТЕВОЇ ФУНКЦІЇ У БУГАЇВ АБЕРДИН-АНГУСЬКОЇ ПОРОДИ

Дослідженнями встановлено, що жива маса бугайців абердин-ангуської породи від народження до 3-місячного віку збільшується у 4,24 раза; до 6-місячного — у 7,24; 9-місячного — у 10,47; 12-місячного — у 12,67; 15-місячного — у 17,17; 18-місячного — у 19,69; 21-місячного — у 21,50 і 24-місячного віку у 22,80 раза. З 18-місячного віку кратність збільшення живої маси різко знижується. Аналіз зміни динаміки промірів статей тіла в бугайців абердин-ангуської породи показує, що інтенсивність росту у висоту, довжину, ширину та глибину в різні вікові періоди проходить неоднаково. Від 9- до 24-місячного віку найінтенсивніше відбувається ріст ширини і глибини грудей, ширини в клубах та сідничних горбах, косої довжини тулуба, обхвату грудей та розмірів сім'яників.

Установлено, що від народження до 36-місячного віку жива маса бичків збільшується у 28 разів, маса сім'яників — у 93,3, придатків сім'яників — у 48,3, куперових залоз — у 21,6, передміхурової — у 9,5 і маса міхурцевидних залоз зростає у 45,9 раза. Інтенсивність росту сім'яників у 3,3, придатків сім'яників у 1,7 і міхурцевидних залоз в 1,6 раза вища інтенсивності росту тіла. Проте ця закономірність не розповсюджується на куперові та передміхурові залози, які ростуть повільніше, ніж жива маса. В перші три місяці післяутробного розвитку найбільш інтенсивно ростуть сім'яники, маса тіла і придатки сім'яників. Куперові, міхурцевидні й передміхурова залози в цей період ростуть не так інтенсивно. До 6-місячного віку інтенсивність росту сім'яників, тіла, придатків сім'яників, куперових, передміхурової і міхурцевидних залоз знижується. Найбільш інтенсивно в цей час ростуть сім'яники, придатки

© В.О. Кадиш, Й.З. Сірацький, 2001

сім'яників та міхурцевидні залози. Від 6- до 9-місячного віку дуже підвищується швидкість росту куперових залоз та інтенсивно ростуть сім'яники, придатки і міхурцевидні залози. Це пояснюється тим, що у бугайців до 9-місячного віку настає статева зрілість. У період від 9- до 12-місячного віку спостерігається інтенсивний ріст куперових залоз, підвищується інтенсивність росту передміхурової залози та знижується швидкість росту сім'яників, придатків і міхурцевидних залоз. Від 12- до 15-місячного віку підвищується інтенсивність росту передміхурової та міхурцевидних залоз, спостерігається висока інтенсивність росту куперових залоз і дещо знижується швидкість росту сім'яників та їхніх придатків. З 15-місячного віку дуже знижується напруженість росту сім'яників, міхурцевидних та куперових залоз і меншою мірою — придатків сім'яників. Після 18-місячного віку інтенсивність росту сім'яників та придаткових статевих залоз знижується, хоча їхня маса поступово збільшується. Середній діаметр сім'яних канальців у новонароджених бугайців становить 45,6±0,4 мікрона. До 3-місячного віку він збільшується в 1,53 раза, 6-місячного — у 2,8, 9-місячного — у 3,56 і до 12-місячного віку в 3,93 раза. Доведено, що діаметр сім'яних канальців дуже тісно корелює з масою сім'яників (r=+0,89). За нормальних умов вирощування бугайців у 9—10-місячному віці мають об'єм еякуляту в середньому 2,28 мл, 13—15-місячному — 2,45, 16—18-місячному — 2,69 і в 19—24-місячному віці — 3,02 мл. Концентрація сперміїв, загальна кількість їх в еякуляті та активність сперміїв з віком бугайців зростають. Установлено, що об'єм еякуляту, активність, концентрація сперміїв та загальна кількість їх в еякуляті були меншими за низького рівня вирощування. Інтенсивність вирощування позначається на їхніх інтер'єрних показниках. У плазмі крові бугайців, вирощених на високому рівні, був більший вміст треоніну, валіну, метіоніну, ізолейцину, лейцину, фенілаланіну, гістидину, аспарагінової кислоти, серину, проліну, глутамінової кислоти, гліцину, аланіну, тирозину, аргініну, а лізину і цистину — в бугайців за помірного вирощування. За відсотковим вмістом від

загальної кількості вільних амінокислот у плазмі крові бугайців помірного вирощування було більше валіну, ізолейцину, лейцину лізину, сирину, гліцину і цистину.

У плазмі сперми бугайців, вирощених на високому рівні годівлі, був більший вміст треоніну, лейцину, аспарагінової та глутамінової кислот, гліцину, цистину, проліну і аргініну. Вміст лейцину, лізину, аспарагінової кислоти, серину, гліцину, глутамінової кислоти, аланіну й аргініну був найбільшим у плазмі сперми порівняно із вмістом інших амінокислот незалежно від рівня вирощування бугайців. Амінокислотний склад плазми крові і сперми перебуває в тісному зв'язку з кількісними та якісними показниками спермопродукції.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.4.0841.087

О.Ф. САГЛО, В.З. ФОЛОМЄЄВ, Н.М. ОПРИШКО

ВПЛИВ ЯНТАРНОКИСЛОГО НАТРІЮ НА РЕПРОДУКТИВНУ ФУНКЦІЮ КНУРІВ-ПЛІДНИКІВ

Науковими дослідженнями та виробничою практикою доведено доцільність використання різних специфічних і неспецифічних біологічно активних препаратів та інших речовин з метою підвищення загальної резистентності організму тварин та їхньої відтворної здатності. У науково-виробничому експерименті даної роботи визначали вплив янтарнокислого натрію (сукцинату натрію) на репродуктивну функцію кнурів-плідників.

Було відібрано 10 кнурів-плідників великої білої породи 14-місячного віку і за принципом аналогів сформовано дві групи: дослідну та контрольну по п'ять голів у кожній. Протя-

© О.Ф. Сагло, В.З. Фоломєєв, Н.М. Опришко, 2001

гом місяця тваринам дослідної групи до основного раціону додавали сукцинат натрію один раз на добу чотири дні підряд з переривом на три дні з розрахунку 30 мг на кілограм живої маси кнурів.

Піддослідних тварин у кінці місяця зважували, а також визначали деякі параметри якості спермопродукції (об'єм еякуляту, концентрацію та активність сперміїв). Кнури-плідники дослідної групи за середньодобовими приростами переважали тварин контрольної на 46 г. При постановці досліду кнури обох груп мали загальну живу масу по 555 кг, а в кінці досліду різниця на користь дослідної групи за живою масою становила 7 кг. За показниками спермопродукції, зокрема об'ємом еякуляту, тварини дослідної перевищували аналогів контрольної на 16 мл (10,2%), тоді як початковий його рівень був однаковим в обох групах — 131 мл (таблиця).

Показники спермопродукції

Група тварин	Об'єм еякуляту, мл			Концентрація сперміїв, млрд./мл			Активність сперміїв, %		
	на початку досліду	в період досліду	після введення препарату	на початку досліду	в період досліду	після введення препарату	на початку досліду	в період досліду	після введення препарату
Дослідна	131	172	162	0,29	0,33	0,32	79	80	80
Контрольна	131	156	158	0,30	0,30	0,30	80	80	80

Після припинення введення сукцинату натрію в раціон тваринам дослідної групи протягом наступного місяця об'єм еякуляту в них дещо знизився.

У тварин контрольної групи в цей період об'єм еякуляту підвищився на 2 мл, що, очевидно, пов'язано з настанням літнього періоду і введенням до раціону зеленої маси. Та все ж рівень сякуляту в дослідних тварин продовжував бути більш високим порівняно з контрольною групою — на 4 мл (2,5%).

Концентрація сперміїв на початку досліду була вищою у плідників контрольної групи, однак протягом дослідження у тварин дослідної групи вона уже на 0,4 млрд/мл (1,14%) перевищувала початковий рівень, а показник контрольних тварин — на 0,3 млрд /мл (1,1%).

Протягом наступного місяця, після припинення введення у раціон сукцинату натрію, концентрація сперміїв у дослідних тварин знизилася на 1 млрд/мл, але була вищою відповідного показника тварин контрольної групи на 0,2 млрд /мл (1,06%).

Показники активності сперміїв були порівняно високими в обох групах (80%) без істотної різниці між ними.

Отже, використання сукцинату натрію позитивно вплинуло на середньодобові прирости кнурів-плідників та деякі показники їхньої спермопродукції.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.2.082.453

Ю.П. ПОЛУПАН

ІНТЕГРАЛЬНІ МЕТОДИ ПРОГНОЗУВАННЯ СПЕРМОПРОДУКТИВНОСТІ БУГАЇВ

Відкриття І.В. Смирновим у співавторстві з В.К. Міловановим та І.І. Соколовською здатності живчиків ссавців зберігати біологічну повноцінність та генетичну інформацію після глибокого охолодження з одержанням нормального потомства від замороженого сім'я, що підтверджено у 1972 р. відповідним дипломом з пріоритетом від червня 1947 р., зробило революціонізуючий внесок у розвиток біології відтворення сільськогосподарських тварин та практику великомасштабної селекції [6]. Метод штучного осіменіння тварин спермою після глибокого охолодження та тривалого зберіган-

© Ю.П. Полупан, 2001

ня у рідкому азоті наразі лишається найпоширенішим, практично реалізованим методом біотехнології у тваринництві.

Широке практичне використання зазначеного біотехнологічного методу розмноження зумовило потребу підвищення засобами селекції спермопродуктивності бугаїв задля найбільш широкого та ефективного використання поліпшувачів у системі великомасштабної селекції. Уявляється виправданим ранній відбір плідників з використанням достатньо надійних методів прогнозування майбутньої їхньої спермопродуктивності.

Найбільш біологічно та практично обгрунтованим методом прогнозування спермопродуктивності бугаїв є ранній добір їх за кількістю та якістю одержаної від них сперми протягом різних періодів першого року їхнього статевого використання, що зумовлено встановленою високою віковою повторюваністю ознак відтворної здатності плідників. При цьому різними авторами пропонується використовувати показники спермопродуктивності за перші два [8, 9, 17], три [1] місяці, перший рік [4] статевого використання або показники перших 5 і 10 еякулятів [8, 14].

Проте найбільший економічний ефект селекції за даною ознакою логічно очікувати за надраннього добору бугайців до початку їхнього статевого використання. Це спонукало до пошуку непрямих ознак, які достовірно корелюють із спермопродуктивністю. Так Б.М.Чухрій із співавторами [18] та деякі інші дослідники повідомляють про наявність маркерних генів груп крові та поліморфних систем, що певною мірою пов'язані з кількісними і якісними показниками сперми. Іншими дослідженнями [5, 16] виявлено певний, часом достовірний, зв'язок окремих гематологічних показників та активності деяких ферментів як у крові, так і у нативній спермі з якісними та кількісними ознаками сперми, що дає підстави очікувати певний селекційний ефект щодо підвищення спермопродуктивності бугаїв за опосередкованого непрямого добору за інтер'єрними показниками.

Для практичної селекції більший інтерес викликає встановлений зв'язок окремих екстер'єрних ознак, пропорцій будови тіла, загального розвитку (жива маса) та розміру сім'яників із спермопродуктивністю бугаїв [11—13, 15]. Обгрунтування використання зазначених показників лежить у площині статевого добору [7], ступеня вираженості вторинних статевих ознак [12], тобто статевого диморфізму [3, 7, 12], що значною мірою зумовлено функціонуванням ендокринної системи, статевими гормонами, зокрема тестостероном [10].

Широке практичне використання окремих екстер'єрних та інтер'єрних критеріїв прогнозування і опосередкованого раннього добору за майбутньою спермопродуктивністю до початку статевого використання бугаїв лімітується порівняно невисокою надійністю окремих з них. Це спричинило необхідність пошуку шляхів підвищення надійності прогнозування через інтегральне (одночасне) використання низки пропонованих раніше критеріїв у доборі, що і стало метою наших досліджень.

Матеріал і методи досліджень. Дослідження проведено шляхом постановки науково-господарського досліду на 24 бугайцях чорно-рябої породи та її помісей з голштинською у племзаводі "Олександрівка". До річного віку визначали живу масу бугайців (щомісяця) та її середньодобові прирости. У віці 6 і 12 місяців брали 21 промір та обчислювали 8 індексів будови тіла, визначали ратичний індекс [12], масометричний критерій [11]. У віці 8 місяців визначали загальну імунологічну реактивність, у 9 і 12 місяців — концентрацію тестостерону в плазмі крові та її співвідношення [10]. Про потенційну спермопродуктивність у 13-місячному віці судили за запасом сперміїв у статевих органах (після контрольного забою 12 бугайців). Спермопродуктивність бугаїв (12 голів) оцінювали за результатами статевого використання у виробничих умовах спеціалізованого Коростенського комплексу за числом одержаних сперміїв (у тому числі рухливих), спермодоз та переда-

них на зберігання і використання спермодоз до 2-річного віку та за 9 місяців другого року статевого використання.

Про надійність прогнозування показників спермопродуктивності робили висновки за величиною відповідних парних та множинних коефіцієнтів кореляції, коефіцієнтів детермінації, t- і F-критеріїв. Розраховували параметри рівнянь лінійної множинної регресії (обчислено 27 варіантів рівнянь). Статистичну обробку результатів досліджень проведено методами статистики на ПЕОМ з використанням програми STATISTICA для Windows [2].

Результати досліджень. Обчислені парні коефіцієнти кореляції запасу сперміїв у статевих органах бугайців у віці 13 місяців (ЗС) свідчать про наявність достовірного його зв'язку із середньодобовим приростом живої маси від 6 до 9 (–0,58± 0,259) та до 12 (–0,63±0,246) місяців, концентрацією тестостерону в плазмі крові у річному віці (0,62±0,249), ратичним індексом (0,60±0,267) та масометричним критерієм (0,63±0,259) у 3-місячному віці. З іншими показниками і в інші вікові періоди зв'язок виявився меншим та недостовірним. Моделювання лінійних рівнянь множинної регресії дало змогу значно підвищити ступінь надійності прогнозування даної ознаки. Найвищий рівень коефіцієнта множинної кореляції (0,998) за коефіцієнта детермінації 0,997, F-критерія 31,81 виявлено при використанні рівняння: $ЗС = 4034 + 2,74\ ВХ_6 — 13,23\ ГГ_6 — 4,5\ КДТ_6 + 4,42\ ОГ_6 + 0,50\ ОШ_6 — 2,60\ ОТ_6 — 12,47\ ШЛМ_6 — 18,34\ ОМ_6 — 2785\ РІ_6 + 32,29\ ММК_6$,

де $ВХ_6$ — висота у холці у піврічному віці; $ГГ_6$ — глибина грудей; $КДТ_6$ — коса довжина тулуба; $ОГ_6$ — обхват грудей; $ОШ_6$ — обхват шиї; $ОТ_6$ — обхват тулуба; $ШЛМ_6$ — максимальна ширина лоба; $ОМ_6$ — окружність мошонки; $РІ_6$ — ратичний індекс і $ММК_6$ — масометричний критерій у тому самому віці. Обчислений коефіцієнт детермінації свідчить, що пропоноване рівняння лінійної регресії пояснює 99,7% мінливості ознаки запасу сперміїв у статевих органах бугайців [2].

Пошук критеріїв прогнозування реалізованої в умовах племпідприємства спермопродуктивності бугаїв засвідчує про наявність лише поодиноких порівняно високих і достовірних кореляційних (парних) зв'язків з окремими можливими непрямими ознаками (предикторами). Так з числом одержаних від бугаїв сперміїв з поступально-прямолінійним рухом до 2-річного віку ($РС_{24}$) тісно і достовірно ($P<0,05$) корелює лише ширина в сідничних горбах у віці 6 місяців (–0,61±0,252); з тим самим показником у розрахунку на один еякулят (індекс спермопродуктивності — $ІС_{24}$) — середньодобовий приріст живої маси бугайців від 9 до 12 місяців (0,62±0,249) та індекс габариту в річному віці, обчислений як 1/1000 добутку промірів глибини та ширини грудей і косої довжини тулуба (0,58±0,258); з числом переданих на зберігання і використання спермодоз до 2-річного віку ($СЗ_{24}$) — із середньодобовим приростом живої маси від 9 до 12 місяців (0,61±0,251). З індексом спермопродуктивності за 9 місяців другого року статевого використання ($ІС_{9(2)}$) тісно і достовірно корелює лише ширина грудей у річному віці (0,71±0,222), згадуваний індекс габариту в річному віці (0,82±0,182), індекси щільності у тому самому віці, обчислені як індекс габариту, поділений на живу масу (0,88±0,151), та 1/4000 добутку квадрату обхвату грудей і косої довжини тулуба, поділеного на добуток живої маси і числа π (0,65±0,241), та співвідношення концентрації тестостерону в крові у віці 9 і 12 місяців (–0,61±0,251). Число переданих на зберігання і використання спермодоз за 9 місяців другого року статевого використання тісно і достовірно корелює з шириною грудей у річному віці (0,71±0,223), обхватом тулуба у 9 місяців (0,61±0,250), згадуваними індексами габариту (0,87±0,157) і щільності (0,72±0,220), окружністю мошонки (0,65±0,242) у річному віці та співвідношенням концентрації тестостерону в 9 і 12 місяців (–0,61±0,251).

Моделювання рівнянь лінійної множинної регресії за групами досліджуваних непрямих ознак у віці 6 і 12 місяців також

значно підвищує величину коефіцієнта множинної кореляції із спермопродуктивністю бугаїв, що підвищує надійність прогнозу. Так найбільший рівень зв'язку з числом одержаних рухливих сперміїв до 2-річного віку за оцінки непрямих ознак у піврічному віці встановлено при використанні рівняння:

$РС_{24} = 1076 — 2{,}02\ ЖМ_6 + 0{,}89\ СДП_{0\text{-}6} + 8{,}84\ ШГ_6 — 75{,}38\ ШМ_6 + 26{,}70\ ШКЗ_6 — 12{,}09\ ШСГ_6 + 55{,}67\ ОП_6 — 46{,}83\ ДЛ_6 — 36{,}21\ ДГ_6 + 67{,}36\ ОМ_6$,

де $ЖМ_6$ — жива маса; $СДП_{0\text{-}6}$ — середньодобовий її приріст від народження до 6 місяців; $ШГ_6$ — ширина грудей; $ШМ_6$ — ширина в маклаках; $ШКЗ_6$ — ширина у кульшових зчленуваннях; $ШСГ_6$ — ширина у сідничних горбах; $ОП_6$ — обхват п'ястка; $ДЛ_6$ — довжина лоба; $ДГ_6$ — довжина голови та $ОМ_6$ — окружність мошонки у піврічному віці. За даним рівнянням коефіцієнт множинної кореляції сягає 0,95 при коефіцієнті детермінації 0,90.

Найвищий рівень коефіцієнтів множинної кореляції (0,995) та детермінації (0,991 при F = 10,89) встановлено при прогнозуванні числа переданих на зберігання і використання спермодоз за 9 місяців другого року статевого використання бугаїв ($СЗ_{9(2)}$) за ознаками бугайців у річному віці за рівнянням:

$СЗ_{9(2)} = 1082 — 4{,}84\ ЖМ_{12} + 110{,}7\ ГГ_{12} + 399{,}1\ ШГ_{12} + 89{,}47\ КДТ_{12} — 1084\ ШКЗ_{12} + 19{,}26\ ОГ_{12} — 250{,}7\ ОП_{12} + 33{,}06\ ОШ_{12} + 411{,}2\ ОМ_{12} + 39{,}29\ Т_{9/12}$,

де $ЖМ_{12}$ — жива маса; $ГГ_{12}$ — глибина грудей; $ШГ_{12}$ — ширина грудей; $КДТ_{12}$ — коса довжина тулуба; $ШКЗ_{12}$ — ширина у кульшових зчленуваннях; $ОГ_{12}$ — обхват грудей; $ОП_{12}$ — обхват п'ястка; $ОШ_{12}$ — обхват шиї; $ОМ_{12}$ — окружність мошонки у річному віці; $Т_{9/12}$ — співвідношення концентрації тестостерону в крові у віці 9 і 12 місяців.

Таким чином, використання лінійних рівнянь множинної регресії значно підвищує точність прогнозування та надійність раннього добору бугайців за комплексом непрямих ознак до початку їхнього статевого використання з метою

розробки інтегральних методів селекції бугайців на підвищення майбутньої спермопродуктивності.

Висновок. З метою розробки інтегральних методів прогнозування спермопродуктивності бугаїв доцільно використовувати обчислені рівняння лінійної множинної регресії за комплексом непрямих ознак у віці 6 і 12 місяців, що значно підвищує точність і надійність прогнозу та ефективність селекції.

1. *Белошицкий В.М.* Результаты оценки быков чёрно-пёстрой породы по воспроизводительным качествам // Бюллетень ВНИИРГЖ. — Л., 1985. — Вып. 78. — С. 8—9.

2. *Боровиков В.П., Боровиков И.П.* STATISTICA® — Статистический анализ и обработка данных в среде Windows®. — М.: Инф.-изд. дом "Филинъ", 1997. — 608 с.

3. *Винничук Д.Т.* Селекционно-генетические аспекты полового диморфизма скота // Цитология и генетика. — 1994. — Т. 28. — № 5. — С. 70—73.

4. *Гукежев В.М., Сударев Н.П.* Качество спермы быков-производителей в зависимости от возраста и происхождения // Повышение продуктивности жвачных животных: Сб. науч. тр. ТСХА. — М., 1985. — С. 21—24.

5. *Зверева Г.В., Чухрий Б.Н., Клевец Л.А.* Отбор быков по плодовитости // Научные и практические основы выведения новых пород и типов молочного и мясного скота: Тез. докл. научно-произв. конф. — К., 1982. — Ч. 1. — С. 95—97.

6. *Зубець М.В., Буркат В.П., Кругляк А.П.* Збереження повноцінності сперми після глибокого заморожування — відкриття світового значення // Біотехнологічні, селекційні та організаційні методи відтворення, зберігання і використання генофонду тварин. — К., 1997. — С. 5—14.

7. *Зубец М.В.* Теория скрещивания: методологический аспект научного синтеза // Вестник сельскохозяйственной науки. — 1988. — № 10. — С. 93—98.

8. *Кругляк А.П.* О возможности прогнозирования уровня спермопродукции быков // Генетические основы селекции крупного рогатого скота. — К., 1981. — С. 174—177.

9. *Кругляк А.П.* Рання оцінка бугаїв за спермопродуктивністю // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби. — К.: Урожай, 1981. — Вип. 13. — С. 58—60.

10. *Полупан Ю.П., Герасимчук А.В.* Содержание тестостерона в

крови бычков в связи с ростом и половым созреванием // Сельскохозяйственная биология. — 1988. — № 5. — С. 86—89.

11. *Полупан Ю.П.* Прогнозування спермопродуктивності бугаїв // Генетико-селекційні та технологічні проблеми відтворення сільськогосподарських тварин: Тез. доп. науково-практ. конф. — К., 1994. — С. 26.

12. *Савчук Д.И.* Воспроизводительная способность быков в связи с выраженностью у них вторичных половых признаков // Селекционные и технологические приёмы повышения продуктивности жвачных животных в северных областях Казахстана: Тр. Целиноградского СХИ. — Целиноград, 1987. — С. 77—82.

13. *Савчук Д.І., Сохацький П.С.* Ознаки високопродуктивного бугая та особливості їх формування // Розведення і генетика тварин. — 1996. — Вип. 28. — С. 51—57.

14. *Святовец Г.Д.* Оценка быков по спермопродуктивности // Генетические основы селекции крупного рогатого скота. — К., 1981. — С. 183—186.

15. *Святовец Г.Д.* Прогнозирование воспроизводительной способности быков в раннем возрасте // Научные и практические основы выведения новых пород и типов молочного и мясного скота: Тез. докл. научно-произв. конф. — К., 1982. — Ч. 2. — С. 154—155.

16. *Сірацький Й.З.* Динаміка вікових змін морфологічних і біохімічних показників крові та сперми у бугаїв-плідників чорно-рябої породи // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби. — 1994. — Вип. 26. — С. 16—21.

17. *Суллер И.* Прогнозирование спермопродукции быков-производителей // Молочное и мясное скотоводство. — 1981. — № 6. — С. 22.

18. *Чухрій Б.М., Клевець Л.О., Чайковська О.І.* Групи крові бугаїв як генетичні маркери якості сперми // Цитологія і генетика. — 1998. — Т. 32. — № 2. — С. 74—79.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.4.082.454

Л.А. КОРОПЕЦЬ*

ПОВТОРЮВАНІСТЬ ОЗНАК СПЕРМОПРОДУКЦІЇ У БУГАЇВ УКРАЇНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ

З урахуванням сучасної тенденції до підвищення відтворної здатності м'ясної худоби практичного значення набуває розробка методів поліпшення ознак спермопродукції бугаїв з використанням генетичних параметрів добору.

Методика досліджень. Вивчення постійності (повторюваності; r_w) ознак спермопродукції проводили методом внутрікласової кореляції [2] за даними племінного обліку на тваринах (n = 65) придніпровського (ПМ-1) та чернігівського (ЧМ-1) типів у племзаводі "Воля" Золотоніського району Черкаської області. Кількісні показники спермопродукції визначали згідно з рекомендаціями, наведеними у працях І.В. Смирнова [4].

Результати досліджень. Коефіцієнти повторюваності для об'єму еякуляту, концентрації та активності сперміїв становлять відповідно 0,64; 0,67 і 0,60 (таблиця).

Вірогідність коефіцієнтів повторюваності ознак спермопродукції, які вивчалися, — висока (P > 0,999). Подібні дані отримано на бугаях чорно-рябої худоби [3]. Дані про високу вікову повторюваність кількісних показників сперми свідчать,

Повторюваність показників спермопродукції бугаїв української м'ясної породи

Ознака	Кількість бугаїв	Середня кількість еякулятів	r_w
Об'єм	65	132,5	0,64**
Активність	65	130,1	0,60**
Концентрація	65	122,4	0,67**

** P > 0,999

* *Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук А.М. Угнівенко.*

© Л.А. Коропець, 2001

на підставі чого можна рекомендувати використовувати рівень спермопродуктивності перших місяців, як найбільш ранній критерій при доборі тварин. Вибракування гірших за показниками спермопродукції молодих бугаїв повинно зумовити поліпшення відтворної здатності поголів'я плідників.

При вирощуванні та оцінці бугаїв м'ясних порід за власною продуктивністю необхідно враховувати дані про спермопродукцію і прогнозувати її рівень на підставі показників сперми, одержаної за період випробування.

Одержані нами дані про меншу повторюваність активності сперміїв збігаються з даними А.П. Кругляка [1] і підтверджують висновок щодо меншої мо жливості прогнозування її рівня за весь період онтогенезу, оскільки мінливість цього показника більшою мірою зумовлюється умовами годівлі, утримання, використання бугаїв та кліматичними факторами, ніж генетичними задатками.

Висновки. 1. Встановлено високу (P>0,999) повторюваність основних ознак, що характеризують якість сперми у плідників придніпровського та чернігівського типів. Коефіцієнт внутрікласової кореляції між показниками об'єму еякуляту становив +0,64, концентрації сперматозоїдів — +0,67, активності сперматозоїдів — +0,60.

2. Дані про рівень ознак спермопродуктивності можна використовувати при випробуванні м'ясних бугаїв за власною продуктивністю.

1. *Кругляк А.П.* Рання оцінка бугаїв за спермопродукцією // Розведення та штучне осіменіння великої рогатої худоби.— К.: Урожай, 1981.— Вип. 13.— С. 58—60.

2. *Никоро З.С., Стакан Г.А., Харитонова З.Н. и др.* Теоретические основы селекции животных.—М.: Колос, 1968.— 439 с.

3. *Сірацький Й.З., Павлова О.П., Коваленко Г.С., Шафарук Д.У.* Успадкування показників спермопродукції і запліднювальної здатності сперміїв у бугаїв-плідників чорно-рябої породи // Племінна справа і біологія розмноження сільськогосподарських тварин. — К., 1974.— Вип. 5.— С. 48—53.

4. *Смирнов І.В.* Штучне осіменіння сільськогосподарських тварин.— К : Вища школа, 1976. — 256 с.

Інститут м'ясного скотарства УААН

УДК 619: 591. 463.1: 636.22/28

Л.М. РОМАНОВ, О.В. БОЙКО

ВИКОРИСТАННЯ ЛАКТИНУ ДЛЯ ПІДВИЩЕННЯ ЯКОСТІ СПЕРМИ БУГАЇВ

Інтенсифікація м'ясного скотарства, значне розширення масштабів застосування штучного осіменіння різко підвищили роль бугаїв-плідників у племінній справі.

Відомо, що до генетичної характеристики плідників м'ясних порід належать знижені статева активність і деякі показники спермопродуктивності (об'єм еякуляту, морозостійкість та запліднювальна здатність сперматозоїдів) порівняно з плідниками молочного та молочно-м'ясного напрямів продуктивності.

З метою підвищення ефективності використання сперми і збереження її показників на належному рівні при штучному осіменінні ми розробили розбавлювач, до складу якого ввели медичний препарат лактин, що є гормоном передньої частки гіпофізу і використовується для підвищення лактації тварин. Установлено, що ін'єкції препарату бугайцям сприяють інтенсивності їхнього росту і є дані про зв'язок лактину із спермопродуктивністю плідників, хоча дію останнього у самців до кінця не вивчено.

Дослідження проводили на бугаях-плідниках м'ясних порід: абердин-ангуської, шароле та їхніх помісей різної кровності, а також української м'ясної (97 гол.).

Для підвищення рухливості і виживаності сперматозоїдів підготували чотири суміші компонентів: у стандартний глюкозо-жовтково-гліцериновий розбавлювач додавали препарат лактин у кількості 0,0062; 0,0122; 0,025 і 0,0372 г відповідно. Розбавлення та глибоке заморожування сперми проводили згідно з діючою інструкцією.

© Л.М. Романов, О.В. Бойко, 2001

Рухливість сперматозоїдів при використанні розбавлювача з лактином (0,012—0,025 г) була на один бал вищою, ніж у середовищі без лактину, і становила 4,75±0,16 бала (P<0,001). При визначенні абсолютного показника виживаності сперматозоїдів установлено, що цей показник був вищим на 12,5—43,2% у середовищі з лактином.

Таким чином, при введенні до складу розбавлювача сперми лактину відбувається стимуляція рухливості сперматозоїдів, при цьому активацію статевих клітин відмічено при додаванні лактину в середовище у концентрації 0,012—0,025 г. Більша та менша кількість препарату неефективна. Негативного впливу на запліднення тварин не встановлено.

Використання запропонованого розбавлювача забезпечує порівняно з існуючим збереження високого рівня рухливості сперматозоїдів, придатних для штучного осіменіння; збільшення життєздатності статевих клітин та зниження собівартості осіменіння.

Висновок. Додавання лактину до розбавлювача у зазначених дозах є ще одним ефективним джерелом підвищення якості сперми бугаїв-плідників м'ясних порід.

Інститут м'ясного скотарства УААН

УДК 636.2.034.082.453.52

В.В. ШАПІРКО

МІНЛИВІСТЬ ОЗНАК СПЕРМОПРОДУКЦІЇ ТА ЗАПЛІДНЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ СПЕРМАТОЗОЇДІВ БУГАЇВ М'ЯСНИХ ПОРІД

Високий ступінь мінливості продуктивних ознак великої рогатої худоби — запорука великої ефективності їхнього добору.

Методом варіаційної статистики даних зоотехнічного обліку щодо оцінки спермопродукції та запліднювальної здатності сперматозоїдів бугаїв абердин-ангуської, герефордської та шаролезької порід досліджено рівень фенотипної мінливості показників їхньої відтворної здатності та здійснено порівняння.

Вікова динаміка об'єму еякуляту та числа сперматозоїдів у ньому демонструє загальну тенденцію підвищення їхнього рівня до 73—84-річного віку бугаїв і утримання майже на однаковому рівні до кінця племінного використання. Породні відмінності вікових змін показників об'єму еякуляту і числа сперматозоїдів у нативній спермі полягали у різному рівні їх та неоднакових змінах. Так уже у віці 13—24 міс. найбільший середній об'єм еякуляту та числа сперматозоїдів у ньому мали бугаї шаролезької породи. У бугаїв герефордської породи ці показники у такому віці становили 94 і 99 %, абердин-ангуської — 81 і 90 % показників шаролезької породи. При цьому максимального рівня (4,04 мл і 4,32 млрд.) абердин-ангуси досягли у віці 73—84, а герефорди (4,68 мл і 4,74 млрд.) — у 97—108 міс. Шаролезькі бугаї свого максимуму (4,55 мл і 4,42 млрд.) кількісних ознак спермопродукції набули (61—72 міс.) у наймолодшому віці.

Виявлено раннє становлення і незначні зміни упродовж

© В.В. Шапірко, 2001

періоду використання бугаїв піддослідних порід показника концентрації сперматозоїдів у нативній спермі. Збільшення концентрації гамет у період 24—36 міс. становило 0,13 (14,5 %), 0,07 (7,37 %) і 0,03 (2,91 %) млрд./мл відповідно у абердин-ангуській, шаролезькій та герефордській породах. Вміст сперматозоїдів у 1 мл сперми бугаїв абердин-ангуської породи, маючи найнижче значення у віці 13—24 міс., прирівнюється до показників двох інших порід уже в наступний період і незначно зростає до максимальних значень у віці 73—84 міс. Герефордські бугаї відзначаються найвищою концентрацією гамет в еякуляті у період 13—60 міс., їх перевершують за цим показником лише 73—84-місячні абердин-ангуси. Рівень концентрації сперматозоїдів у спермі шаролезьких бугаїв, крім періоду 13—24 міс., є найнижчим серед бугаїв порід, які порівнювалися.

Рухливість сперматозоїдів у свіжоотриманій спермі бугаїв, допущеній до заморожування, — більш стабільний показник спермопродукції бугаїв м'ясних порід. Зміни оцінок рухливості гамет із періоду в період становлять 0,01—0,12 бала (0,11—1,38 %) у шаролезькій, 0,03—0,25 бала (0,35—2,93 %) у герефордській та 0,03—0,27 бала (0,34—3,13 %) в абердин-ангуських породах. Виявлено найбільшу активність руху сперматозоїдів в еякуляті абердин-ангусів. За середнім рівнем цієї ознаки у відповідному віці їм незначно (0,02—0,12 бала) поступаються бугаї шаролезької породи. Показники рухливості статевих клітин бугаїв герефордської породи менші на 0,03—0,35 бала від одновікових показників шаролезьких бугаїв.

За середніми показниками запліднювальної здатності сперматозоїдів від першого осіменіння виявлено перевагу в усі вікові періоди бугаїв абердин-ангуської породи над герефордами (1,33—8,40%) і шароле (0,71—9,65%). Показники запліднювальної здатності статевих клітин бугаїв герефордської породи були на 1,25—6,60 % вищими від аналогічних у шаролезьких бугаїв в усі періоди, крім одного (85—96 міс.), коли за своїм максимумом (73,1 %) і абердин-ангусів (на 1,11 %), і герефордів (2,55 %) перевершували шароле. Період прояву найвищого рівня запліднювальної здатності гамет бугаїв усіх

порід при першому осіменінні — 85—120 міс. Нами не простежується чіткої вікової тенденції у змінах цього показника трьох піддослідних порід, але наявно помітно міжпородні відмінності. Звичайно, високий середній рівень показників сперми в старшому віці — це, деякою мірою, результат багаточисленного добору бугаїв за відтворними якостями.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.2.11/633.11

А.О. ТРОФИМЕНКО, А.Г. ТАРАНЕНКО

ФЕНЕТИКА ГАМЕТ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

Різнотиповість гамет ссавців характеризується, як відомо, чіткою особливістю типових форм для представників відповідного виду. Досить конкретними є відмінності за формою, розмірами, властивостями руху *in vitro*, будовою білків, ДНК й ін. Небагато з цих характеристик було відомо ще Спаланцані. Поступове збагачення знань з відкриттям фенотипних особливостей статевих клітин тварин остаточно довело реальність їхньої різноманітності, яка представлена індивідуальною, груповою та міжвидовою характеристиками. Елементарною формою, в якій оцінюється різноманітність гамет, є генетична; мутації та комбінації гаплоїдних хромосом. Генетичні зміни в гаметах, з одного боку, характеризують відповідні норми реакцій статевих клітин на діючі внутрішні фактори самої клітини і, з іншого, — зовнішні, до яких адаптується клітина. Ця форма і є основою фенотипного поліморфізму гамет. У кожної особини процес статевого розмноження організмів збагачує генетичний поліморфізм від генерації до генерації новими генетичними комбінаціями.

© А.О. Трофименко, А.Г. Тараненко, 2001

Концентрація генних змін у гаметах при панміксії збільшується доти, доки це не "гальмується" заплідненням. Це означає біологічну обмеженість поліморфізму сперміїв та яйцеклітин сільськогосподарських тварин. Отже, запліднення порушує прогрес генетичної і модифікаційної різноманітності гамет. Поліморфізм стає виродженим.

Внутрішньовидова вибірковість запліднення підтверджує позитивний вплив поліморфізму. В цьому плані є відомості про те, що змішана сперма зумовлює запліднюваність самок (у більшості видів сільськогосподарських тварин), підвищує плодючість маток та життєздатність плодів і різко знижує яловість та перегули [1]. Загальновідомі факти про те, що однією з найважливіших причин високого відсотка повторних осіменінь є рання ембріональна смертність (стадії зиготи, бластоцисти, ембріона й ін.), яка виникає внаслідок генетичної невідповідності гамет. Тому на практиці широко зарекомендував себе метод осіменіння змішаною спермою декількох плідників. Таким чином, у межах виду вірогідність запліднення прямо залежить від ступеня ідентичності гамет [2]. На це вказував у свій час ще Ч. Дарвін, стверджуючи, що "для запліднення яйця потрібен не один спермій" (як доводили відомі природознавці Нельсон, Ньюпарт, Беррі у 40—50-х роках XIX століття), а декілька, бо в цьому випадку плідна взаємодія яйця та спермія стає вищою. Значить, присутність різноманітного статевого матеріалу сперміїв має селективне значення у процесі запліднення.

Однак такі фактори, як спорідненість біохімічних радикалів сперміїв і яйцеклітин, швидкість руху сперміїв у статевому середовищі та здатність останніх протидіяти дії статевих секретів матки мають випадковий характер. Ця випадковість означає, що всі спермії мають рівні шанси на запліднення яйцеклітини будь-якої із самиць. Фактично ж процес злиття першоядер сперміїв та яйцеклітин у природі не абсолютно випадковий. Диференціальне злиття статевих клітин стабілізується таким чином, що сприяє утворенню життєздатних зигот, розвитку та виживанню нащадків до статевозрілого

стану, в якому останні самі здатні відтворювати повноцінні гамети. А відтак невипадковість становить еволюційну перевагу для виду. Зміни різноманітності гамет від покоління до покоління створюють можливість запліднення і навіть призводять до змін певних генотипів у популяції. Тому в кожного виду спадково закріплені межі варіацій гамет, які забезпечують основну властивість виду — відтворення [3]. Будь-який представник виду має відхилення виду в селективних перевагах. У природному відборі організмів можна виокремити відбір на рівні гамет (гаметичний відбір), завдяки якому проходить диференціальне відтворення особин за факторів генетичних відмінностей гамет. У чоловічих особин, в еякулятах яких вірогідність появи, наприклад, "стерильних сперміїв" — достатньо висока, утворення різних гамет має еволюційне значення. Напевно, ця біологічна адаптація відігравала найбільшу роль для генотипів плідників, спермії яких характеризувались широким спектром запліднювальної здатності. Це гарантувало здатність сперміїв протистояти великій кількості різних шоків (хімічних, фізичних). Процес еволюції поглинав зміни гамет, які були пов'язані з перетворюваннями хромосомного набору. Тому перетворення розвивалися з великим пороговим ефектом та утримувалися в певних межах, тобто зберігалася стабільність. У генетичному відношенні, можна сказати, що встановлювалася норма реагування гамет на середовище. Дані спеціальної літератури вказують, що спермії миші, наприклад, мають хромосому, в якій розміщується один з алеломорфів t-серії, і тому значно довше зберігаються в статевому тракті самиць, ніж інші спермії з популяції клітин еякуляту. Останнє краще забезпечує генетичну норму життєдіяльності сперміїв, запліднюваність та відповідно швидку розповсюдженість особин t-серії, ніж з диким типом (DUNN L.S.). A.C. Stevenson [4] вказує на те, що спермії з Y-хромосомою у людини володіють більшими потенційними можливостями активного запліднення яйцеклітин. Спермії, що несуть X-хромосому, поступаються в цьому відношенні Y-сперміям (C.F. Traser) [5]. Наші дослідження в цьому плані показують,

що у великої рогатої худоби після першого плідного осіменіння народжується більше бичків (1460), ніж теличок (1124); (n=2584). Але відмінності, з точки зору реакції "X" та "Y" спермиїв у складному запліднені, не є безсумнівними. Відомо, що у дрозофіл деякі аутосомні гени діють дуже рано, що призводить до дегенерації спермиїв з Y-хромосомою. Якби вдалося штучно створити біологічні засоби, які викликають зменшення рухливості або інших властивостей спермиїв з мутантними генами, можна було б не тільки розв'язати проблему регуляції статі, але також і значно знизити частоту розповсюдження небажаних генотипів тварин. Напевно, зміна реагування окремих клітин організму в природі зумовлюється закономірностями всього організму, всієї живої системи. У цій системі існують взаємні відношення ознак не менш закономірні, ніж взаємодії генів. Наприклад, зміни обміну речовин в організмі, які контролюються поодинокими генами, можуть змінити контроль за фенотипним виразом сотень ознак, що визначаються полігенною структурою гаметичного геному. Все це відбувається завдяки наявності внутрішніх зв'язків не тільки між генами, але й між фенотипними наслідками генів, тобто між окремими ознаками. Кожна гамета відповідного представника виду характеризується біологічною комбінацією фенів. Дослідивши закономірності, за якими поєднуються фени, можна дати наступну видову характеристику фенетики гамет:

- за розмірністю (вагова, об'ємна та лінійна);
- за морфологією (топографія, будова);
- за фізичними фенами (швидкість руху, експозиція зберігання поза організмом, резистентність, життєздатність й ін.);
- за біохімічними ознаками (кількісні та якісні відмінності складів білків нуклеотидів ДНК, гістонів і мікроелементів);
- за цитологічними фенами (світлопереломлення у фазовому контрасті, диференційне світіння в люмінесцентному мікроскопі, несприятливість до фарбування звичайними барвниками, мікроанатомія та форма клітин);

• за фізіологічними ознаками (відмінність гліколізу, обміну речовин);

• за генетичними ознаками (домінантні або рецесивні гени, мутації).

Різноманітність фенів розглядається для виділення елементарних залежностей (фенотипних кореляцій) у різних генотипів, у різні вікові періоди у різних родин, ліній, порід та видів однакових і неоднакових генотипів тварин. Різноманітність фенів має складну структуру, оскільки для такої клітинної популяції, як гамети, основною особливістю є взаємодія їх із середовищем. Різноманітність нативних фенів (поліморфізм) гамет пов'язується з низкою біологічних закономірностей, які можна аналізувати в біологічній системі. Стійкі стани цієї системи слід розглядати на різних стадіях сперміо- та оогенезу.

1. *Матвиенко Д.В.* Осеменение маток сельскохозяйственных животных смесью семени нескольких производителей // Животноводство. — 1955. — № 3. — С. 97—101.

2. *Утина М.И.* Природная половая сочетаемость — основа подбора родительских пар в овцеводстве // Вестник ветеринарии. — 1998. — № 2. — С. 24—27.

3. *Файзулин Р.А.* Оплодотворяющая способность хряков // Вісник аграрної науки. — 1997. — № 11. —С. 24—25.

4. *A.C. Stevenson.* Proc. Roy. Med / 54. 10. 897. — 899, 1961.

5. *C.F. Traser.* American j. Med. 34.5. 585—593, 1963.

Національний аграрний університет

УДК 575:57.089.67:591.32:599

В.Є. КУЗНЄЦОВ

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЙ У ТВАРИННИЦТВІ ТА МЕДИЦИНІ В УКРАЇНІ

В історичному аспекті в біотехнології розрізняють традиційний і новий напрями. Останнім часом з'явився термін "новітні біотехнології".

До традиційного напряму, зокрема, відносять мікробіологічне виробництво різних речовин (білків, амінокислот, ферментів тощо), штучне осіменіння сільськогосподарських тварин, трансплантацію ембріонів реципієнтам (схеми МОЕТ — multiple ovulation and embryo transfer).

До нової біотехнології відносять клітинну і генетичну інженерію, наприклад створення гібридом для біосинтезу моноклональних антитіл (діагностика вірусних і бактеріальних антигенів), одержання химерних ембріонів з половинок зародків різного походження, одержання зародків ссавців методом запліднення *in vitro* ооцитів, клонування тварин методом пересадження ядер у цитопласти, отримання трансгенних мікроорганізмів та тварин тощо.

До новітніх біотехнологій відносять одержання зародків ссавців *in vitro* методом мікроін'єкції поодиноких сперматозоїдів, сперматид, сперматоцитів в ооплазму ооцитів, визначення статі зародків до їхнього пересадження реципієнтам за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) або методу флуоресцентної *in situ* гібридизації хромосом із ДНК-зондами (fluorescence *in situ* hybridization — FISH), розподіл чоловічих гамет на сперматозоїди, що несуть Х- або У-хромосому, за кількістю ДНК за допомогою проточної цитометрії при проходженні сперміїв крізь лазерний промінь, одержання і культивування *in vitro* клітинних ліній (ембріональних стовбурових клітин, ліній соматичних клітин плодів, новонароджених та дорослих тварин), клонування зародків і тварин методом пересa-

© В.Є. Кузнєцов, 2001

дження ядер, отримання трансгенних тварин, ДНК-технології. Серед останніх привертають увагу ДНК-технології, спрямовані на одержання *in vitro* рекомбінантних ДНК для введення трансгена у геном реципієнта, а також ДНК-технології, що дають змогу одночасно проаналізувати велику кількість локусів — ДНК-фінгерпринтинг, варіанти полімеразної ланцюгової реакції (наприклад, RAPD-PCR, ISSR-PCR).

Досягнення біотехнологій дадуть можливість значно підвищити ефективність відтворення і селекції сільськогосподарських тварин. Нині без використання досягнень сучасної біотехнології неможливо серйозно говорити ні про створення нових (або удосконалення існуючих) порід тварин, ні про швидке розмноження видатних фенотипів, ні про оцінку отриманих тварин. Саме біотехнології можуть найближчим часом кардинально розв'язати проблему отримання у достатній кількості якісних продуктів тваринництва.

Розгляньмо лише деякі приклади можливого (і необхідного) широкого застосування біотехнології у тваринництві.

Однією із перспективних методик щодо використання великої кількості жіночих статевих клітин генетично цінних корів і телиць є прижиттєве нехірургічне вилучення (двічі на тиждень без гормональної обробки донорів) незрілих ооцитів методом трансвагінальної пункції антральних фолікулів під контролем ультразвуку (OPU — ovum pick-up). Методика OPU у поєднанні з методикою дозрівання і запліднення *in vitro* ооцитів забезпечує отримання від одного донора значно більше зародків і телят, ніж у схемах МОЕТ. Ця біотехнологія є більш дешевшою, ніж отримання ембріонів у схемах МОЕТ. Вона успішно використовується для швидкої оцінки бугаїв за якістю нащадків, забезпечує значне скорочення генераційного інтервалу та істотно впливає на ефективність селекції, відчутно підвищує роль материнського фактора в селекційному процесі порівняно із штучним осіменінням тварин та МОЕТ.

Слід відмітити, що у медицині методика запліднення яйцеклітин людини *in vitro* (екстракорпоральне запліднення) досягла значно більшого розповсюдження. Все більш широке

застосування в медицині знаходить мікроін'єкція поодиноких сперматозоїдів в ооплазму дозрілих ооцитів (ICSI — intracytoplasmic sperm injection). Ці методи ефективно використовуються для лікування чоловічого і жіночого безпліддя. Різновидом методики ICSI, яка передбачає використання еякульованих сперматозоїдів, є використання сперматозоїдів або сперматид, вилучених біопсією придатка сім'яника (MESA — microepididymal sperm aspiration) або сім'яника (TESA — testicular sperm aspiration).

У тваринництві застосування для одержання зародків *in vitro* сперматозоїдів з хвоста придатка сім'яника (свіжоотриманих, короткочасно збережених при близьконульових температурах та кріоконсервованих сперматозоїдів) дає змогу додатково використовувати цінний генетичний матеріал плідників (зокрема, бугаїв), які з ряду причин були вибракувані. Так саме у тваринництві знайде достатнє розповсюдження і методика ICSI, що дасть можливість використовувати сперматозоїди від генетично цінних бугаїв з недостатньою для штучного осіменіння кількістю сперматозоїдів. До того ж методика ICSI дає змогу відбирати морфологічно нормальні сперматозоїди, і поки саме ця методика може забезпечити використання відселекційованих за кількістю ДНК "чоловічих" та "жіночих" спермій для одержання потомства бажаної статі.

Необхідно зазначити, що вже тепер розподіл чоловічих гамет на Х- і У-сперматозоїди у скотарстві та свинарстві за кількістю ДНК є досить ефективним (90%), а цілеспрямоване отримання, наприклад, бугайців для племпідприємств, а теличок для товарних господарств має, як відомо, велике значення у тваринницькій галузі.

За бажанням пацієнтів у деяких провідних медичних інститутах та біотехнологічних центрах за допомогою FISH- або ПЛР-методів визначають стать зародків до їхнього пересадження з метою отримання потомства бажаної статі. Все ширшого розповсюдження набуває і методика визначення статі зародків у сільськогосподарських тварин перед їхньою трансплантацією реципієнтам.

Доцільно додати, що методика запліднення ооцитів *in vitro* становить великий інтерес ще і тому, що вона дає можливість здійснити діагностику генетичних захворювань або оцінку генотипу ще до трансплантації ембріона реципієнту, а це є новим кроком порівняно з пренатальною діагностикою. Наприклад, у медицині в деяких інститутах та провідних біотехнологічних центрах проводять доімплантаційну генетичну діагностику (PGD — preimplantation genetic diagnostic), метою якої є отримання генетично здорових дітей. Це здійснюється шляхом виявлення в ооцитів (аналіз першого та другого полярного тілець) або у ранніх зародків (аналіз відокремленого бластомера) хромосомних аберацій (анеуплоідії, транслокації тощо) за допомогою FISH-методу та генних порушень, наприклад гена таласемії (спадкової генетичної анемії, яка характеризується порушенням синтезу глобіну) за допомогою ПЛР-аналізу. Немає сумнівів, що преімплантаційна генетична діагностика відкриває великі можливості її різноманітного застосування не тільки у медицині, але й у тваринництві.

Одержання генетично ідентичних монозиготних близнят у тваринництві методом мікрохірургічного поділу морул-бластоцист на половинки, четвертинки та на 1/8, або поділ більш ранніх зародків на окремі бластомери з наступним культивуванням їх *in vitro*, сприяє істотному збільшенню кількості потомства (зокрема, у великої рогатої худоби, овець, свиней), одержаного з одного ембріона або донора, та відкриває унікальну можливість використання близнят у дослідженнях "генотип-середовище". У великої рогатої худоби ймовірність отримання спонтанних монозиготних близнят становить менше 0,2%, тоді як при мікрохірургічному поділі пізніх морул і бластоцист кількість телят від одного донора збільшується практично без додаткових затрат не менш як на 60—70%.

Величезний потенціал у тваринництві має методика клонування ембріонів та тварин методом пересадження ядер у цитопласти. Це, насамперед, методика множинного клонування ембріонів методом серійних пересаджень ядер, використання для пересадження ядер ембріональних стовбурових клітин, со-

матичних клітин плодів і тварин. Отримані таким способом клони знайдуть широке застосування в селекційних програмах для швидкого розмноження кращих тварин, у тому числі з уже відомим фенотипом, забезпечать більш точну і дешеву оцінку плідників за генотипом; поряд з цим схрещування спеціалізованих клонів між собою сприятиме проявленню ефекту гетерозису. Особливого значення набуває можливість отримання у тваринництві великої кількості генетично ідентичних трансгенних клітин, зародків і тварин (клонів) для їхнього використання як у тваринництві, так і медицині.

Клонування, окрім прикладних аспектів, відкриває нові шляхи для фундаментальних досліджень. Наприклад, за висновками ряду американських дослідників, які спостерігали за шістьома клонованими теличками, клонування знижує темпи клітинного ділення порівняно із звичайними ровесницями. У медицині великі надії покладають на терапевтичне клонування — отримання ліній стовбурових клітин і їхне використання для наступного одержання тканин та органів.

Біотехнологія отримання трансгенних тварин дасть можливість, зокрема, вивчати тканиноспецифічну регуляцію експресії генів. Також біотехнологія відкриває широкі перспективи для розвитку різних прикладних напрямів. Крім отримання тварин із швидким ростом, стійких проти захворювань, якісної продукції (наприклад, пісного м'яса), привертає увагу одержання так званих тварин-біореакторів — трансгенних сільськогосподарських тварин, отриманих з ембріонів, що містять ген людини (наприклад, гени альфа-1-антитрипсину, фактора зсідання крові IX) і разом з молоком (вівці, кози, корови, свині, кролі) виділяють фармацевтичні білки для виробництва лікувальних препаратів.

Останнім часом проводяться роботи з одержання трансгенних лабораторних тварин, як моделей різних аномалій і патологій людини. Так були одержані миші з боковим аміотрофічним склерозом і щурі із підвищеним артеріальним тиском. Такі тварини є також цінним інструментом для випробування нових медичних препаратів.

Прогрес у селекції і розведенні сільськогосподарських тварин неможливий без використання молекулярно-генетичних маркерів, створених, насамперед, з використанням ПЛР. Саме із застосуванням ДНК-маркерів можна проаналізувати поліморфізм ДНК, виявити генетичну структуру порід, виконувати роботи з пошуку асоціацій між молекулярно-генетичними маркерами генів і деякими ознаками продуктивності тварин (наприклад, доведено, що з молока корів з ВВ-генотипом капа-казеїну отримують сири з більш високим вмістом білка). Велике значення ДНК-технології мають і для виявлення патогенів та носіїв шкідливих мутацій (наприклад, рецесивної мутації імунодефіциту — BLAD, *bovine leukocyte adhesion deficiency,* яка полягає у дефіциті адгезивності лейкоцитів у тварин голштинської породи, мутації в RYR-1 гені в популяціях свиней м'ясних генотипів, яка зумовлює проявлення стрес-синдрому у тварин).

Слід відмітити, що в Україні у деяких установах НАНУ та УААН на високому рівні проводяться дослідження з новітніх біотехнологій (клонування, трансгенезу, отримання зародків *in vitro* з використанням мікроманіпуляційної техніки, виявлення поліморфізму ДНК та ін.). Однак унаслідок вкрай недостатнього фінансування наукових робіт, відтоку кращих наукових кадрів у інші країни та комерційні структури, Україна поступово втрачає свої позиції в біології (і це у країні, де на світовому рівні здійснювалися важливі наукові дослідження із загальної та молекулярної біології, прикладом чого, зокрема, є і відкриття світового значення професора І.В. Смирнова щодо збереження життєздатності сперматозоїдів кролів, баранів і бугаїв після їхнього зберігання при наднизьких температурах). Відновити ж науковий потенціал (кадри, обладнання, методики, технології, ставлення до праці тощо) буде вкрай важко. Для запобігання цим негативним наслідкам необхідно, нарешті, зробити загальновідомі висновки щодо національної політики в науці.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 591.15.16

Л.В. ГОРБУНОВ, М.Д. БЕЗУГЛИЙ

РОЗРОБКА ЕФЕКТИВНИХ ТЕХНОЛОГІЙ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СТАТЕВИХ КЛІТИН ТА ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ У ШИРОКОМУ ДІАПАЗОНІ ШВИДКОСТЕЙ ЗАМОРОЖУВАННЯ

Усі відомі методи використання яйцеклітин і ембріонів у біотехнології спрямовані на отримання живих нащадків, що потребує запасу пластичного матеріалу на кожному з технологічних етапів. Єдиний надійний шлях до створення таких запасів — це заморожування і зберігання біологічних об'єктів при низьких температурах.

Широко розповсюджені в Україні способи практичної кріоконсервації засновані на повільних режимах заморожування, тоді як за кордоном у передових країнах всебічно розробляються та впроваджуються технології вітрифікації біооб'єктів. Тепер перед нами постає проблема вибору найбільш перспективної, дешевої та доступної технології низькотемпературної консервації. Однак з існуючого різноманіття методів кріоконсервації генетичного матеріалу, заснованих на застосуванні повільних, високих та надвисоких швидкостей заморожування, жоден не дає змоги досягти високого рівня збереження деконсервованого біооб'єкта за умови відносної простоти та надійності його реалізації.

Проблема вибору пріоритету подальшого розвитку перспективних технологій кріоконсервації біологічного матеріалу потребує проведення порівняльного аналізу двох альтернативних методів. Перший з них заснований на застосуванні повільних швидкостей заморожування, а другий — на високих. Позитивними рисами першого методу порівняно з

© Л.В. Горбунов, М.Д. Безуглий, 2001

другим є більш високий рівень збереження ооцитів та ембріонів, а недоліком — його низька технологічність.

Поліпшення технології кріоконсервації, заснованої на застосуванні повільних швидкостей заморожування, можливе за допомогою використання пасивного охолодження термоблока в горловині посудини Дьюара (B_3, const) (М.Д. Безуглий, Л.В. Горбунов, 1998). Запропонований пристрій дає можливість реалізувати різноманітні режими заморожування статевих клітин та ембріонів за допомогою зміни характерного часу охолодження термоблока і занурення його на різні рівні в горловину посудини Дьюара Х34-Б. Успішне використання розробленого заморожувача дало змогу визначити оптимальні параметри його застосування на базі посудини Х-5. Контроль і підтримка температури здійснюються за допомогою позистора СТ-17—380 Ом з точністю до 2 °С.

З метою перевірки працездатності запропонованого пристрою ми заморозили ембріони миші, рівень збереженості яких становив 94% (n = 30/32). Високий рівень збереженості заморожено-відталих ембріонів миші свідчить про можливість застосування запропонованого пристрою як у лабораторних, так і в польових умовах, до яких варто віднести широку варіацію навколишньої температури, процес транспортування та відсутність електроенергії.

Збільшення рівня збереженості деконсервованих репродуктивних клітин можливо реалізувати шляхом підвищення швидкостей заморожування — відтавання (Vajta et al., 1998). У нашому центрі запропоновано метод кріоконсервації ооцитів і ембріонів ссавців, заснований на використанні надвисоких швидкостей теплообміну (Л.В. Горбунов, И.А. Морозова, Н.Д. Безуглый, 2000). Як контейнер для середовища, що містить біооб'єкт, використовують закриті капіляри із зовнішнім діаметром 1,8; 1,0; 0,5; 0,3 мм. Заморожування здійснюють за допомогою прямого занурення капілярів у рідкий азот, а відтавання — у водяну баню, нагріту до температури 40 °С, із застосуванням магнітної мішалки для перемішування теплоагента. Швидкості заморожування (відтавання) дорівнюють 28 (42) °С/с; 104 (126) °С/с; 198 (216) °С/с і 320 (380) °С/с відповідно.

Запропонований метод вітрифікації ооцитів і ембріонів ссавців дає можливість підвищити рівень збереженості деконсервованих біооб'єктів порівняно з існуючими розробками. Характерною рисою даного методу є використання оптимального співвідношення величин швидкостей відтавання до заморожування, завдяки чому можна уникнути процесу рекристалізації при розморожуванні, а також зменшити концентрацію кріопротектора та його токсичну й осмотичну дію на біооб'єкт.

Вважаємо, що подальше удосконалення технологій кріоконсервації біоматеріалу варто проводити в трьох напрямах. Перший реалізується шляхом зневоднення клітин. Другий засновується на осклянінні поза- та внутріклітинного середовищ. Третій — будується на спільному впливі дегідратаційних і вітрифікаційних ефектів, що відбуваються усередині клітин. Таким шляхом об'єднуються позитивні якості та нівелюються недоліки поданих вище методів.

Прискорити розв'зання існуючої проблеми можливо за допомогою проведення не тільки емпіричних, але й теоретичних досліджень. Для кількісного опису залежності рівня збереженості деконсервованого біооб'єкта від ступеня кристалоутворення внутріклітинного середовища нами вирішуються такі завдання, як розробка методу кількісної оцінки життєздатності статевих клітин і ембріонів та визначення критичних зон і гранично припустимих рівнів можливості поза- та внутріклітинного кристалоутворення залежно від виду, складу і концентрації застосованих кріопротекторів при заданих швидкостях заморожування-відтавання. Для цього ми створили метод кількісного визначення можливості кристалоутворення середовища при високих швидкостях теплообміну та отримали способи реєстрації температури і швидкості її зміни в широкому діапазоні.

Застосовуючи розроблений термокондуктометричний метод, визначили імовірності кристалоутворення розчинів гліцерину з концентраціями 0, 10 і 30% [V/V], приготовлених на

PBS та заморожених з різними швидкостями — 0,1, 27 і 30 °С/с. Імовірності кристалоутворення становили 98,9; 92,5; 20% відповідно для кожної із зазначених вище груп.

Також нами був апробований новий спосіб калібрування термодатчиків, які застосовуються в різних схемах виміру температури. Максимальна точність вимірювання температури в діапазоні від +50 до —196 °С реалізується за допомогою калібрування термодатчиків при використанні рівнянь, що описують залежність їхніх електропровідних властивостей від температури по трьох реперних точках, за умови контролю температури в даних точках із заданою точністю. Абсолютна (відносна) похибка визначення температури для всіх типів термодатчиков становить від 50 до 0 °С — 0,5 °С (1%) і від 0 до 200 °С — 2 °С (1,1%) відповідно.

Для розробки нової технології, заснованої на об'єднанні позитивних якостей альтернативних методів кріоконсервації, необхідно вивчити вплив характеру зміни швидкості заморожування в діапазоні температур, який визначає активний ріст позаклітинних кристалів на рівень збереження деконсервованого біооб'єкта. Нами висувається гіпотеза, що застосування прискореного режиму заморожування може бути основою розробки нових технологій. Особливістю запропонованого режиму є зниження згубності дегідратаційно-вітрифікаційних процесів порівняно з існуючими технологіями. Висока початкова швидкість заморожування в позитивному і негативному діапазонах температур дає можливість подолати критичну зону згубного впливу зростаючої концентрації солей і кріопротектора в результаті виморожування води. А температурне витримування у зоні температур –25 ÷ –32 °С дасть змогу зневоднити біооб'єкт до необхідного стану і тим самим не допустити росту внутрішньоклітинних кристалів. Розраховуємо, що пряме занурення біооб'єкта після такої обробки у рідкий азот виключить можливість внутрішньоклітинного кристалоутворення, завдяки чому можна реалізувати високий рівень збереженості за високого ступеня технологічності процесу кріоконсервації.

Харківський біотехнологічний центр

УДК 591.15.16

Л.В. ГОРБУНОВ, І.А. МОРОЗОВА

ВИЗНАЧЕННЯ КРИТИЧНОЇ ЗОНИ КРИСТАЛОУТВОРЕННЯ ВНУТРІКЛІТИННОГО СЕРЕДОВИЩА У ЕМБРІОНІВ МИШІ ПРИ ВИСОКИХ ТА НАДВИСОКИХ ШВИДКОСТЯХ ЗАМОРОЖУВАННЯ-ВІДТАВАННЯ

Запобігання внутріклітинному кристалоутворенню є провідним фактором, який визначає отримання життєздатного деконсервованого біооб'єкта, а отже і ефективність проведення наступних біотехнологічних операцій. Мінімальна величина концентрації еквілібруючого (внутріклітинного) розчину кріопротектора повинна бути приблизно на половину менше величини концентрації загального вітрифікаційного (позаклітинного) розчину кріопротектора. Для підтвердження вірності нашого припущення було вітрифіковано ембріони миші у пластикових капілярах, що мали різний діаметр: 1,8; 1,0; 0,5; 0,3 мм. Заморожування здійснювалося прямим зануренням капілярів у рідкий азот, а відтавання — розміщенням їх у водяній бані при температурі 40 °С з використанням магнітної мішалки для перемішування теплоагента. Заморожування-відтавання капілярів, які мали діаметр 0,5 та 0,3 мм, проводилося у термозахисних чохлах з метою уникнення процесу рекристалізації при перенесенні контейнерів з рідкого азоту у водяну баню. Швидкість заморожування-відтавання визначали за допомогою обліку інтенсивності електропровідності для 65%-го розчину гліцерину.

Ембріони поділили на чотири групи по тридцять у кожній, які відповідали кожному з типів обраних капілярів. Швидкості заморожування (відтавання) становили 28 (37) °С/с; 109 (140) °С/с; 205 (230) °С/с та 320 (380) °С/с відповідно для кожної групи.

© Л.В. Горбунов, І.А. Морозова, 2001

Концентрація внутріклітинного (позаклітинного) кріопротектора була відповідно 25% Gl (50% Gl); 20% Gl (40% Gl); 15% (30%Gl); 10% Gl (20% Gl). Рівень збереження деконсервованого біооб'єкта дорівнював за групами відповідно 56,6% (17/30); 63,3% (19/30); 70% (21/30); 83,3 % (25/30).

Отримані дані підтверджують правильність нашого припущення відносно залежності мінімальної імовірності кристалоутворення внутріклітинного середовища від характеру позаклітинного кристалоутворення, який, у свою чергу, залежить від величини концентрації, складу та виду кріопротекторів, а також швидкостей заморожування-відтавання. Це дає змогу застосовувати запропоновану нами раніше аналітичну залежність вибору мінімальної концентрації еквілібруючого і вітрифікаційного розчинів для оптимізації технології кріоконсервації ооцитів та ембріонів ссавців у діапазоні високих і надвисоких швидкостей заморожування-відтавання (Л.В. Горбунов, І.А. Морозова, 1998).

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.4.082:57.08

Г.Г. ТРОХИМЕНКО, М.Д. БЕЗУГЛИЙ

ВИВЧЕННЯ ПРОНИКНОСТІ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ООЦИТІВ СВИНІ ДО КРІОПРОТЕКТОРІВ

Успішне заморожування біологічного матеріалу залежить від багатьох чинників, таких як співвідношення швидкостей заморожування-відтаяння (з урахуванням виду біооб'єкта), складу середовища, типу та концентрації захисної речовини. Незважаючи на те, що для ембріонів свині деяких стадій розвитку вже існують шляхи вирішення проблеми кріоконсервації (Dobrinsky J., 1993, 1997), для ооцитів свині це питання досі ще залишається відкритим.

© Г.Г. Трохименко, М.Д. Безуглий, 2001

У даній роботі вивчали проникність цитоплазматичних мембран до диметилсульфоксиду (ДМСО) та гліцерину, визначали коефіцієнти проникності та середній час осмотичної реакції в розчинах цих кріопротекторів. Дослідження проводили за допомогою напівавтоматичної установки для вивчення осмотичної реакції зародків ссавців. Ооцити отримували з яєчників забитих корів та проводили їхню морфологічну оцінку. Біооб'єкт занурювали спочатку в ізотонічний розчин середовища Дюльбекко, фіксували зображення на ПЕОМ, а потім переносили до 1,2 М розчину кріопротектора. Протягом осмотичної реакції фіксували зміни площини перетину зародка у відповідні проміжки часу. Потім за допомогою спеціально розробленого програмного забезпечення крізь масив експериментальних даних, використовуючи фізико-математичну модель Кедема-Качальського та модель М.Д. Безуглого осмотичної поведінки клітин у розчинах речовин, що проникають у клітини, проводили розраховану криву, яка найменшим чином відхиляється від експериментальних значень. Далі обчислювали параметри проникності цитоплазматичних мембран до кріопротекторів, які характеризували цю криву.

Враховуючи різницю у часі осмотичної реакції та проникності до води та кріопротекторів, зміну відносного об'єму розбивали на два етапи. На першому етапі відбувалося швидке стискання клітин, зумовлене виходом води. На другому — повільне порівняно з першим етапом зрівноважування клітин за рахунок транспорту кріопротектора.

Об'єм клітин зменшувався до мінімального в розчині диметилсульфоксиду за 1,5 — 1,8 хв., а в розчині гліцерину — за 1,5 — 2 хв. Час зрівноважування об'єму клітини в 1,2 М розчинах ДМСО та гліцерину істотно відрізнявся. Якщо ооцити свиней відновлюють свій об'єм за 20—30 хв., то в розчині гліцерину це значення коливається від 3 до 3,5 год. Різниця у часі відновлення об'єму пояснюється різницею в розмірі молекул використаних кріопротекторів та різними механізмами транспорту крізь цитоплазматичні мембрани ооцитів свині. Аналіз зміни клітинного об'єму ооцитів свині при занурюванні в 1,2 М роз-

чинах гліцерину та ДМСО вказує на досить високу проникність цитоплазматичних мембран до ДМСО, яка може бути порівняна з водою. Гліцерин можна віднести до повільно проникаючих порівняно з водою речовин.

Удільна проникність до ДМСО в середньому становить $(0,66\pm0,08)\cdot10^{-3}$, а до гліцерину — $(0,34\pm0,01)\cdot10^{-5}$ см/хв. Характерний час транспорту для цих речовин коливається від декількох хвилин (для ДМСО) до годин (для гліцерину), що необхідно враховувати при розробці методів застосування кріопротекторів.

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.2.082.4:612.6.02

В.О. ДУДЧАК*

ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ТА ПРИЖИВЛЕННЯ ДЕКОНСЕРВОВАНИХ ЕМБРІОНІВ У ТЕЛИЦЬ

Одним із основних резервів збільшення виробництва продукції тваринництва є використання нових прогресивних біотехнологічних методів прискореного відтворення високопродуктивних тварин.

Однак, незважаючи на значні досягнення в біотехнології відтворення тварин, досі окремі питання залишаються недостатньо вивченими і потребують додаткових досліджень, зокрема впливу різних чинників на приживлення трансплантованих ембріонів у телиць-реципієнтів. Тому метою наших досліджень було вивчення впливу комплексу біологічно активних речовин, введених внутрішньом'язово реципієнтам, на

*Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук С.Г. Шаловило.

© В.О. Дудчак, 2001

функціональний стан репродуктивних органів та приживлення трансплантованих ембріонів.

З цією метою сформовано дві групи телиць-реципієнтів чорно-рябої породи: дослідну (n=50) і контрольну (n=48), віком 16—18 місяців, живою масою 360—380 кг.

В усіх тварин синхронізували охоту дворазовим введенням естрофану в дозі 0,5 мг клопростенолу з інтервалом 11 днів. Під час індукованої статевої охоти телицям дослідної групи внутрішньом'язово вводили комплексний препарат, до складу якого входили синтетичний аналог гонадотропін — рилізінг гормону (Гн—РГ), β-каротин, тирозин, унітіол, цинк, інозин, диметилсульфоксид (ДМСО).

На 7-й день синхронізованого статевого циклу проводили забій тварин по 6 голів з кожної групи і визначали висоту покривного епітелію, залозистого епітелію і кількість маткових залоз.

Усім іншим телицям у цей самий день проводили ректальне дослідження статевих органів, звертаючи увагу на наявність та якість жовтих тіл. За результатами дослідження провели пересадку деконсервованих ембріонів. Приживлення ембріонів оцінювали після 60-го дня з моменту трансплантації ембріонів.

Гістологічними дослідженнями слизової оболонки рогів матки піддослідних тварин встановлено значні відмінності між групами тварин по кількості маткових залоз на одиниці площі (табл.1). Так, якщо в слизовій оболонці телиць кон-

1. Гістоморфологія ендометрію рогів матки телиць-реципієнтів на 7-й день статевого циклу

Показники	Контрольна група, n = 6	Дослідна група, n=6	P
Кількість маткових залоз, шт.	3,27±0,27	4,57±0,41	0,025
Висота епітелію, мкм:			
маткових залоз	2991±135,3	3316±133,3	0,1
ендометрію	3966±144,2	4830±158,3	0,01

2. Приживлення ембріонів у реципієнтів після введення комплексу БАР

Показники	Контрольна група	Дослідна група
Відібрано і оброблено, гол.	42	44
Виявлено з жовтим тілом, %	27 — 64,3	34 — 77,3
Пересаджено ембріонів, шт.	27	34
Виявлено тільних реципієнтів, гол.	12	19
Приживлення ембріонів, %	44,4	55,9

трольної групи кількість маткових залоз на одиницю площі становила 3,27 + 0,27 шт., то у дослідній групі — 4,57 + 0,41 шт., що на 39,7 % вище порівняно з контролем.

Аналогічні відмінності між групами тварин спостерігалися і при вимірюванні висоти покривного епітелію слизової оболонки матки і епітелію маткових залоз. Так, висота епітелію слизової оболонки матки у дослідній групі на 21,8 % більша, ніж у контрольній групі тварин. Висота епітелію маткових залоз у дослідній групі на 10,9 % вища, ніж у контрольних телиць.

У результаті проведених досліджень у дослідній групі виявлено 34 телиці з жовтим тілом, що на 13,0% більше, ніж у контрольній (табл. 2). За результатами ректального дослідження на тільність після пересадки деконсервованих ембріонів рівень приживлення їх у дослідній групі становив 55,9%, що на 11,5% більше, ніж у контрольній групі тварин.

Введення біологічно активних речовин телицям під час охоти приводить до збільшення гістоморфологічних показників матки (кількість маткових залоз, висота епітелію слизової оболонки матки і епітелію маткових залоз), яке свідчить про посилення основних обмінних процесів у репродуктивних органах реципієнтів, що в кінцевому результаті підвищує приживлення деконсервованих ембріонів.

Інститут біології тварин УААН

УДК 636.92:636.22/28:57.08

О.І. ГАДЖІЄВ*

ЕНУКЛЕАЦІЯ ООЦИТІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ, ЯКІ ДОЗРІЛИ *IN VITRO* ДО МЕТАФАЗИ II

Основною метою клонування сільськогосподарських тварин методом ядерних пересадок є отримання більшої кількості генетично ідентичних потомків. Енуклеація яйцеклітин-реципієнтів відноситься до важливого і одного з найбільш трудомістких етапів клонування.

Існують різні способи енуклеації яйцеклітин ссавців: за допомогою ультрафіолетового опромінення, центрифугування (Wagoner E.J. et al., 1996), хімічний (Mahboubi A. et al., 1994) та найбільш поширений мікрохірургічний (Stice S.L. et al., 1994; Mohamed Nour M.S., Takahashi Y., 1999; Skrzyszowska M., Smorag Z., 1999). Суть мікрохірургічного методу полягає у видаленні хромосомного матеріалу клітини за допомогою скляних мікроінструментів.

Відомо, що цитоплазма яйцеклітин сільськогосподарських тварин, зокрема корів, не прозора завдяки наявності великої кількості ліпідних гранул, і це є основною перепоною енуклеації ооцитів. Під час енуклеації ооцитів, що дозріли до стадії метафази II мейозу, перше полярне тільце є показником перебування їх на цій стадії. Крім того, воно є маркером місця розташування метафазної пластинки. Тому під час енуклеації мікрохірургічним способом видаляють перше полярне тільце і суміжну з ним ділянку цитоплазми з мейотичним веретеном.

Перед маніпуляціями ооцити обробляють розчином цитохалазину В, який руйнує актинові мікрофіламенти і клітини стають більш пластичними. При видаленні метафазної пластинки ооцити фіксуються утримуючою мікропіпеткою лійкоподібно-

**Науковий керівник — доктор біологічних наук В.Є. Кузнєцов.*

© О.І. Гаджієв, 2001

го типу. Скляною мікроголкою робиться розріз прозорої оболонки клітин. Загострену мікропіпетку діаметром 25 мкм вводять через розріз у перивітелиновий простір ооцитів, не пошкоджуючи плазматичну мембрану і створюють від'ємний тиск. Перше полярне тільце і суміжна з ним ділянка цитоплазми з метафазною пластинкою всмоктуються в піпетку.

У наших попередніх дослідженнях цитогенетичний аналіз препаратів передбачуваних цитопластів, отриманих із ооцитів корів після дозрівання *in vitro* протягом 20—22 год., показав, що ефективність видалення хромосомного матеріалу ооцитів становить 66% (33/50).

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2:591.453.5

О.Є. ГУЗЕВАТИЙ, П.А.ТРОЦЬКИЙ

КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ООЦИТІВ КОРІВ З РІЗНИМ КУМУЛЮСОМ

Наукові розробки І.В. Смирнова, якого фахівці по праву вважають піонером методу глибокого заморожування статевих клітин плідників сільськогосподарських тварин, дали не тільки можливість вирішити проблему глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин, а й стали підґрунтям для розробок нових методичних підходів кріоконсервування репродуктивних клітин і ембріонів ссавців. Перші спроби заморозити гамети самиць були проведені A.U. Smith у 1952 р., проте з 600 яйцеклітин кролиць лише декілька не мали порушень після розморожування. Нині впевнено можна констатувати лише про успішне заморожування ооцитів лабораторних тварин (мишей, хом`яків), але є певні здобутки й при заморожуванні ооцитів інших видів ссавців, а саме овець, великої рогатої худоби і людини.

© О.Є. Гузеватий, П.А. Троцький, 2001

Причиною низької кріорезистентності гамет самиць ссавців (порівняно з гаметами самців) є їхні специфічні особливості: великий розмір (80—160 мкм), наявність прозорої оболонки, знижена проникність мембран до кріопротекторів, а також те, що ооцит-кумулюсний комплекс являє собою сукупність клітин, а не окрему клітину. Це дуже важливий аспект кріоконсервування гамет самиць, у тому числі й корів, враховуючи те, що для заморожування необхідно використовувати саме ооцит-кумулюсний комплекс, а не ооцит. Наявність кумулюсу після деконсервування є обов`язковим (при культивуванні він виконує роль живлення трофіка, ендокринного балансу та захисну дію), оскільки перед експериментатором стоїть завдання не тільки зберегти життєздатність даного біологічного матеріалу, а й щоб після розморожування і культивування гамети самиць дозрівали до метафази II мейозу. Враховуючи, що популяція ооцитів корів з антральних фолікулів гетерогенна за морфологічними ознаками і ця гетерогенність проявляється в особливостях структурованості ооплазми, наявності або відсутності клітин кумулюсу, різної їх оптичної щільності, метою наших досліджень було вивчення особливостей використання для заморожування ооцитів корів залежно від клітин кумулюсу, що їх оточують.

Ооцити корів з гомогенною, тонкозернистою ооплазмою, неушкодженою прозорою оболонкою залежно від характеристики оточуючих їх клітин кумулюсу розподіляли на 3 дослідні групи: А — ооцити із щільним багатошаровим кумулюсом. Частка таких за морфологічними ознаками клітин із загальної популяції ооцит-кумулюсних комплексів, придатних для культивування отриманих з 25 яєчників корів чорно-рябої породи методом надрізу видимих антральних фолікулів становила 144/740; 19,5%, кількість ооцитів, що були отримані з одного яєчника — від 2 до 12, в середньому — 5,8 — 2,2 клітин/яєчник; Б — ооцити з частково розпущеним кумулюсом і В — ооцити з декількома шарами щільного кумулюсу. Аналогічні показники для цих груп становили відповідно 241/740; 32,6% і 355/740; 47,9%, кількість клітин цих типів з одного

яєчника — від 5 до 16 та від 6 до 23, в середньому — 9,6 — 1,9 та 14,0 — 2,9 клітин/яєчник. Перед заморожуванням гамети корів переносили до еквілібраційного розчину, що складається з 10% гліцерину, 20% пропандіолу, 20% фетальної сироватки у фосфатно-сольовому буфері Дюльбекко. Еквілібрацію клітин проводили протягом 10 хв. при кімнатній температурі. Потім ооцит-кумулюсні комплекси переносили на 30 с у вітрифікаційний розчин (25% гліцерину, 25% пропандіолу, 20% фетальної сироватки у фосфатно-сольовому буфері Дюльбекко), попередньо охолоджений до +4°С, вміщували у 0,25 мл пластикові пайєти і занурювали у рідкий азот. Показник дозрівання до метафази II мейозу після деконсервування і 27 год. культивування в групах А, Б, В становив відповідно 55,3; 45,3 і 43,9%, а кількість клітин з дегенерацією хромосом — 25,6; 30,2 і 35,1%. У контрольній групі клітини не заморожували і аналогічні показники мали значення відповідно 78,0 і 10,0 %. Запліднення *in vitro* деконсервованих яйцеклітин корів з різним кумулюсом і подальше 96-годинне культивування виявили дроблення клітин у дослідних групах А, Б, В відповідно у 15,4; 10,3 і 8,8% випадках.

Таким чином, результати наших досліджень свідчать, що найбільш перспективними при використанні для заморожування є ооцити корів із щільним багатошаровим кумулюсом.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2 :578.083

С.І. КОВТУН

ВПЛИВ ВИДАЛЕННЯ СІМ'ЯНОЇ ПЛАЗМИ ПЕРЕД ЗАМОРОЖУВАННЯМ ЕЯКУЛЬОВАНИХ СПЕРМАТОЗОЇДІВ БУГАЯ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ОТРИМАННЯ ЗАРОДКІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ *IN VITRO*

Встановлено, що видалення білків сім'яної плазми є необхідною умовою для успішної капацитації сперматозоїдів *in vitro* тому, що плазма сперми, яка є сумішшю придаткових статевих залоз, містить у собі фактори (глікопротеїни), що перешкоджають капацитації сперматозоїдів та проходженню акросомної реакції внаслідок стабілізації їх мембран (Katska L., Rynska B., Smorag Z., 1996). У дослідженнях вивчали вплив видалення сім'яної плазми із еякульованої сперми бугая перед заморожуванням на одержання зародків великої рогатої худоби *in vitro*. Нами встановлено, що ефективнішим було використання сперматозоїдів, які відмиті від плазми центрифугуванням перед заморожуванням (у дослідній та конрольній групах використовували сперму одного і того самого бугая). Використання таких заморожено-відталих сперматозоїдів дало змогу одержати значно вищий відсоток дроблення зигот великої рогатої худоби *in vitro,* а також вищий рівень формування пізніх морул-бластоцист порівняно із сперматозоїдами, які були кріоконсервовані без попереднього центрифугування (контроль) (61,0%, 155/254 проти 49,6%, 128/258, P<0,05 та 16,1%, проти 13,6% відповідно). Не виявлено різниці за здатністю 2—6-клітинних зародків у розвитку до морули-бластоцисти у дослідній та контрольній групах, тобто центрифугування сперматозоїдів до кріоконсервування не впливало на ефективність розвитку зародків великої рогатої худоби *in vitro* (26,5 та 28,1 % відповідно).

© С.І. Ковтун, 2001

Хоча відсоток формування пізніх морул-бластоцист вірогідно не відрізнявся в обох групах, істотно вищий рівень дроблення зигот при використанні центрифугованих заморожено-відталих сперматозоїдів дав змогу одержати більшу абсолютну кількість морул-бластоцист від осіменених ооцитів.

Слід відзначити, що незважаючи на застосування капацитуючих агентів, у тому числі використовуваного нами гепарину, котрі знижують рухливість та життєздатність сперматозоїдів, а також додаткове центрифугування сперми, що також може негативно впливати на життєздатність сперматозоїдів, у наших дослідженнях з одержання ембріонів великої рогатої худоби поза організмом більш ефективним виявилося використання сперматозоїдів бугая, позбавлених сім'яної плазми перед заморожуванням. Навіть при застосуванні високоефективного методу розподілу чоловічих гамет у градієнтах перколу, що дає змогу не лише відібрати високорухливі чоловічі гамети із нормальною морфологією та знизити ризик бактеріального забруднення, а також добре відмити сперматозоїди від залишків сім'яної плазми і розріджувача, у контролі спостерігалася нижча частота запліднення яйцеклітин корів *in vitro*.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 591.391:57.086.83:636.2

В.Є. КУЗНЄЦОВ, Н.Я. МЕЛЕШКО

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ЕПІДИДИМАЛЬНИХ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРИ ОТРИМАННІ ЗАРОДКІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН ПОЗА ОРГАНІЗМОМ

Одним із основних напрямів клітинної інженерії є методика отримання ембріонів сільськогосподарських тварин поза організмом. Встановлено, що сперматозоїди, отримані із хвостових частин придатків сім'яників забитих плідників (епідидимальні), краще капацитуються поза організмом порівняно з еякульованими, можливо внаслідок відсутності контакту їх із секретами придаткових статевих залоз. Останнім часом особлива увага приділяється дослідженню фізіологічних показників спермій, отриманих із придатків сім'яників таких сільськогосподарських тварин, як бугаї, кнури та жеребці, а також отриманню зародків цих тварин *in vitro* (Katska L. et al., 1996; Kolbe T., Holtz W., 1999; Kikuchi K. et al., 1998; Braun J. et al., 1993). Так, у роботі Л. Контської та ін. (1996) досліджено ефективність використання заморожено-розморожених епідидимальних сперматозоїдів від семи бугаїв при заплідненні ооцитів корів in vitro та отримані слідуючі результати: рівень запліднення — 83,7±10,3%, дроблення — 80,2±11,8%, формування бластоцист —30,6±5,0%. Нами показано, що зародки великої рогатої худоби, отримані після запліднення дозрілих поза організмом ооцитів корів епідидимальними сперматозоїдами (свіжоодержаними, короткочасно-зберженими та заморожено-розмороженими), розвивалися до стадії морули-бластоцисти (26,8%, 34/127; 17,2%, 17/99; 10,2%, 5/49 відповідно) (Кузнецова И.Б. и др., 1999).

Відомо, що отримання зародків свиней *in vitro* на даний час знаходиться на невисокому рівні у зв'язку із тривалим часом

© В.Є. Кузнєцов, Н.Я. Мелешко, 2001

їхнього дозрівання поза організмом, високим рівнем поліспермного запліднення (Daen F.P. et al., 1994; Coy P. E. , 1999), а також підвищеною чутливістю еякульованих сперматозоїдів до заморожування. Виходячи із одержаних даних з використання епідидимальних сперматозоїдів бугаїв при одержанні зародків великої рогатої худоби *in vitro* (Кузнецова И.Б. и др., 1999), розробка, застосування та удосконалення цієї методики для свиней дало б змогу використовувати сперматозоїди із придатків сім'яників та поліпшити результати щодо одержання зародків свиней поза організмом.

У дослідженнях К. Кікуші та ін. (1998) з отримання ембріонів свиней *in vitro* при використанні сперматозоїдів кнурів, кріоконсервованих відразу після отримання (контроль) та зберігання епідидимісів протягом 1, 2, та 4 діб при +4 °С (експеримент), рівень моноспермної пенетрації яйцеклітин становив 64—90%, формування чоловічого пронуклеусу — 67—71%. Але частота запліднення ооцитів свиней була значно нижчою в експерименті порівняно із контролем (12, 13 і 2% проти 40% відповідно, $P<0,05$).

Таким чином, використання сперматозоїдів із хвоста придатків сім'яників при одержанні зародків сільськогосподарських тварин поза організмом дає змогу додатково використовувати цінний генетичний матеріал від вибракуваних з ряду причин плідників.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.92:636.22/28:57.08

Ю.М. КОСЕНЮК*

ПРИГОТУВАННЯ СУХОПОВІТРЯНИХ ПРЕПАРАТІВ ЕНУКЛЕЙОВАНИХ ООЦИТІВ КОРІВ

Повне видалення хромосомного матеріалу з ооцитів-реципієнтів із збереженням життєздатності клітин в експериментах з клонування ембріонів ссавців методом пересадки ядер є одним із складних і важливих етапів. При енуклеації ооцитів видаляють перше полярне тільце і суміжну частину цитоплазми, де знаходиться метафазна пластинка. Однак на відміну від деяких лабораторних тварин, цитоплазма ооцитів корів непрозора і тому при звичайній світловій мікроскопії неможливо візуалізувати хромосомний матеріал під час проведення енуклеації (Robl J.M., 1999).

Для перевірки ефективності енуклеації ооцитів корів, які дозріли *in vitro* до метафази II, готували сухоповітряні препарати енуклейованих ооцитів за модифікованою нами методикою Тарковського (Tarkowski A.K., 1966), яка розроблена для інтактних яйцеклітин мишей. Особливість фіксації оопластів полягає у тому, що у них прозора оболонка має невеликий розріз.

Для приготування сухоповітряних препаратів енуклейованих ооцитів корів використовували 0,9%-й гіпотонічний розчин цитрату натрію. Після однохвилинної експозиції в гіпотонічному розчині оопласт піпеткою з невеликою кількістю гіпотонії переносили на предметне скло, де його фіксували сумішю льодяної оцтової кислоти і метанолу у співвідношенні 1:1. Препарати фарбували 2%-м розчином барвника Гімза та аналізували під світловим мікроскопом. Такий період перебування дозрілих ооцитів корів після енуклеації в гіпотонічному розчині забезпечував достатнє розбухання клітини без передчасного розривання оолеми, а нанесення фіксатора зверху да-

*Науковий керівник — доктор біологічних наук Б.Є. Кузнєцов.

© Ю.М. Косенюк, 2001

ло змогу тримати досить виразні пластинки хромосом на стадії метафази II мейозу. Частка ооцитів корів, в яких вони залишилися після енуклеації становила 30% (9/30). Таким чином, ефективність енуклеації дозрілих ооцитів корів у наших дослідах сягала 70% (21/30).

Виходячи з отриманих нами даних, можна зробити висновок, що дана методика забезпечує досить точний аналіз препаратів передбачуваних оопластів і може бути використана для з'ясування ефективності способів енуклеації ооцитів.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 632.2 : 591.3

В.Є. КУЗНЄЦОВ, І.Б. КУЗНЄЦОВА, С.І. КОВТУН

ДИФЕРЕНЦІЙНЕ С-ЗАБАРВЛЕННЯ ХРОМОСОМ ООЦИТІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

С-сегментація хромосом обумовлена диференційною денатурацією і ренатурацією блоків ДНК, які утворюють гетерохроматинові участки. У результаті більш щільної упаковки в цих участках ДНК є більш стійкою до денатурації і тому забарвлюється барвником Гімза інтенсивніше, тобто С-сегментація пов'язана із екстракцією ДНК (у процесі обробки препаратів) із слабозабарвлюваних частинок хромосом (Макгрегор Г., Варли Дж., 1986). За допомогою С-методу можна не тільки виявити структурно-морфологічні особливості хромосом, але і з'ясувати характер і функціонування окремих частинок хромосом. У результаті проведених експериментів нами показана можливість одержання придатних для цитогенетичного аналізу диференційно С-забарвлених мейотичних хромосом ооцитів корів, що дозрівали *in vitro*. Доведено, що хромосоми ооцитів корів на різних стадіях мейозу потребують неод-

© В.Є. Кузнєцов, І.Б. Кузнєцова, С.І. Ковтун, 2001

накової тривалості обробки розчином гідроксиду барію при температурі +50 °С. Так, перебування препаратів хромосом ооцитів у розчині $Ba(OH)_2$ протягом 2 хв. дало змогу одержати придатні для аналізу диференційно забарвлені хромосоми ооцитів на стадії діакінезу на рівні 70,4% (19/27) та на стадії метафази I мейозу (84,9%, 28/33, P>0,05). Збільшення тривалості перебування в насиченому розчині гідроксиду барію препаратів ооцитів корів на метафазі I до 5 та 10 хв. сприяло виявленню гетерохроматинових частинок хромосом, але рівень одержання диференційно С-забарвлених препаратів високої якості на цій стадії мейозу був дуже низьким (11,5%, 3/26 та 0%, 0/26 відповідно), контури хромосом надто розмиті. Найчіткішим було виявлення локалізації гетерохроматинових частинок хромосом ооцитів корів на стадії метафази II після перебування препаратів в розчині гідроксиду барію протягом 5 хв що забезпечило отримання високого рівня придатних для цитогенетичного аналізу С-забарвлених препаратів (76,9%, 20/26). Такий час дії розчину Ва $(OH)_2$ також виявився ефективним для С-забарвлення мейотичних хромосом ооцитів на стадії блоку анафази I. Хоча 7- та 10-хвилинна обробка препаратів дозрілих яйцеклітин корів розчином Ва $(OH)_2$ виявилася ефективною для одержання виразного С-забарвлення хромосом на стадії метафази II, частота одержання придатних для аналізу препаратів знаходилась на більш низькому рівні — 45,5%, 10/22 (P=0,05 порівняно з 5-хвилинною обробкою) та 24,2%, 8/33 відповідно, оскільки у більшості випадків контури хромосом надто розмиті. Після збільшення тривалості обробки препаратів розчином Ва $(OH)_2$ до 15 хв. хромосоми яйцеклітин корів на стадії метафази II розбухали, пошкоджувалися, їхні контури були розмитими.

Таким чином, нами встановлено оптимальну тривалість обробки препаратів ооцитів корів на різних стадіях мейозу розчином гідроксиду барію, що дає змогу отримати придатні для цитогенетичного аналізу С-забарвлені хромосоми. Показано, що подібно до мейотичних хромосом мишей, в яких С-сегмент розміщений біля центромери (крім Y-хромосоми)

(Чендлей Э., 1990), у проаналізованих нами хромосомах ооцитів корів на різних стадіях мейозу в аутосомах та Х-хромосомі С-сегменти також є центромерними. Крім того, у наших дослідах С-забарвлення сприяло ідентифікації мейотичних бівалентів і чіткішому визначенню ряду хромосомних аберацій в ооцитах корів (наприклад нерозходження частини бівалентів на унівалентн).

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082.4:57.086.83

І.Б. КУЗНЄЦОВА, О.О. КОВТЮХ, Л.І. ОСТАПОВЕЦЬ

ОСОБЛИВОСТІ ЗАРОДКОВОГО РОЗВИТКУ ПАРТЕНОГЕНОНІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Використовуючи оптимізовані нами умови культивування і активування ооцитів корів та методику одержання метафазних пластинок із застосуванням мітостатика, ми вивчали частоту порушень розвитку партеногенетичних зародків корів.

Активацію ооцитів корів до партеногенетичного розвитку здійснювали на стадії метафази II мейозу (M II-ооцити) або за умови пригнічення виділення першого полярного тіла за допомогою цитохалазину D (cyt-ооцити).

Цитогенетичний аналіз одержаних партеногенонів показав, що у більшості випадків після відновлення мейозу в активованих ооцитів відбулося формування одного або двох пронуклеусів, після чого спостерігали розвиток гаплоїдних (тільки для M II-ооцитів) або диплоїдних (і для M II-, і для cyt-ооцитів) зародків. Спонтанна диплоїдизація зародків відмічалась після активації 2,7% (2/74) M II-ооцитів. Таким чином, нами показано, що у партеногенетичних зародків корів, як і у

© І.Б. Кузнєцова, О.О. Ковтюх, Л.І. Остаповець, 2001

деяких інших ссавців (наприклад мишей [Дыбан А.П, Ониашвили Е.М; 1986]) може відбуватися неіндуковане відновлення нормальної плоїдності, принаймні, в умовах *in vitro*.

Відхиленнями від нормального розвитку, котрі спостерігалися в наших дослідженнях, були такі аномалії як: порушення розходження хромосом в анафазі II; відсутність цитотомії при наявності каріотомії; триплоїдія партеногенетичних зародків.

Порушення розходження унівалентів на хроматиди, тобто утворення замість двох, трьох або чотирьох наборів хроматид в телофазі II, спостерігалося у 4,1% (2/49) M II-ооцитів та у 2,9% (1/35) ооцитів, оброблених цитохалазином. Кількість хроматид у наборах при цьому порушенні становила відповідно $n < 30$ або $30 \leq n < 60$ для M II- та cyt-ооцитів. Внаслідок цього порушення можуть утворитися три або чотири пронуклеуси у таких партеногенонах. Наявність трьох або чотирьох пронуклеусів спостерігалася у 4,1% (2/49) та 2,9% (1/35) активованих ооцитів, оброблених етанолом на стадії метафази II або після пригнічення виділення першого полярного тільця відповідно. При цьому в деяких випадках активації наявність трьох або чотирьох пронуклеоподібних структур можна пояснити тільки відсутністю цитотомії, наприклад, коли всі вони містять диплоїдний набір хромосом.

Триплоїдні партеногенетичні зародки спостерігалися тільки після активації M II-ооцитів. Частота їхнього утворення була досить низькою і становила лише 1,4% (1/74) від кількості активованих ооцитів. Наявність таких зародків можна пояснити формуванням в активованому ооциті двох пронуклеусів без утворення другого полярного тільця та наступним подвоєнням ДНК тільки в одному з пронуклеусів до злиття їх та утворення першої метафази мітозу.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2:591.465.1

І.В. ЛОБАЧОВА

ЗАЛЕЖНІСТЬ OPU-ВИЛУЧЕННЯ ООЦИТІВ КОРІВ ВІД ДІАМЕТРА АСПІРАЦІЙНОЇ ГОЛКИ

Ефективність вилучення ооцитів при трансвагінальній пункції фолікулів у корів залежить від багатьох технологічних параметрів (Кузнєцов В.Є. та ін., 1998). Досліджували залежність показника вилучення і якості одержаних ооцитів від діаметра аспіраційної голки. Експерименту підлягали дві корови голштинської і одна червоної степової порід протягом червня-вересня. Аспірацію фолікулів у кожної тварини здійснювали одно- або дворазово на тиждень. Для візуалізації фолікулів використовували ультразвуковий сканер "Scanner 100 S Vet" з робочою частотою 7,5 МГц. Аспірації піддавали фолікули не менше 4 мм у діаметрі. Відсмоктування фолікулярної рідини здійснювали хірургічним шприцом або за допомогою повітряної помпи.

Результати досліджень виявили малу залежність показника вилучення ооцитів від способу відсмоктування фолікулярної рідини (шприцом або помпою) і значний зв'язок цього показника з діаметром аспіраційної голки (таблиця). Із збільшенням діаметра голки зростав і відсоток оголених ооцитів серед вилучених клітин.

Залежність кількості вилучених ооцитів від діаметра голки

Діаметр голки, мм	% успішних операцій	Кількість фолікулів, підданих аспірації, на одну тварину	Кількість вилучених ооцитів, на одну тварину			% вилучення ооцитів
			всього	з них придатних до IVM		
				всього	з них % оголених	
0,9	45,45[a]	4,67±0,94	1,67±0,64[a]	1,0±0,47[a]	6,25±6,68[a]	37,59±14,21[a]
1,1	53,67[a]	2,91±0,31	1,05±0,26[a]	0,86±0,25[a]	12,27±6,7[a,c]	34,16±8,21[a]
1,3	100,0[b]	3,3±0,5	1,7±0,32[a]	1,1±0,25[a]	45,0±16.6[c]	61,33±11,6[a]

© І.В. Лобачова, 2001

На нашу думку, причинами, які обумовлюють кращу ефективність використання голок більшого діаметра, є, по-перше, створення при цьому більш сильного відтоку фолікулярної рідини, по-друге, те, що більш товста голка забезпечує захоплення більшої площі внутрішньої поверхні фолікула при механічному зішкрібанні його стінок і таким чином більшу імовірність відокремлення ооцитів від пристінної гранульози. Це підтверджується тим, що при використанні голок з більшим кутом загострення ефективність вилучення ооцитів знижувалась. Разом з тим, більш сильний відтік рідини є причиною відокремлення оточуючих кумулюсних клітин від ооцитів у ході аспірації і зростання через це відсотку оголених клітин (див. таблицю).

Таким чином, збільшення діаметра аспіраційної голки сприяло підвищенню показника вилучення ооцитів, а його зниження — поліпшенню якості вилучених клітин. Істотним недоліком використання голок малого діаметра є більша імовірність забивання голки скупченнями клітин або кров'яними утвореннями.

Дослідження виявили малу ефективність вилучення ооцитів при трансвагінальній пункції взагалі, що відмічено і іншими авторами (Smorag Z. et al., 1998).

Інститут тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова "Асканія-Нова" — Національний науковий селекційно-генетичний центр з вівчарства УААН

УДК 636.32/.38:591.463.1

І.В. ЛОБАЧОВА

ОСОБЛИВОСТІ ПІДГОТОВКИ ЗАМОРОЖЕНО-ВІДТАЛИХ СПЕРМІЇВ БАРАНІВ ДО ІНСЕМІНАЦІЇ ООЦИТІВ *IN VITRO*

Методика одержання ембріонів поза організмом складається з кількох етапів, одним з яких є підготовка сперміїв. Ця процедура повинна сприяти капацітації сперміїв, тобто наданню їм здатності проникнути в ооцит, а також відокремленню рухливих сперміїв від супутньої позаклітинної рідини, зокрема, середовища для кріоконсервації, наявність компонентів якого у середовищі дорощування може пригнітити розвиток зигот. Для виконання першої умови спермії культивують у розчині з високою іонною силою або з додаванням гепарину, для виконання другої — промивають декілька разів центрифугуванням.

В останні роки все більше застосовується спосіб відокремлення сперміїв баранів у середовищі Перколла, але такий спосіб дещо трудомісткий і крім того вимагає наявності важкодоступних чистих реактивів. У дослідах опрацьовували спермії за методом "swim-up", поширеним при підготовці зародкових клітин бугаїв. Використовували сперму заморожену в тріс-гліцерин-жовтковому середовищі за методом відкритих гранул. У ході проведення дослідів встановлено, що центрифугування сперміїв при 500 обертах приводить до залишення основної фракції рухливих клітин у надосадовій рідині. Збільшення обертів до 2000 сприяло осадженню сперміїв, але вони були майже повністю непридатні до використання через склеювання клітин, при цьому утворювались великі конгломерати. Таке явище спостерігали при використанні для промивання різних типів середовищ (цитрату натрію, фосфатного

© І.В. Лобачова, 2001

буферу Дюльбекко, середовищ ТС-199 або SOF). Причина цього криється, на нашу думку, у великій чутливості і ламкості мембран акросомних чохликів сперміїв баранів.

Придатною для одержання фракції рухливих сперміїв баранів виявилася одноетапна процедура "swim-up", за якою гранулу сперми розморожують зануренням безпосередньо у 1,5 мл середовища капацітації і далі витримують 5—8 хв. у водяній бані при 37—38 °С. За цей час тріс-гліцерин-жовткове середовище розтікається по донцю пробірки, не змішуючись з поверхневим шаром середовища інсемінації, а спермії поширюються по усьому об'єму рідини. Як середовище капацітації використовували середовище ТС-199 або SOF, до яких додавали 2% фетальної або естральної сироватки. Підвищення відсотку вмісту сироватки небажано, оскільки це сприятиме збільшенню ступеню аглютинації сперміїв і зменшенню кількості рухливих клітин. Підготовлену таким чином сперму вносили у середовище інсемінації ооцитів овець у необхідній концентрації.

Використання такого способу підготовки сперміїв сприяло заплідненню 60—80 % яйцеклітин, що підтверджено наявністю пронуклеусів у зиготах та інтерфазних ядер в одержаних зародках. Недоліком зазначеного способу є деяка імовірність бактеріальної контамінації середовища, що вимагає акуратності при розморожуванні і більшої ретельності додержання правил асептики при кріоконсервації сперми баранів-плідників.

Інститут тваринництва степових районів ім. М.Ф.Іванова "Асканія-Нова" — Національний селекційно-генетичний центр з вівчарства УААН

УДК 636. 32 /. 38: 612. 646. 089. 67

О.С. МЕЗІНОВ

КРІОКОНСЕРВАЦІЯ ЕМБРІОНІВ ОВЕЦЬ

У зв'язку із погіршенням стану сільського господарства і різким зменшенням поголів'я тварин набуває важливого значення питання збереження генофонду генотипів, що мають селекційну цінність. Особливо це стосується овець, поголів'я яких нині зменшилось до критичного стану не лише у нашій державі, а і в країнах Середньої Азії. Одним із способів вирішення цієї проблеми є кріоконсервація ембріонів і створення кріобанків зародкових клітин.

У лабораторії біології розмноження Інституту "Асканія-Нова" започатковано досліди щодо удосконалення методу низькотемпературного заморожування та зберігання ембріонів овець. Як донорів використано вівцематок асканійської тонкорунної та асканійського багатоплідного типу каракульської порід. Ембріони отримували на шостий день після осіменіння від оброблених на суперовуляцію тварин. Вимивання ембріонів проводили лапароскопічно за допомогою катетера Фолея. Одержані ембріони промивали у 20% -му розчині фетальної сироватки на PBS і насичували одноетапно кріопротектором протягом 10 хв. Як кріопротектор використовували 1,2 М розчин гліцерину на 20% -му розчині фетальної сироватки теляти. Для заморожування відбирали лише ембріони з оцінкою "відмінні" та "добрі". Замороження ембріонів проводили на програмному заморожувачі "ЭМБИ-К" виробництва Інституту біофізики (м. Боровськ) за програмою: охолодження від +20 до –6 °С зі швидкістю 1°С/хв; 2-хвилинна витримка при –6 °С і штучна ініціація кристалізації; зниження температури від –6 до –33 °С зі швидкістю 0,3 °С/хв; занурення пайєти з ембріонами у рідкий азот. Розмороження ембріонів проводили зануренням пайєт у водяну баню (+35 °С). Після відтаюван-

© О.С. Мезінов, 2001

ня ембріони промивали одноетапно протягом 4 хв. у 1,0 М розчині сахарози, потім 4 рази — у 20% -му розчині фетальної сироватки теляти на PBS і пересаджували синхронізованим реципієнтам.

Морфологічна оцінка заморожено-відталих ембріонів овець виявила кращу здатність до заморожування ембріонів на стадії бластоцисти проти аналогічного показника для ембріонів на стадії експандованої бластоцисти та морули (таблиця), що позначилося на кращому поновленні бластоцелю.

Результати заморожування ембріонів на різних стадіях їхнього розвитку

Стадія розвитку ембріону	n	Якісна оцінка ембріонів, %			
		до замороження		після розмороження	
		відмінні	добрі	відмінні	добрі
Пізня морула	4	100	—	—	100
Бластоциста	3	100	—	100	—
Експандована бластоциста	2	50	50	—	100

Всього заморожено 9 ембріонів, які після розмороження пересаджено трьом реципієнтам. Діагностовано 2 кітності.

Інститут тваринництва степових районів М.Ф.Іванова "Асканія-Нова" — Національний селекційно-генетичний центр з вівчарства УААН

УДК 636.4:591.391:578.083

Л.І. ОСТАПОВЕЦЬ*

ЦИТОМОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ НЕЗРІЛИХ ООЦИТІВ СВИНЕЙ

Однією з ознак біологічної повноцінності ооцитів є морфологія ооцита і кумулюса, який його оточує. Мета дослідів — вивчення цитоморфологічних особливостей незрілих ооцитів свиней на різних стадіях статевого циклу.

Морфологічний аналіз показав, що у яєчниках на стадії фолікулярного росту та із зрілим жовтим тілом тільки кількість ооцитів, що зазнали дії атрезії і мають сильно розпушений і ослизнений кумулюс, не залежить від стадії статевого циклу і знаходиться на рівні 8,86% (62/700) та 8,83% (47/532) відповідно. Але кількість ооцитів із щільним, розпушеним та таких, що втратили частково кумулюс, з вакуолізованою ооплазмою та повністю денудованих ооцитів залежить від стадії статевого циклу тварин і знаходиться на рівні 8,14 та 0,04% (57/700; 2/532, $P < 0,001$); 7,71 та 0,08% (54/700; 4/532, $P < 0,001$); 7,86 та 12,59% (55/700; 67/532, $P < 0,01$); 13,86 та 32,14% (97/700; 171/532, $P < 0,001$); 53,57 та 45,30% (375/700; 241/532, $P < 0,001$) відповідно. Ці спостереження свідчать, що кожна стадія статевого циклу характеризується певною групою гормонів, дія котрих призводить до цитоморфологічних змін ооцитів. Менша кількість ооцитів із щільним та розпушеним кумулюсом, тобто ооцитів, найпридатніших для використання у запліднені *in vitro,* спостерігалася на лютеальній стадії, що пояснюється гальмівною дією прогестерону та пролактину на синтез та секрецію гіпофізарного ФСГ.

Цитогенетичний аналіз показав, що всі ооцити із щільним кумулюсом перебували на стадії диплотени. При цьому

*Науковий керівник — кандидат біологічних наук І.Б. Кузнєцова.

© Л.І. Остаповець, 2001

більшість (37,04%, 10/27) таких ооцитів перебувала на стадії диплотени фібрилярної, тоді як найбільша частина ооцитів, що частково втратили клітини кумулюса, знаходилася на стадії диплотени дифузної (43,44%, 23/53), принаймні невелика кількість таких ооцитів знаходилась на стадії діакінезу (1,89%, 1/53). Зазначимо, що в ооцитів останньої групи спостерігався найнижчий рівень хромосомних порушень —1,89% (1/53) порівняно з ооцитами нижчевказаних груп. Досить велика кількість ооцитів із ознаками просунутої атрезії перебувала на стадії диплотени видимих бівалентів — 48,0% (12/25), у цій групі відзначався найнижчий рівень ооцитів на стадії диплотени дифузної — 4,0% (1/25). Більшість ооцитів з вакуолізованою ооплазмою та повністю денудованих ооцитів знаходилася на стадії диплотени дифузної — 44,23% (23/52) та 50,0% (23/46) відповідно. Найбільший відсоток дегенерації хроматину спостерігався у ооцитів з сильно розпушеним та ослизненим кумулюсом та у денудованих ооцитів — 36,96% (17/46) та 28,0% (7/25) відповідно, що є наслідком атретичних змін, котрих зазнали такі ооцити.

Результати нашої роботи показали, що в групі ооцитів, які частково втратили кумулюс, є ооцити, придатні для отримання ембріонів *in vitro* після їхнього дозрівання і запліднення поза організмом, оскільки більшість таких ооцитів знаходиться на стадії диплотени і має низький рівень хромосомних порушень. Але такі ооцити можуть також знаходитись у фолікулах, які не завершили ріст, у такому випадку вони потребують більш тривалого дозрівання *in vitro*, що обмежує можливості їхнього використання для отримання зародків.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 632.2. 591.089. 843

І. В. ТКАЧОВА

ГЕНЕТИЧНІ, ІМУНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ, ПРОДУКТИВНІСТЬ ТА РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦІЯ БЛИЗНЯТ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ, ОТРИМАНИХ МЕТОДОМ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ЕМБРІОНІВ

Багатоплідність у великої рогатої худоби — один з найважливіших показників плодовитості корів і резерв збільшення поголів'я тварин. *Bos taurus L.* відноситься до одноплідних видів класу ссавців і, як правило, народжують одного нащадка за пологи. Народження близнят — подія досить рідка і трапляється приблизно в одному випадку з 80 (Эрнст Л.К., Сергеев Н.И., 1989). Можливість підвищення багатоплідності тварин цього виду дає трансплантація кількох ембріонів реципієнта, а також мікроманіпуляції з ембріонами і подальша трансплантація половинок і чвертей ембріонів самкам-реципієнтам. Останній метод цінний ще й тим, що дає клони тварин з однаковим генотипом, яких можна використати для подальших наукових досліджень.

У задачу даної роботи входила оцінка фізичного розвитку, репродуктивної функції та імуногенетичних показників крові близнят великої рогатої худоби, отриманих раніше співробітниками центру трансплантації ІТ УААН. Оцінювалися близнята як дизиготні, так і монозиготні порівняно з повними сибсами, напівсибсами і неспорідненими тваринами в межах однієї популяції.

У процесі вивчення показників росту і розвитку телят різного ступеня біологічної спорідненості встановлено, що монозиготні близнята народжуються з ідентичною живою масою і розвиваються практично з однаковою інтенсивністю до 6-го місяця життя, а після цього між показниками живої маси близнят

© І.В. Ткачова, 2001

з'являються відхилення, максимальне значення яких (у віці 10 місяців) не перевищує 8,5%. Між показниками живої маси новонароджених дизиготних близнят спостерігаються внутрішньопарні відхилення і протягом всього вивчення періоду ці відхилення у них були вищими, ніж у монозиготних близнят. У повних сибсів відхилення між показниками розвитку значно більші, ніж в обох групах близнят, отже генетичний зв'язок між дизиготними близнятами виявився сильнішим, аніж між сибсами, що народилися в різні проміжки часу.

Між показниками живої маси напівсибсів ще більш високі відхилення, причому у напівсибсів по матері вони нижчі і максимальне їхнє значення (у віці 6 місяців) не перевищує 37%, тоді як у напівсибсів за батьком вони сягають (у віці 5 місяців) 44,3%. Максимальні ж відхилення між показниками живої маси, що досягають більш 50%, спостерігаються в групі неспоріднених тварин в межах однієї популяції.

Розрахунок схожості близнят за деякими ознаками показав, що за живою масою при народженні і за середньодобовими приростами протягом першого місяця життя у монозиготних близнят повна внутрішньопарна кореляція і це підтверджує, що дані ознаки визначаються генетично, мають повну пенетрантність і можуть використовуватися для ідентифікації монозиготних близнят. Значення коефіцієнта успадковуваності, яке дорівнює 100% (що може траплятись лише в абсолютно ідентичних генотипів за однакових умов існування), свідчить про відсутність впливу паратипу на мінливість ознаки. Жива маса і середньодобові прирости монозиготних близнят в інші вікові періоди мають меншу конкордантність, що означає значну піддатність даних ознак впливу паратипу.

У результаті дослідження конкордантності у близнят встановлено наступне: за живою масою у віці 3 місяців внутрішньокласова кореляція в групі дизиготних близнят становила 0,923, що зумовлено і схожістю генотипів, і впливом паратипічних чинників, і комбінацією цих двох компонент. Ми не можемо з'ясувати, яка саме компонента зумовлює схожість дизиготних близнят у даному випадку, але маючи

дані кореляції за цією ознакою монозиготних близнят (r=0,994) і розрахувавши коефіцієнт успадковуваності (H), можна дійти висновку, що для дизиготних близнят і особин інших споріднених груп жива маса у віці 3 місяців на 92,2% зумовлена спадковістю і на 7,8% — впливом паратипу.

Проведений імунологічний аналіз крові близнят, виведених методом трансплантації ембріонів, виявив у монозиготних близнят ідентичний тип крові, у дизиготних близнят — різний, але дуже схожий, що зумовлено утворенням у них ембріональних анастомозів і обміном гемопоетичною тканиною.

Корови-трансплантати з близнюкових пар мали дещо більший (на 863,3 кг) надій порівняно із ровесницями. Однак, як і перші, так і другі поступалися за надоєм своїм матерям.

Серед отриманих дизиготних близнюкових пар також спостерігалися і різностатеві. Телички в цих парах були фримартинами і вибраковані протягом першого місяця життя, отже ці близнюкові пари виявилися химериками за гоносомами. Аналіз ознак репродуктивної функції бугайців з цих пар показав, що вірогідних відмінностей між ними й іншими бугаями даної популяції не спостерігалося.

Отримання близнюкових пар і клонів тварин має не лише велике значення для розвитку методів біотехнології, але корисне і в плані практичної селекції — якщо близнюки знаходяться в умовах, які в середньому варіюють в однакових межах, то порівняння середніх різниць між ними дає змогу оцінити роль генотипу у відмінностях, що спостерігаються.

Інститут тваринництва УААН

УДК 636.4:636.082.43

В.В. МИРОСЬ, А.Ф. ТКАЧОВ, А.І. ХВАТОВ, Р.А. ФАЙЗУЛІН, Л.В. РОЗСОХА

ПРОБЛЕМИ ЗБЕРЕЖЕННЯ ПОРОДНОГО ГЕНОФОНДУ СВИНЕЙ УКРАЇНИ

Інтенсифікація свинарства потребує корінного поліпшення племінної роботи, розробки ефективних методів використання існуючого породного генофонду. Україна є родоначальницею породотворного процесу і має унікальний набір порід свиней. Нині тут розводять свиней понад 15 різних порід спеціалізованих типів і ліній.

Наявність такої кількості порід та різних генотипів дає змогу ефективніше використовувати природні і кормові умови різних регіонів, а також забезпечувати широке впровадження схрещування та гібридизації.

Разом з тим надмірне захоплення створенням нових порід і типів м'ясного напряму продуктивності спричинило по ряду порід (миргородська, мангалицька, українська степова ряба, велика чорна, дюрок, уельська і навіть ландрас) тенденцію до різкого зменшення поголів'я племінних свиней. Разом з тим кожна з цих порід володіє цінними генними асоціаціями, котрі детермінують специфічні селекційно-генетичні ознаки, втрата яких не завдасть великої шкоди не тільки племінному, а й промисловому свинарству.

Крім того, науково обгрунтованих концепцій удосконалення існуючих порід, використання їх у системах міжпородного схрещування і гібридизації не існує, а продовжується не завжди обгрунтований імпорт свиней різних порід.

Отже, теоретичне обгрунтування та розробка організаційних форм і методів збереження існуючого породного генофонду свиней має велике наукове і практичне значення.

© В.В. Мирось, А.Ф. Ткачов, А.І. Хватов, Р.А. Файзулін, Л.В. Розсоха, 2001

Насамперед вкрай необхідною є розробка "Національної програми збереження зникаючих та реліктових порід свиней" з її законодавчим забезпеченням та державним фінансуванням.

Необхідно широко розгорнути комплексну оцінку продуктивності та племінної і технологічної цінності порід за єдиною уніфікованою методикою. А відтак методика породовипробування повинна максимально стандартизуватися за відповідними нормативними документами.

Проведення цієї роботи дасть змогу вирішити низку організаційно-методичних питань, що пов'язані з напрямком селекційно-племінної роботи, системою і методами розведення, розробкою оперативних і довгострокових програм, кількісним та якісним удосконаленням порід, обгрунтуванням доцільності імпорту окремих порід та наукового обгрунтування раціонального їх використання.

Збереженню порід та системному підходу до роботи з ними сприятиме створення асоціацій по розведенню окремих порід (або декількох порід сходного напряму продуктивності), які б здійснювали керівництво породою, реалізацію селекційно-технологічних програм та матеріально-технічне забезпечення селекційного процесу.

Реалізація цих заходів сприятиме збереженню породного генофонду — національного багатства країни.

Інститут тваринництва УААН

УДК 636.22/.28.082

С.Ю. РУБАН

МЕТОДОЛОГІЯ ВИКОРИСТАННЯ ГЕНЕТИКО-ЕКОЛОГІЧНИХ МОДЕЛЕЙ ДЛЯ ОЦІНКИ РЕАЛІЗОВАНОГО ГЕНОТИПУ У МОЛОЧНОМУ СКОТАРСТВІ

Традиційна селекційна робота базується на підставі припущення, коли величина середовищного відхилення не залежить від особливостей конкретного генотипу. Водночас у низці досліджень встановлено, що відмінність (або зміна) у характері умов середовища має неоднаковий вплив на різні генотипи, отже у статистичному розумінні між генотипом і середовищем є взаємодія. Ця взаємодія виявляється або у відмінності неспадкових компонент дисперсії у різних генотипів, або у зміні відмінностей між генотипами при переході з одного середовища в інше. З точки зору практичної селекційно-племінної роботи особливо важливе значення має саме другий прояв взаємодії генотип — середовище. У нашому випадку така взаємодія позначена терміном "середовищна чутливість".

Для вивчення середовищної чутливості тварин використовують оцінку сезонних коливань, які в певній мірі впливають на фенотип тварин і мають циклічний характер. Зміни умов годівлі зумовлюють варіабельність не тільки молочної продуктивності корів, але і якісного складу молока, а також приросту живої маси молодняку в період росту.

Результати досліджень виявили значний вплив середовищних факторів практично на всі якісні показники молока. Водночас за низкою показників, особливо за жирністю, щільністю, вмістом білка і мікробною забрудненістю виявлено вірогідні міжпородні відмінності, що свідчать про наявність певної генетичної компоненти у формуванні цих ознак. Крім

© С.Ю. Рубан, 2001

того, за деякими показниками (жирність, кислотність, зсідання молока, вміст вітаміну А і мікробне обсіменіння) спостерігається взаємодія фактора породи із середовищними факторами.

Нами доведено, що вплив середовищних факторів на показники росту телиць у 1—6-місячному віці виражався слабше, аніж у наступні періоди, і зумовлено однотипністю годівлі телят у молочний період. По відношенню до терміну "порода" спостерігається протилежна тенденція. Відзначена також взаємодія факторів, що вивчаються, особливо породи і року, породи і сезону на особливості росту.

Встановлено, що тварини різних генетичних груп мають істотні відміни за ступенем середовищної чутливості. Так, найбільш пластичний (лабільний) тип реакції відзначено у чистопородних сименталів, менш чутливі до коливань умов середовища напівкровні і трипородні тварини. Інакше кажучи, тварини більш молочного типу характеризуються меншою залежністю надоїв від тих середовищних коливань, що виникають у ході лактації.

Отримані у дослідженнях дані свідчать про наявність певного, хоча й незначного впливу генотипу батька на середовищну пластичність дочок, що виявляється у ході лактаційної діяльності. Оцінка успадковуваності середовищної чутливості становить близько 0,0890 (P>0,999).

Наведено можливість зміни показника середовищної чутливості селекційним шляхом на основі оцінки і добору відповідних бугаїв-плідників.

Встановлено, що низький рівень пластичності первісток за надоєм призводить до погіршення відтворної функції (спостерігається тенденція до збільшення міжотельного періоду). Це пояснюється виникненням від'ємного балансу енергії у первісток, що спричиняє певні ускладнення і подовжує міжотельний період.

Виявилося, що між показниками середовищної чутливості, що були визначені на різних відрізках онтогенезу, існує високий коефіцієнт кореляції (R^2=0,99). Іншими словами, норма

реакції або тип реагування на середовищні коливання стійко повторюється протягом життя тварин.

Доведено високу прогностичну цінність лінійної моделі, основаної на оцінці показників середовищної чутливості у тварин. Запропонований підхід дозволяє за нормою реакції середовищної чутливості підбирати до стад з певними коливаннями лімітуючих факторів генотипи тварин, що оптимально реагують за такими ознаками як надій, міжотельний період і продуктивне довголіття.

Інститут тваринництва УААН

УДК 575.2 : 636.082

Т.М. ДИМАНЬ, В.І. ГЛАЗКО, Е.В. ЛАНІН

ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ЛЕБЕДИНСЬКОЇ ПОРОДИ ЗА БІОХІМІЧНИМИ МАРКЕРАМИ

Коливання у потребах ринку, інтенсифікація тваринництва призвели до того, що значно скоротилась чисельність локальних вітчизняних порід, створених багаторічною народною селекцією. Водночас використання імпорту порід, світових лідерів у відношенні певних господарсько-корисних ознак, не завжди виявляється ефективним, оскільки імпортований селекційно-племінний матеріал збільшує ризик занесення у вітчизняні стада нових мутацій, які виникають у невеликої кількості видатних плідників, а також нових інфекційних захворювань. У цьому зв'язку очевидна практична значимість збереження і використання у селекційній роботі локальних вітчизняних порід, глибоке дослідження їхньої генетичної своєрідності.

Мета даної роботи — вивчення генетично детермінованого поліморфізму 30 генетико-біохімічних систем крові у чисто-

© Т.М. Димань, В.І. Глазко, Е.В. Ланін, 2001

породних тварин лебединської породи і помісей їх з поліпшуючою швіцькою породою, які відтворюються в умовах дослідного господарства Сумської державної обласної сільськогосподарської станції.

Унаслідок електрофоретичного аналізу білків плазми крові та ферментів еритроцитів у чистопородних і помісних тварин лебединської породи виявлено поліморфізм за локусами трансферину (TF), посттрансферину (PTF), α1, β-глікопротеїну (A1B), гемоглобіну (HB), церулоплазміну (CP), амілази-1 (AMY-1), пуриннуклеозидфосфорилази (NP), лужної фосфатази (AP) та карбоангідрази (CA). Решта систем були мономорфними.

Групи помісних тварин за розподілом алельних варіантів у системі TF та HB виявились більш подібними з чистопородними лебединськими тваринами, ніж із швіцькими. Лише у чистопородних лебединських корів з відносно високою частотою зустрічався найшвидший алельний варіант D за локусом AP (0,214), у помісного потомства з різною "часткою кровності" цього варіанта не спостерігали. Чистопородні тварини мали найвищий рівень гетерозиготності як за даним локусом (50%), так і за локусом CA (29%). Помісні тварини з переважанням "кровності" швіців були схожими з чистопородними швіцькими тваринами і відрізнялись від інших груп підвищеною частотою алеля NpH (0,880). У системі CP потомство F1 виявило більшу схожість до батьківської породи, а група з переважанням "кровності" швіців — до материнської. У системі AMY-1 потомство F1 вирізнялось серед решти підвищеною часткою гомозигот — як Amy-1 BB (44%), так і Amy-1 CC (44%), що зумовило відхилення від стану рівноваги (χ^2=6,32, P<0,05) згідно з законом Харді-Вайнберга.

На основі розподілу алельних частот поліморфних генетико-біохімічних систем розраховано генетичні відстані за методом М. Нея (1972) і виконано кластерний аналіз між чистопородними і помісними тваринами. Групи помісних тварин за участю лебединської породи утворюють єдиний кластер, який чітко диференціюється від чистопородних тварин швіцької

породи. Перше покоління від схрещування чистопородних тварин за генетичною структурою виявляється значно ближчим до материнської лебединської породи, ніж до батьківської — швіцької, що свідчить про підвищений консерватизм генетичної структури лебединської породи (за дослідженими генетико-біохімічними системами), який зберігається навіть при схрещуванні з генеалогічно близькою породою. Основний внесок щодо збереження подібності між лебединською породою і помісями здійснює підвищена частота алельних варіантів Tf D1 і HbA.

Білоцерківський державний аграрний університет

Інститут агроекології і біотехнології УААН

УДК 575:113

С.М. КОРІННИЙ, В.М. БАЛАЦЬКИЙ

ГЕНЕТИКО-ПОПУЛЯЦІЙНИЙ АНАЛІЗ СТАДА ВНУТРІШНЬОПОРОДНОГО ТИПУ УВБ-1 НА ОСНОВІ ІМУНОГЕНЕТИЧНОГО ТА ДНК-МАРКЕРУВАННЯ

Селекційна робота в стадах сільськогосподарських тварин супроводжується зміною генетичної структури популяцій. Це стосується не тільки тих генетичних систем, що контролюють господарські ознаки, але й тих, що не підпадають безпосередньо під вплив селекційно-племінної роботи. Такими, зокрема, є поліморфні системи груп крові. В силу відомих позитивних особливостей вони можуть використовуватись для моніторингу генетичних процесів, що відбуваються у стаді. Але нині набирають силу в генетико-популяційних дослідженнях поліморфні ДНК-маркери такі, як RAPD-маркери та мікросателіти (STR-локуси).

© С.М. Корінний, В.М. Балацький, 2001

У 2000 р. проведено генетико-популяційний аналіз основних свиноматок внутрішньопородного типу УВБ-1 племзаводу "Комсомолець" Миколаївської області (n=52), що відносились до чотирьох генеалогічних родин: Волшебниці, Герані, Тайги та Беатриси.

Популяцію тварин досліджено за імуногенетичними поліморфними системами груп крові: A, B, D, E, F, G, H, K, L, M, а також мікросателітною системою S0097.

Одержані результати виявились такими.

Рівень гетерозиготності в цілому по популяції за групами крові становив 0,302. По родинах найвища гетерозиготність спостерігалась в родині Герані (0,356), найнижча — Беатриси (0,290). Щодо мікросателітної системи, то рівень гетерозиготності по стаду становив 0,652, а по родинах найвища гетерозиготність відмічена у родині Тайги (0,785), найнижча — Герані (0,333). Рівень гетерозиготності за мікросателітами значно перевищує рівень гетерозиготності за групами крові, що є результатом високого рівня поліморфізму STR — локусів.

Така парадоксальна, на перший погляд, ситуація, коли за одним класом для однієї і тієї самої популяції спостерігається найвища у стаді гетерозиготність, а за іншим — найменша, пояснюється природою і розташуванням маркерних локусів. Слід припустити, що у даному випадку (для родини Герані) STR-локус (13 хромосома) зчеплений з генами, котрі контролюють ознаки, підлеглі більш жорсткій селекції, що призводить до підвищення рівня гомозиготності тварин досліджуваних за цим маркером. Водночас локуси груп крові L та D, які картовані у цій самій хромосомі не маркерують ці ознаки.

Таким чином, для більш точної оцінки популяцій бажано використовувати різні типи молекулярно-генетичних маркерів у комплексі.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.2.034:519.233.5

М.М. ГАНЧЕВ, М.Ф. БОЙКО, Г.П. БОНДАРЕНКО

РАННЄ ПРОГНОЗУВАННЯ ПРОДУКТИВНИХ ЯКОСТЕЙ ПЕРВІСТОК ЯК МЕТОД РАЦІОНАЛЬНОГО ВИКОРИСТАННЯ ГЕНОФОНДУ ТВАРИН

Важливим інструментом раціонального використання генофонду молочної худоби є рання оцінка продуктивних якостей. Це дає змогу швидше зробити висновок стосовно доцільності подальшого використання корови і отримувати від неї нащадків для відповідного вирощування за племінним призначенням, а також стосовно доцільності використання бугаїв-плідників, не дочікуючись закінчення лактації їхніх дочок. За даними багатьох дослідників, серед різних генетико-статистичних методів прогнозування найефективнішим підходом є використання даних за початкові проміжки лактації.

Дослідження проводили на матеріалах гурту великої рогатої худоби ВАТ ПЗ "Більшовик" Ясинуватського району Донецької області з використанням даних племінного обліку молочної продуктивності по усіх коровах чорно-рябої породи (90 голів), яких було згруповано за сезонами першого отелення. Вивчали показники місячних і середньодобових надоїв по місяцях першої лактації, а також віковій динаміці молочної продуктивності. Цифровий матеріал обробляли на IBM PC за програмами GESTA і SIGMA.

Для вивчення особливостей лактаційної діяльності обчислювали основні параметри лактаційних кривих: показник повноцінності лактації, коефіцієнти Вільсона і Калантара.

Узагальнюючи отримані результати, слід зауважити, що хід лактаційної діяльності первісток різних сезонів отелень має свої особливості. Це виявилось, перш за все, у різній швидкості нарощування лактації, тобто у різному терміні досягнен-

© М.М. Ганчев, М.Ф. Бойко, Г.П. Бондаренко, 2001

ня максимальних середньодобових надоїв, а також у неоднаковій рівномірності її протікання.

Порівняльний аналіз ефективності різних методів лінійної та нелінійної регресії при розробці методу прогнозування молочної продуктивності за лактацію з використанням даних надоїв за перші її проміжки (перші 90 днів, другий і третій місяці) встановив, що усі регресійні моделі характеризуються досить високою ймовірністю, однак найпростішою і тому найпридатнішою для практичного застосування є лінійна регресія. Для кожної з груп первісток обране таке рівняння, яке дає найменшу величину середньозваженої помилковості результатів прогнозування. Вивчення вікової динаміки молочної продуктивності з використанням коефіцієнтів змінення надоїв за віком дало змогу встановити математичну залежність у вигляді рівняння параболи другого порядку, що прогнозує молочну продуктивність корів по лактаціях, грунтуючись на даних за перші проміжки першої лактації.

Таким чином, встановлені закономірності відкривають шлях для побудови графічних номограм прогнозування молочної продуктивності та їх комп'ютерних аналогів.

Луганський державний аграрний університет

УДК 636.012.12

Н.Ю. СТЕПАНОВА, В.М. БАЛАЦЬКИЙ, О.І. МЕТЛИЦЬКА

РОЗПОВСЮДЖЕННЯ АЛЕЛІВ RYR1- ТА GH-ГЕНІВ У ПОПУЛЯЦІЯХ СВИНЕЙ РІЗНИХ ПОРІД

Актуальним завданням біологічних досліджень є пошук генів та їх варіантів, які б забезпечували прояв бажаних ознак. Вона вирішується шляхом маркірування локусів кількісних ознак (QTL). До генів, що є кандидатами у QTL поряд з іншими, відносяться ріанодинрецепторний ген (RYR1) і ген гормону росту (gGH).

© Н.Ю. Степанова, В.М. Балацький, О.І. Метлицька, 2001

Точкова мутація RYR1-гена, при якій відбувається заміна цитозину в позиції 1843 на тимін, призводить до заміни аргеніну на цистеїн у 615 позицій амінокислотної послідовності ріанодинрецепторного білка. Ця мутація асоційована з виникненням стрес-синдрому свиней (PSS). Серед генів, що контролюють ріст і розвиток організму, особливе місце займає gGH, він відрізняється значним поліморфізмом, функційною та структурною різноманітністю (варіабельністю) його білкового продукту.

Визначення ролі вказаних генів та їхніх алельних варіантів у формуванні продуктивних ознак свиней різних генотипів м'ясного і м'ясосального напряму — мета даної роботи.

Проведено типування за RYR1-геном свиней порід: великої білої (ВБ), миргородської (М), полтавської м'ясної (ПМ), української м'ясної (УМ) та за gGH-свиней внутріпородного типу УВБ-1, великої білої англійської селекції (ВБА), УМ.

У популяціях свиней ВБ та М порід мутантний алель RYR1-гена (Т-алель) не був виявлений взагалі. Водночас істотна концентрація цього алеля RYR1 гена серед вітчизняних порід характерна для ПМ та УМ порід свиней. Ймовірно, що рецесивний алель RYR1-гена, який зустрічався з відносно великою частотою в ПМ породі (0,200), є одним із результатів "прилиття крові" п'єтренів (відомо, що ця ультрам'ясна порода відрізняється високою концентрацією рецесивного алеля RYR1-Т).

При дослідженні гену гормону росту у свиней внутрішньопородного типу УВБ-1 та порід ВБА і УМ були знайдені декілька алельних MspI-варіантів частинки гена, що обмежена праймерами BG-3 та BG-4. Алелі А і В різняться за наявністю або відсутністю сайту Msp-I рестрикції у положенні 742 п.н. Концентрація алелів А і В для порід УВБ-1, ВБА і УМ відповідно становлять: 0,897 і 0,103; 0,846 і 0,154 та 1,000 і 0,000.

Алелі С і D різняться за наявністю або відсутністю сайту Msp-I рестрикції в положенні 878 п.н. Концентрація алелів С і D для цих порід відповідно становлять: 0,000 і 1,000 ; 0,013 і 0,987 та 0,500 і 0,500.

Різниці між породами за частотами алелів gGH не були достовірними за виключенням концентрації алелів C і D в УМ породі. Можна припустити можливість участі C і D алелів gGH в УМ породі у формуванні специфічних ознак її продуктивності.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.22/.28.082.4

Н.Л. БОДАК, Ю.П. ПОЛУПАН

АДАПТАЦІЙНІ ТА ГЕНЕТИЧНІ АСПЕКТИ ЕФЕКТИВНОСТІ ДОВІЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ХУДОБИ

Шляхом ретроспективного аналізу за матеріалами племзаводу "Бортничі" Київської області вивчили міжгрупову диференціацію за 11 показниками тривалості та ефективності довічного господарського використання 1655 корів української чорно-рябої молочної породи та імпортованих із Східної та Західної Німеччини, Данії, Нідерландів та Великобританії з групуванням за умовною кровністю за голштинською породою.

У середньому корови використовувались у стадії 3,18±0,44 лактації протягом 1283±17,5 днів. Довічний період лактування становив 1066±14,8 днів, тривалість життя — 2217±17,5 днів. За життя у середньому від корови надоєно 19283±292,2 кг молока із вмістом 3,69±0,005% жиру, що відповідає довічному виходу 714,5±11,32 кг молочного жиру. Середній довічний удій за 1 день лактування становив 17,7±0,09 кг, за 1 день господарського використання — 14,7±0,09 кг і за 1 день життя — 8,0±0,08 кг. За дослідженими ознаками відмічено близький до нормального розподіл, що

© Н.Л. Бодак, Ю.П. Полупан, 2001

підтверджується невисокими і недостовірними коефіцієнтами асиметрії та ексцесу за виключенням додатнього ексцесу за довічним виходом молочного жиру (6, 11).

• Більшість імпортованих корів добре адаптувались в умовах племзаводу "Бортничі", про що свідчить тривале їхне використання та висока довічна продуктивність. За тривалістю життя, господарського використання та довічною продуктивністю народженим у даному племзаводі ровесницям поступались лише корови імпортовані зі Східної Німеччини. Нижча довічна їх продуктивність зумовлена як гіршою адаптаційною здатністю, так і нижчим потенціалом продуктивності (удій за 1 день лактування). Тварини, що імпортовані з Нідерландів, Данії та Західної Німеччини навпаки достовірно переважали місцевих ровесниць за тривалістю використання, життя і довічною продуктивністю, за помітної переваги по удою за 1 день лактування.

• За середнім довічним надоєм за 1 день лактування спостерігається чітка стабільна тенденція до його підвищення зі зростанням умовної кровності за голштинською породою від 0 (вихідна чорно-ряба порода) до 93,75% (четверте покоління від поглинального схрещування). Разом з тим, за тривалістю життя лише 3/4-кровні тварини і лише на 5 днів перевищують напівкровних помісей. Висока тривалість життя останніх, на нашу думку, пояснюється ефектом гетерозису. Істотну перевагу за довічним надоєм мали помісні тварини з кровністю за поліпшуючою породою від 75% (22589 кг) до 93,75% (22093 кг).

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.

Ю.Ф. МЕЛЬНИК, М.В. ДІДИК, Б.Є. ПОДОБА, Р.О. СТОЯНОВ

ІМУНОГЕНЕТИЧНА ЕКСПЕРТИЗА У ТВАРИННИЦТВІ УКРАЇНИ

У другій половині минулого століття значного розвитку набула імуногенетика тварин, котра сприяла поглибленню уявлень про природу спадковості, її закономірності, від якої деякий час очікували істотних результатів щодо інтенсифікації селекційного процесу. Одним з тих, хто започаткував імуногенетичні дослідження у тваринництві України, був І.В. Смирнов, за ініціативою і безпосередньою участю якого у 1964 р. здійснено переклад і видавництвом "Урожай" видано монографію видатного чеського імуногенетика Й. Матоушека "Групи крові великої рогатої худоби". Під науковим керівництвом Ігоря Васильовича підготовлена і захищена у 1971 р. І.Р. Гіллером дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук "Вивчення генетично обумовлених поліморфних систем крові симентальської худоби і можливості їх використання в селекції".

Подальший розвиток імуногенетики сільськогосподарських тварин в Україні пов'язаний з проведенням досліджень щодо застосування поліморфних систем, зокрема груп крові, у вирішенні цілої низки теоретичних, методичних і практичних питань генетики, селекції і розведення тварин. Одним з прикладних аспектів застосування груп крові у племінній роботі став імуногенетичний контроль походження племінних тварин.

За Законом України "Про племінну справу у тваринництві" генетична експертиза походження — це ідентифікація тварин лабораторними методами з метою контролю достовірності їх походження. Відповідно до Закону суб'єкти племінної справи у тваринництві зобов'язані виконувати вимоги щодо реєстрації тварин, ведення офіційного обліку продуктивності та офіційної

© Ю.Ф. Мельник, М.В. Дідик, Б.Є. Подоба, Р.О. Стоянов, 2001

класифікації (оцінки) за типом, а також проведення генетичної експертизи походження їх, яка повинна забезпечити дотримання таких вимог до племінних ресурсів: племінні тварини мають бути ідентифіковані; сперма має бути одержана від племінних атестованих плідників, допущених до використання, ідентифікована; ембріони, яйцеклітини повинні бути одержані від племінних тварин, ідентифіковані; бугаї-плідники, жеребці-плідники та плідники інших видів тварин атестуються та допускаються до відтворення у встановленому порядку.

Сама по собі генетична експертиза гарантує високу точність родоводів племінних тварин і попереджує зниження ефективності тих методів селекції і розведення, які грунтуються на врахуванні їх генеалогії. Але цим роль імуногенетичних методів у племінній роботі не вичерпується. Одержувана у процесі проведення контролю походження тварин інформація створює підгрунтя для застосування генетичних маркерів: при записі тварин до Державної книги племінних тварин і каталогів окремим рядком перед родоводами тварин подаються дані про типи їх крові та інші спадковообумовлені генетичні системи; при апробації селекційних досягнень проводиться аналіз генетичної структури порід, типів, ліній або генотипів окремих тварин на основі маркування спадкового матеріалу групами крові та іншими генетичними поліморфними системами; при випробуванні заводських, новостворених, локальних порід проводиться оцінка ступеня консолідації їх і диференціації на основі імуногенетичного аналізу їх генетичної структури; при селекції плідників з врахуванням імуногенетичної інформації плануються замовні парування, здійснюється добір продовжувачів ліній та інших споріднених груп.

Одним із важливих завдань є забезпечення генетичної експертизи коней і їх сертифікації за стандартами, гармонізованими з міжнародними вимогами. З цією метою передбачається налагодити процес промислового виробництва реагентів для визначення груп крові коней і створити необхідну базу для тестування їх за комплексом інших поліморфних систем.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082.454.4

І.П. ПЕТРЕНКО

СПІВВІДНОШЕННЯ СТАТЕЙ У ПОТОМСТВІ КОРІВ ЗАЛЕЖНО ВІД РІВНЯ ЇХ МОЛОЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ

Видатний всесвітньовідомий вчений І.В. Смирнов у своїй науковій діяльності приділяв певну увагу вивченню питання впливу деяких чинників середовища на організм тварин у зв'язку із співвідношенням статей в потомстві їх (Смирнов І.В., 1953; Смирнов І.В.,.Лисенко Ю.М., 1957).

Нами вивчалось питання можливого впливу стану фізіологічного навантаження організму корів у зв'язку з різним рівнем їх молочної продуктивності за лактацією, в момент запліднення, на співвідношення статей в їх потомстві.

Для аналізу використано матеріали зоотехнічного обліку 14 племінних господарств України симентальської і чорно-рябої порід великої рогатої худоби за 1975—1978 рр. Всього проаналізовано співвідношення статей потомства від 7224 нетелей і 23096 корів різних розтелень, а також від 2612 корів з рекордним рівнем молочної продуктивності 6000 кг і вище. Співвідношення статей потомства в аналізованих групах корів з різним рівнем їхньої молочної продуктивності порівнювали з теоретично-очікуваним (1:1), а також із співвідношенням статей потомства, одержаного від нетелей (табл.1)

Аналіз численних даних статевого складу приплоду корів свідчить (табл. 2), що у всіх проаналізованих групах корів з різним рівнем їхньої молочної продуктивності співвідношення статей потомства практично відповідає теоретичному (1:1), оскільки відхилення у групах завжди статистично не вірогідне ($P>0,05$). В цілому ж для всієї виборки аналізованих корів ($n=23096$) у потомстві народжувалось дещо більше бугайців $1,3\pm0,33\%$ ♂♂ ($P<0,05$).

© І.П. Петренко, 2001

1. Співвідношення статей в потомстві нетелей

Роки	Одержано потомства, гол.	У тому числі		% бугайців (M±m)	Вірогідність відхилення від теоретичного (1:1), P
		бугайців	теличок		
1975	1830	939	891	51,3±1,17	>0,05
1976	2254	1114	1140	49,4±1,05	>0,05
1977	2081	1044	1037	50,2±1,10	>0,05
1978	1059	521	538	49,2±1,54	>0,05
Всього	**7224**	**3618**	**3606**	**50,1±0,54**	**>0,05**

Загалом, можна стверджувати, що співвідношення статей у потомстві корів не залежить від рівня молочної продуктивності їх за лактацію, а залишається на рівні теоретично—очікуваного (1:1).

Від корів, запліднених у період лактації з рекордною молочною продуктивністю (6000 кг і вище), у потомстві народжувалось також дещо більше бугайців (51,8±0,98% ♂♂), проте ця незначна перевага (1,8±1,39% ♂♂) статистично не вірогідна (P >0,05). Подібна закономірність спостерігається не тільки в

2. Співвідношення статей у потомстві корів залежно від рівня їхньої молочної продуктивності

Продуктивність корів за 305 днів лактації, кг	Одержано потомства, гол.	Утому числі		% бугайців (M±m)	Вірогідність відхилення від теоретичного (1:1), P
		бугайців	теличок		
До 2000	1140	553	587	48,5±1,49	>0,05
2001—3000	4479	2291	2188	51,1±0,75	>0,05
3001—4000	6610	3380	3230	51,1±0,62	>0,05
4001—5000	5640	2907	2733	51,5±0,67	>0,05
5001—6000	3237	1685	1552	52,1±0,88	>0,05
6001—7000	1380	713	667	51,7±1,34	>0,05
7001—8000	446	243	203	54,5±2,33	>0,05
8001—9000	133	63	70	47,4±4,35	>0,05
9001 і вище	31	14	17	45,2±8,94	>0,05
Всього	**23096**	**11849**	**11247**	**51,3±0,33**	**<0,05**

3. Співвідношення, повторення і зміна статей у потомстві корів з рекордною молочною продуктивністю.

Продуктивність корів за 305 днів лактації, кг	Потомство від запліднення в період лактації за рекордною молочною продуктивністю				Повторення статі потомства відносно попереднього розтелу					Зміна статі потомства відносно попереднього розтелу				
	Всього, гол.	У тому числі:		% самців (M±m)	Всього, гол.	У тому числі				Всього, гол.	У тому числі на			
		♂♂	♀♀			♂♂	%	♀♀	%		♂♂	%	♀♀	%
6000—6999	1841	952	889	51,7±1,16	952	519	53,3	433	50,1	889	433	50,1	456	46,8
7000—7999	561	292	269	52,0±2,11	288	170	53,0	118	49,2	273	122	50,8	151	47,0
8000 і більше	210	110	100	52,4±3,45	107	63	54,3	44	48,9	103	47	52,2	56	48,3
Всього	**2612**	**1354**	**1258**	**51,8±0,98**	**1347**	**752**	**53,3**	**595**	**49,8**	**1265**	**602**	**50,4**	**663**	**47,0**

середньому для всіх високопродуктивних корів (n=2612), а також і у всіх трьох групах корів, сформованих залежно від рівня їхньої рекордної молочної продуктивності (табл. 3)

Нами досліджено також частоту повторення і зміни статей у потомстві корів, одержаному від запліднення їх у період лактації за рекордною молочною продуктивністю, порівняно з попереднім суміжним розтелом (табл. 3).

При аналізі повторення статі попереднього розтелу, окремо по бугайцях і теличках, спостерігається така сама чітка закономірність. Незалежно від рівня рекордної молочної продуктивності, повторне народження бугайців відбувається в межах 53,0—54,3%, теличок — 48,9—50,1%. Виявлені незначні відхилення від 50% ймовірності статистично не вірогідні (ρ>0,05).

Вивчення процесу зміни статей у потомстві, одержаному від запліднення корів у період їх лактації за рекордною молочною продуктивністю, свідчить про аналогічну статистичну закономірність (1:1) у популяції. Із 2612 корів змінили стать потомства на протилежну, порівняно із попереднім розтелом, 1265 голів, тобто 48,4±0,98% (P>0,05). При цьому 50,4±1,45% корів змінили стать потомства із теличок (♀♀) на бугайців (♂♂) у рекордну молочну продуктивність і, навпаки, 47,0±1,33% корів змінили стать потомства із бугайців (♂♂) на теличок (♀♀) . Незначні відхилення від теоретичної частоти (50% : 50%) зміни статей потомства як в середньому для всієї групи корів (n=1265), так і окремо в кожній аналізованій групі градацій за рекордним надоєм, виявились статистично не вірогідними (ρ>0,05).

Отже, наведені численні статистичні дані аналіза достатньо переконливо свідчать про те, що хромосомний механізм визначення статі у корів, який діє на вірогідній основі зустрічі Х- або У-спермій в у процесі запліднення яйцеклітин, не піддається спрямованій дії такого чинника, як рівень надою корови за лактацію, у тому числі і рекордного, незважаючи на існуючий взаємозв'язок продуктивності корів з високим фізіологічним навантаженням їх організму, з підвищеним типом обміну речовин при рекордних надоях.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636. 22/28. 082.26

І.А. РУДИК, В.В. БУШТРУК, І.С. СТАРОСТЕНКО

ЕФЕКТИВНІСТЬ ДОБОРУ РЕМОНТНИХ БУГАЙЦІВ ЗА СПЕРМОПРОДУКТИВНІСТЮ ЇХ БАТЬКІВ

Спермопродуктивність бугаїв є одним із важливих показників їхньої оцінки. Найкращий за походженням, екстер'єром і конституцією бугаєць, може бути відібраним у групу ремонтних плідників, якщо він має задовільні показники спермопродуктивності. Але вже після народження бичків необхідно проводити їх добір для подальшого вирощування. Тому необхідний ефективний метод для добору ремонтних бугайців.

Мета нашої роботи — виявлення можливостей добору ремонтних бугайців за показниками спермопродуктивності їх батьків. У зв'язку з цим нами було відібрано 12 плідників, які інтенсивно використовувались у породі і в цілому мали 96 синів.

При оцінці генотипу бугая за молочною продуктивністю дочок мінімальною їх кількістю є 20 дочок. Для оцінки бугаїв за спермопродуктивністю їх потомків, необхідний мінімум становить 10 синів, оскільки коефіцієнт успадковуваності цих ознак у 2 рази більший ступеня успадковуваності надою, тобто становить $h^2=0,4$.

Із 222 бугаїв чорно-рябої породи, які були оцінені за якістю потомства, тільки п`ять плідників (С. Сексес 5/1698624, Р.К. Генрі 320300, А. Мак 1696981, Ельбрус 897, Монфреч 325222) мали 10 і більше синів. Це вказує на те, що на практиці ведеться екстенсивна система добору батьків бугаїв. Ці бугаї мають високу племінну цінність за загальною спермопродуктивністю, що зумовило високу середню племінну цінність у їх синів.

Так, у бугаїв Ровендал 1701488 племінна цінність за загальною спермопродуктивністю становить +0,63 млрд., а чотирьох його синів +0,60; Суден Сексес 5/169862 має цей показник на рівні +0,54 млрд., а оцінка племінної цінності його 10 синів становить +0,60. Причому 70—75% синів цих бугаїв належать до категорії поліпшувачів за спермопродуктивністю.

Серед синів, одержаних від бугаїв-погіршувачів за спермопродукцією Елевейшна 139, Джейрана 9057 та Індика 554, найбільша частота погіршувачів (50—60%). Племінна цінність їх за показниками спермопродуктивності становить –0,21 : –0,33 млрд.

Отже, наявність залежності рівня спермопродуктивності бугаїв-синів від цих показників у батьків, а також кореляція "батько-син" (r=+0,52, P >0,999) свідчать про можливість раннього добору ремонтних бугайців на основі оцінки генотипу їх батьків за спермопродуктивністю.

Білоцерківський державний аграрний університет

© І.А. Рудик, В.В. Буштрук, І.С. Старостенко, 2001

УДК 636.082.2.033

Л.О. ТИМЧЕНКО, О.Г. ТИМЧЕНКО

АНГУСЬКА ХУДОБА В ПОРОДОТВОРНОМУ ПРОЦЕСІ

Розвиток м'ясного скотарства як самостійної галузі в Україні базувався на імпорті сперми бугаїв-плідників м'ясних порід і використанні товарної частини стада планових молочних порід. Використовували різні варіанти схрещувань представників цих порід (в основному промислове), де оцінювали їх ефективність і доцільність подальшого розведення для відтворення помісей. Дещо пізніше почали завозити і маточне поголів'я м'ясної худоби для чистопородного розведення і використання в породотворному процесі. До таких порід належать: ангуська (абердин-ангуська), герефордська, шаролезька, лімузинська, симентальська, кіанська тощо. Більшість з них добре акліматизувались, їх розводять і донині.

© Л.О. Тимченко, О.Г. Тимченко, 2001

У даний час маємо вітчизняні українську, волинську, поліську м'ясні породи великої рогатої худоби і завершується робота щодо створення ще знам'янської, таврійської, асканійської, симентальської та інших порід.

Чи потрібно нам мати таку кількість м'ясних порід? Україна займає велику територію, різноманітні грунтово-кліматичні зони — Степ, Лісостеп, Полісся, передгір'я Карпат, Карпати, Закарпаття тощо, особливості яких впливають і на набір кормових культур. Тому господар повинен мати право вибору худоби тієї породи, яка була б не тільки добре пристосована до умов даного регіону, а і відзначалась належною продуктивністю. Отже, якщо мати в країні 8—10 вітчизняних м'ясних порід великої рогатої худоби, то це значно обмежить її імпорт.

Накоплена достатня кількість експериментального матеріалу щодо оцінки ефективності різних варіантів схрещування, породовипробування і якості одержаної продукції від тварин різних генотипів, що дає можливість визначити і обгрунтувати доцільність використання їх у породотворному процесі і обмеженість імпорту.

Однією з цікавих у цьому плані є ангуська худоба, яка у числі перших почала імпортуватись в нашу країну, а маточне поголів'я було завезене із Шотландії і Канади в 1961—1962 рр. На племінному заводі ангуської худоби (смт Ворзель) вона добре акліматизувалась і проявила хороші продуктивні якості. Досить нагадати, що бугай Гуїс С1 (Шотландія) мав живу масу 950 кг, а його внук Банан 67 — 1100 кг, корова Ганка 18 Ка 22 мала живу масу 642 кг, а Банка 32 Ка 8 — 600 кг (обидві є чемпіонками породи); вихід телят за десятки років був понад 96%, а жива маса новонароджених становила 22—25 кг. У дослідах із стабільною годівлею і організованими підгодівлями молодняку в підсисний період жива маса бугайців у 12-місячному віці сягала 400 кг. Основною причиною зниження продуктивності в окремі роки була нестабільна кормова база. Наведені дані свідчать, що відносити ангуську худобу до дрібних порід немає підстав.

Цінними селекційними ознаками цієї породи є висока відтворна здатність, дрібноплідність і добре розвинена задня

третина тулуба з пишною мускулатурою (штани, галіфе), яка низько опускається до скакального суглобу. Остання ознака обумовила збільшення забійного виходу на 3—5 % і зменшення вмісту кісток у туші на 3,7—4,8% порівняно з представниками симентальської, чорно-рябої і білоголової української порід, що встановлено в експериментальних забоях, проведених на Дослідній станції м'ясного скотарства УСГА.

Такі особливості морфологічного складу туші у тварин ангуської породи порівняно з симентальськими у 18-місячному віці сприяли збільшенню виходу м'якуша (їстівної частини) туші на 60—65 кг, або явищу боніфікації живої маси на 90—95 кг. Це ті ознаки ангуської худоби, які в породотворному процесі мають провідне значення.

Використання тварин ангуської породи у різних варіантах промислового схрещування (нами проаналізовано понад 50 результатів дослідів) у більшості випадків сприяло прояву ефекту схрещування, але були дані нульового і навіть негативного впливу на ріст помісей. Оцінка такого заходу за виходом м'якуша туші, як правило, не проводилась. Ми вважаємо, що причиною одержання таких розбіжних даних за ефектом схрещування є недостатній рівень годівлі піддослідних тварин. Все ж таки використання тварин висококультурних порід у будь-якому схрещуванні вимагає належного рівня годівлі помісей від народження до забою, чи повновікового стану, який би забезпечував до 15—18-місячного віку одержання кілограмових і більше середньодобових приростів.

Є нарікання, що тварини ангуської породи швидко осалюються і дають жирну яловичину. Якщо врахувати, що вони відносяться до скороспілих порід і у ранньому віці (12—15 місяців) дають більш зрілу яловичину порівняно з тваринами пізньоспілих довгорослих порід, то це є визначальною ознакою для їх забою в цьому віці, що має бути невід'ємним елементом технології замкнутого циклу виробництва яловичини — звільнити худобомісце для наступного покоління. А основним показником скороспілості і зрілості яловичини є наявність певної кількості жирових відкладень в організмі тва-

рини. Крім того, нашими дослідженнями, проведеними на худобі різних типів за скороспілістю, обгрунтовано, що в умовах замкнутого циклу виробництва яловичини при достатньому рівні вирощування молодняку найбільш доцільно забивати на м'ясо бугайців у 15—18-місячному віці (для пізньоспілих порід — до 20 місяців), а телиць — у 12—15 місяців. Це вік найбільшого виходу споживчозрілої яловичини і від окремо взятої тварини і, особливо, з одного худобомісця, беручи в розрахунок його оборот за ряд років. Після цього віку значно змінюється обмін речовин у тварин у бік посилення синтезу жирової тканини і зменшення конверсії протеїну корму в білок тіла, зменшується темп росту найцінніших у споживчому відношенні м'язів і збільшуються затрати кормів на приріст і собівартість продукції. Отже, вказані особливості ангуської худоби мають бути враховані при обгрунтуванні вибору цієї породи як вихідної в породотворному процесі.

Досить рельєфно описані ознаки ангуської породи проявились у тварин волинської, поліської і, особливо, створюваної знам'янської м'ясних порід, де вона використовувалась як вихідна форма. Тепер час селекції на закріплення даних ознак в поколіннях.

Останнім часом деякі спеціалісти "підправляють" ангуську худобу за молочністю, енергією росту тощо, використовуючи при цьому ввідне схрещування з представниками голштинської, чорно-рябої та інших порід. За попередньою оцінкою одержані помісі втратили основну ознаку — добре розвинену і обмускулену задню третину тулуба, а це вплинуло і на забійний вихід, і на вихід м'якуша (огрубіння кісток). Це вже не є ангуська худоба.

Отже, для породотворного процесу потрібні тварини ангуської породи з притаманними тільки їм селекційними ознаками з явно вираженою ейрисомією і використання їх як вихідної форми, що в процесі породотворення дасть необхідний селекційний ефект.

Українська академія аграрних наук

Національний аграрний університет

УДК 636.2.034

С.І. КОВТЮХ*

ВИВЧЕННЯ ГОСПОДАРСЬКО-КОРИСНИХ ОЗНАК УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Наприкінці 1995 р. була реалізована програма щодо створення української чорно-рябої молочної породи. Оскільки порода — динамічна структура, постало завдання про її удосконалення шляхом консолідації за типом і основними селекційними ознаками, що дозволить підвищити генетичний потенціал продуктивності, розширити її племінну базу та внутріпородну структуру.

Дослідження проводили на маточному поголів'ї племзаводу "Бортничі" Київської області. Для аналізу динаміки генеалогічної структури використано родоводи близько 80 бугаїв плідників, які найбільш активно використовувались при формуванні стада племзаводу в останні п'ять років. Ці племінні бугаї були чистопородними або мали більше 50% крові голштинської породи. Аналіз молочної продуктивності тварин різної лінійної структури показав, що кращими були корови таких ліній: Валіанта 1650414 (30—5004—3,62); Монтфреча 91779 (35—4737—3,58); Елевейшина 1491007 (39—5042—3,71). Корови вищевказаних ліній переважали ровесниць за величиною надою на 193—894 кг, відносно жирності молока перевага становила 0,04—0,13%.

Для більшості ліній і споріднених груп тварин коефіцієнт генеалогічної спорідненості характеризувався середньою величиною 63—74%, дещо вищий він у новостворених ліній — 65—71%.

Залежно від варіантів підбору в кожному господарстві проведено аналіз продуктивності тварин. У результаті вста-

**Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук М.Я. Єфіменко.*

© С.І. Ковтюх, 2001

новлено, що у стадах кращими за надоєм були корови, одержані шляхом внутрілінійного підбору, які переважали тварин від кросу ліній відповідно на 283—345 кг молока.

Згідно з методикою, запропонованою М.Я. Єфіменком (1991), проведена оцінка типу екстер'єру. Оцінка за типом будови тіла показала, що тварини відносяться до 3 і 4 типів, що становить 70—75% від загального поголів'я. Кращими за надоєм були корови 5 і 2 типу (за першу лактацію) та 2 і 3 типів (за третю лактацію). Перевага становить в першому випадку 252—1577 кг, у другому — 416—491 кг молока.

За промірами тіла встановлено достовірний корелятивний зв'язок між молочністю і промірами висоти в холці, ширини грудей та косої довжини тулуба, що зростає у корів першого-другого поколінь за голштинською породою і дорівнює 0,104—0,709 ($P<0,05$; $P<0,01$).

Проведено вивчення питання продуктивного довголіття корів української чорно-рябої молочної породи. Кращими виявились генотипні групи 1/4 Г × 3/4 ЧР, 1/2 Г × 1/2 ЧР, отримані середні коефіцієнти повторюваності за показниками молочності 0,273—0,628 ($P<0,01$; $P<0,001$).

За результатами оцінки корів у період росту та розвитку (6, 12, 18 міс.) вищими показниками живої маси відрізнялись генотипи 7/8 Г × 1/8 ЧР і 15/16Г × 1/16 ЧР, перевага над іншими генотипами становила 7,1—11,6%.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082.352

І.В. ЙОВЕНКО

ЗАЛЕЖНІСТЬ ЕФЕКТИВНОСТІ СЕЛЕКЦІЇ ВІД ТОЧНОСТІ ОЦІНКИ ПЛЕМІННОЇ ЦІННОСТІ ЛІНІЙ І РОДИН

Ефективність селекції залежить від трьох основних факторів: генетичної мінливості у популяції, точності оцінки генотипу тварин, інтенсивності добору й використання племінних тварин (насамперед бугаїв-плідників). У будь-якій породі (популяції), враховуючи і породи імпортної селекції, із високим генетичним потенціалом (наприклад, голштинська) величина генетичної мінливості знаходиться в однакових межах, тобто природа надає селекціонерам однакові можливості для добору та підбору.

Подальше вдосконалення новостворених молочних порід значною мірою залежить від ефективного розведення їх за лініями і родинами. Ефективність добору високоцінних корів при формуванні родин визначається методикою оцінки їх племінної цінності за молочною продуктивністю. Нині оцінку і добір корів у племінних заводах проводять за показниками найвищої продуктивності. Але ефективність такого методу добору дуже низька. Кореляція між надоєм корів за найвищою і середньою продуктивністю становить лише 0,1.

Нами пропонується на перспективу методика оцінки племінної цінності ліній і родин, яка грунтується на принципах великомасштабної селекції. Згідно з цією методикою племінна цінність окремих корів родин та матерів бугаїв визначається за формулою (всі формули даної статті визначаються за М.З. Басовським, І.А. Рудиком та ін., 1992)

$$A = \frac{mh^2}{1 + (m - 1)\,t}(x - \bar{x}),$$

де mh^2 — коефіцієнт успадковуваності ознаки за m лак-

© І.В. Йовенко, 2001

тацій; t — коефіцієнт повторюваності ознаки; x — продуктивність корови за першу лактацію; $\bar{x}$ — продуктивність ровесниць.

Одночасно визначається абсолютна продуктивність корів за вказані лактації.

Індекс племінної цінності корів за трьома джерелами інформації розраховуємо за формулою

$$I_{МБ}=B_1A_1+B_2A_2+B_3A_3,$$

де A_1, A_2, A_3 — перемінна цінність матері, батька і корови за власним фенотипом; B_1, B_2, B_3 — вагові коефіцієнти для кожного джерела інформації відповідно матері, батька і корови.

При цьому апробовуються різні варіанти підбору ровесниць: в межах стада, де вирощена корова, в межах биковиробничих стад, з урахуванням року народження, генотипу, генетичного тренду та ін.

Середню племінну цінність усіх корів родини знаходимо з виразу (з урахуванням моделі визначення племінної цінності окремих корів)

$$A_{род.}=(A_{р.р.}+\bar{A}_д+\bar{A}_о+\bar{A}_{пр}+\ldots\bar{A}_i)/\Sigma_n,$$

де $A_{р.р.}$ — племінна цінність родоначальниці родини, $\bar{A}_д$, $\bar{A}_о$, $\bar{A}_{пр}$, $\bar{A}_i$ — середня племінна цінність дочок, онучок, правнучок та ін.; Σ_n — кількість голів в родині.

Середня племінна цінність бугаїв лінії визначається наступним чином :

$$A_{л.}=(A_{р.л.}+\bar{A}_с+\bar{A}_о+\ldots\bar{A}_i)/\Sigma_n,$$

де $A_{р.л.}$ — племінна цінність родоначальника лінії; $\bar{A}_с$, $\bar{A}_о$, $\bar{A}_i$ — середня племінна цінність відповідно синів, онуків та ін.; Σ_n — кількість представників лінії.

При цьому визначається середня племінна цінність бугаїв кожного щабля родовідної лінії (синів, онуків, правнуків і т.д.) і аналізується динаміка та залежність її в поколіннях як в окремих лініях, так і в цілому в популяції.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082

Л.В. ПЕШУК

ШЛЯХИ ПІДВИЩЕННЯ ГЕНЕТИЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЧЕРВОНОЇ ХУДОБИ

На сучасному етапі в скотарстві України проводиться широка програма перетворення порід, виведення нових породних груп, внутріпородних типів, ліній, високопродуктивних стад з використанням кращого світового генофонду. Міжпородне схрещування є радикальним методом поліпшення продуктивності, що дає змогу використовувати комбінативну мінливість і методом цілеспрямованого відбору тварин із сприятливим поєднанням селекційних ознак сформувати за порівняно короткий термін бажаний тип молочної худоби. При виведенні тварин жирномолочного типу червоної молочної породи відбір проводили не тільки за продуктивними, але й за екстер'єрними ознаками. Відомо, що тільки добре розвинута, здорова тварина може бути високопродуктивною і тривалий час використовуватись у господарстві. У процесі досліджень встановлено, що тварини жирномолочного типу мають гармонійну будову тіла, міцну конституцію з достатньою кількістю складок на шиї, тонку еластичну шкіру — всі ті ознаки, що відповідають тваринам молочного типу продуктивності. Для більш достатньої оцінки екстер'єру взято дев'ять основних промірів статей тіла повновікових тварин.

За висотними промірами трьохпородні (ЧС × АНГ × ЧД) та (ЧС × АНГ × ГФ) вірогідно переважали червону степову на 3,4...5,9 см ($P< 0,01$) та на 4,0...5,8 см ($P< 0,001$), перевага двопородних помісей була незначною і статистично недостовірною ($td=1,53$). За широтними промірами перевагу над червоною степовою мали як поліпшуючі чистопородні, так і помісні тварини ($td=3,3$ — $6,5$). По глибині грудей перевагу мали чистопородні червоні датські $P<0,001$, та трьохпородні

© Л.В. Пешук, 2001

помісі (ЧС × АНГ × ЧД) 7,5 см (P<0,01). По обхвату грудей за лопатками і непрямої довжини тулуба достовірна різниця спостерігалась по групам (ЧС × АНГ × ГФ) з достовірністю P<0,001, (ЧС × АНГ × ЧД) td = 3,05 та td = 3,57 відповідно, по обхвату грудей (ЧС × АНГ) td = 2,9 та (ЧС × ЧД) td = 2,71.

Проміри корів в абсолютних величинах не повністю характеризують екстер'єр через залежність їх від загальної масивності тварин, тому були обчислені основні індекси будови тіла, що дають змогу оцінити ступінь розвитку організму, пропорції тіла та конституціональний тип тварин (таблиця.).

Аналіз показав, що помісні тварини мали кращі показники грудного і тазогрудного індексів, були більш компактними і характеризувалися вищим індексом збитості порівняно з червоною степовою породою. За індексами будови тіла усі піддослідні тварини мали добре виражений молочний тип.

У результаті використання імпортних бугаїв червоних порід у помісних корів поліпшились морфологічні ознаки та функціональні властивості вим'я. Із обстежених 497 корів 19,7% мали ванноподібну форму вим'я, 70,8% — чашеподібну та 8,7% — округлу. У помісних тварин вим'я більш об'ємне, залозисте, симетрично розвинуте, досить щільно прилягає до тіла, довше та більше поширене вперед ніж у червоних степо-

Індекси будови тіла повновікових корів

Індекси	Генотип						
	Червона степова (ЧС)	Англерська (АНГ)	Червона датська (ЧД)	ЧС × АНГ	ЧС × ЧД	ЧС × АНГ × ЧД	ЧС × АНГ × ГФ
Довгоногості	47,6	46,8	45,5	46,8	44,9	46,5	51,6
Розтягнутості	122,6	121,7	123,3	123	124.2	125,1	126,7
Глибокогрудості	60,8	63,5	61,4	62,0	61,8	65,6	71,8
Перерослості	104,6	103,5	101,5	102.7	103,9	104,2	104,4
Збитості	119,8	120,6	121,9	122,5	120,3	120,1	123,8
Костистості	14,9	14,8	15,5	15,0	15,2	15,2	15,1
Тазогрудості	79,3	81,3	80,5	80,8	80,3	82,4	86,4

вих одноліток, з добре вираженими молочними венами.

Трьохпородні помісі вірогідно переважали червоних степових за шириною та довжиною вим'я на 5,2—5,3 см (P<0,05), висота вим'я над підлогою у двохпородних помісей на 5,6 см (P<0,01) була вищою. Слід зазначити, що у трьохпородних помісей довжина передніх дійок на 0,67 см (P<0,05) була меншою порівняно з червоною степовою (6,67 см).

Вивчення функціональних властивостей вим'я двох- і трьохпородних корів показало, що індекс вим'я становив 45,4—47,6%, а швидкість молоковіддачі — 1,63—1,65 кг/хв, що на 1,6—3,8% та на 3,2—4,4% вище показників червоної степової.

Таким чином, помісні тварини за технологічними показниками відповідають параметрам по створенню жирномолочних стад для молочних ферм і комплексів промислового типу.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.453.5 : 636

В.Й. ЛЮБЕЦЬКИЙ, В.А. ЯБЛОНСЬКИЙ

ДЕЯКІ СПОСОБИ ПІДВИЩЕННЯ ВІДТВОРЮВАЛЬНОЇ ЗДАТНОСТІ КОРІВ

На заплідненість самок при штучному осіменінні впливає цілий комплекс факторів і причин. Важливим у збереженні здоров'я і продовженні терміну виробничого використання корів (при отриманні від них максимальної продуктивності і приплоду) є правильна організація запуску та створення належних умов для сухостійних корів. Висока молочна продуктивність (особливо не підкріплена повноцінною годівлею) і подовжена лактація викликають перенапруження організму, порушення функціональної діяльності всіх органів і систем. Не випадково у народі виникло влучне порівняння, що сухостійний період корови і телиці — це коли "одним ротом

© В.Й. Любецький, В.А. Яблонський, 2001

двох годують". За сухостійний період необхідно створити в організмі запас енергії і поживних речовин для родів і наступної лактації.

Кваліфікований запуск корів за 50—60 діб до розтелу і повноцінна підготовка корів і нетелей до родів забезпечують фізіологічний їх перебіг, попереджають ускладнення родів та післяродового періоду, що врешті є необхідною передумовою для плідного осіменіння.

Причинами подовженої лактації часто бувають післяродові акушерські та гінекологічні захворювання і депресія яєчників, недотримання інструктивних вимог при осіменінні тварин. Дуже часто невиявленими залишаються субклінічні та хронічні ендометрити. У таких випадках у значної частини тварин 2—3 статевих цикли підряд виявляються "безрезультатними", а в організмі їх у цей час відбуваються не лише гормональні зрушення, а й нагромаджуються сперміоантитіла, і запліднення стає неможливим. Не можна забувати, що в цей період (60—90-й день після розтелу) у корови лактація сягає свого піку, в її нервовій системі формується лактаційна домінанта, гальмуючи статеву функцію.

Прояв фізіологічних функцій, у тому числі і статевої, забезпечується комплексом еволюційно вироблених пристосувальних механізмів, безумовних та набутих і закріплених умовних рефлексів. Зовнішні впливи обов'язково повинні підсилювати безумовні рефлекси. До таких чинників, котрі в процесі еволюції закріпилися і стали життєвою потребою, належать, перш за все, повноцінна годівля, відповідний мікроклімат, сонячне опромінення тварин та освітлення приміщень, належний догляд та поміркована експлуатація, відсутність технологічних стресів, регулярний активний моціон та інше.

Відсутність чи недостатня дія позитивних чинників довкілля, різкі сторонні подразники (зорові, слухові, больові, нюхові) є негативними чинниками, які гальмують безумовні рефлекси, у тому числі статеві, особливо під час охоти і осіменіння, що врешті викликає функціональні розлади, атипові і пасивні прояви ознак статевих циклів (алібідні, анест-

ральні, ареактивні, ановуляторні). Можлива і рефлекторна затримка овуляції.

Негативні технологічні стреси сприяють виділенню надниркими адреналіну ("гормон страху"), який є антагоністом окситоциду і знижує моторику матки та затрудняє рух сперміїв до яйцепроводу. Ці обставини потрібно не тільки розуміти, а й враховувати у практичній діяльності.

Якщо час осіменіння корів співпадає з часом доїння, то осіменяти їх необхідно безпосередньо перед доїнням або після, оскільки окситоцин потрібен і для першого і для другого. У 60—70% корів овуляція проходить вночі, тому добрі наслідки дає пізньо-вечірнє їх осіменіння.

Якщо статеві шляхи виявляються недостатньо зволоженими на час осіменіння, а в цервікальному слизі знижений вміст цукрів, то за 15—30 хв до осіменіння можна проводити зрошення піхви і шийки матки теплим (38—40 °С) 1%-м розчином натрію хлориду, 6—10%-м розчином цукру, глюкозо-содовим розчином (у 500 мл кип'яченої води розчиняють 15,0 глюкози, стерилізують кип'ятінням, охолоджують до 40 °С і додають 5,0 натрію гідрокарбонату, а при можливості — і 100,0—200,0 тис. ОД антибіотику). На одне зрошення затрачають 200—250 мл розчину.

Добрі наслідки дає 1—2-хвилинний масаж матки і яєчників, особливо при безвигульному утриманні корів і зниженому тонусі матки. Це дає змогу одночасно виявити стан дозрівання фолікула. Досвідчені техніки безпосередньо перед введенням тварині сперми і після нього роблять масаж кліторa протягом 15—20 с. Окремі автори радять при вираженій атонії матки (у старих корів) за 2—3 хв. перед осіменінням вводити в канал шийки матки на глибину 2—4 см 2 мл (10 ОД) окситоцину або пітуітрину, внутрішньом'язово — по 30—40 ОД в перші 10—15 хв після осіменіння. Добрі результати отримують також при масажі молочної залози та погладжуванні крижово-поперекової ділянки.

Необхідно пам'ятати, що у 20—30% корів бувають ановуляторні статеві цикли і у 7—10% корів інші функціональні роз-

лади яєчників. Ця патологія найчастіше проявляється у високопродуктивних голштинізованих стадах на тлі незбалансованої і неповноцінної годівлі.

Основною причиною відсутності, або затримання овуляції є захисна реакція організму самки на хронічний стрес — неповноцінну годівлю, незадовільне утримання і експлуатацію, особливо під час охоти. При стресах, як уже відзначалося, активізується функція кори надниркових, внаслідок чого гальмується синтез і вивільнення гонадотропних гормонів гіпофізу (ФСГ і ЛГ), необхідних для дозрівання фолікулів і овуляції їх. У таких випадках передовуляційний фолікул піддається атрезії, передчасній лютеїнізації чи навіть кістозному переродженню або ж продовжує повільно розвиватися і овуляція відбувається із запізненням на 1—4 доби після закінчення охоти. У більшості таких самок спостерігається метрорагія (маткова кровотеча).

Причиною повторних осіменінь корів і телиць може бути і ембріональна смертність — рання (у випадках загибелі і розсмоктування зародка протягом 1—3 тижнів після запліднення) з наступним статевим циклом через 25—40 діб чи пізня — на першому-другому місяці внутрішньоутробного розвитку з появою чергового статевого циклу через 1,5—2 і більше місяців. Але у подібних випадках необхідно виключити можливість невиявлення охоти у тварин.

Причин ембріональної смертності багато — від неповноцінності гамет, невідповідності їх "віку" при заплідненні (передчасне чи запізніле осіменіння), незадовільного стану слизових покривів геніталій на час імплантації та раннього ембріонального розвитку, ендокринних розладів, порушення технології осіменіння і аж до розладів складних взаємовідносин у системі мати — плід, повноцінності фетоплацентарного комплексу, імунних, генетичних факторів та інфекції. Особливо негативно позначаються стрес-фактори у критичні для ембріона строки (1—2 тиждень після осіменіння), коли незначні відхилення у естроген-прогестероновому співвідношенні можуть блокувати процес імплантації.

Негативно впливають на готовність організму матері до імплантації зиготи також авітамінози і нестача у раціоні мікроелементів, тому збереження ембріонів підвищується при внутрішньом'язовому введенні вітамінних препаратів (ретинол-ацетату, тривітаміну 10—15 мл, тетравіту), даванки кайоду 15—20 мг, внутрішньовенному введенні 200 мл 40% глюкози і т.п.

Згадані вище причини низької заплідненості та розсмоктування ембріона на ранніх стадіях проявляються на грунті гормональної недостатності (ЛГ, ЛТГ) та низької активності жовтого тіла. Це буває під час спеки і засухи влітку та при бідній неповноцінній годівлі взимку. Окремі автори домоглись стимуляції розвитку та функціонування жовтого тіла шляхом застосування через добу після осіменіння 1%-го розчину прогестерону, внутрішньом'язово, у дозі 10,0 мл 2—3 дні підряд або 5,0 на 2, 3, 4, 6 і 8 добу; внутрішньом'язового введення хоріонічного гонадотропіну у дозі 3000—3500 ОД на 3 і 6 добу; ін'єкції вітамінних препаратів з інтервалом 3—5 діб.

У пасовищний період, особливо при високому вмісті бобових у травостої, причиною низької заплідненості та ембріональної смертності може бути велика кількість фітоестрогенів, що, надходячи в організм, викликають зміни гормонального балансу. Для корекції цих зрушень радять застосовувати прогестерон (антагоніст естрогенів) після осіменіння 3—6-разово через 48 годин.

Запорукою підвищення заплідненості корів і телиць є постійне проведення акушерської та гінекологічної диспансеризації.

Тільки своєчасне виявлення і усунення основних причин низької заплідненості самок може звести до мінімуму розмір неплідності та збільшити вихід телят.

Національний аграрний університет

УДК 636.082.45

В.І. ШЕРЕМЕТА

ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ ТА МЕТАБОЛІЧНИЙ СТАН ЖОВТОГО ТІЛА ЯЄЧНИКІВ ТЕЛИЦЬ

Ефективність біотехнологічних методів відтворення в значній мірі залежить від ендогенних факторів, серед яких особливе значення має нейроендокринна регуляція. Як відомо, на місці овульованого фолікула через 3—5 днів формується жовте тіло, яке є ендокринним органом, що продукує в основному прогестерон, концентрація якого у крові телиць чорно-рябої породи починає зростати на 6—7 день статевого циклу [1]. Цей гормон виконує багатогранну роль у нейрогуморальній регуляції відтворювальної функції, спрямованої на отримання нащадків. Прогестерон жовтого тіла регулює рівень гонадотропних гормонів і скорочення м'язових волокон яйцепроводу і матки, гальмує виділення окситоцину, інгібує проліферацийну дію естрогенів на ендометрій, стимулюючи в ньому секреторну трансформацію, слугує ембріотрофним фактором у період раннього ембріонального розвитку, сенсибілізує ендометрій до механічного подразнення та сприяє імплантації зародка [2—5]. Тому рівень прогестерону в крові реципієнтів один із основних ендогенних факторів, які впливають на приживлюваність ембріонів. Встановлено, що його оптимальна концентрація перед пересадженням повинна бути більшою 2 нг/мл [6].

Розробка способів, направлених на стимуляцію функціональної активності жовтого тіла у тварин, безумовно актуальна в плані поліпшення умов для приживлення ембріонів, від чого і залежить ефективність біотехнологічних методів відтворення.

У першому досліді, який проводили у ВАТ племзаводу

© В.І. Шеремета, 2001

"Бортничі" Бориспільського району на телицях чорно-рябої породи 16—20 місяців з живою масою 330—415 кг, дослідним телицям (n=8) при стимуляції статевої охоти естрофаном інтравенозно впродовж трьох днів вводили біологічно активний препарат "Глютам" у дозі 140 мл; контрольним (n=7) — фізіологічний розчин у тій самій дозі. Кров у тварин відбирали на 7-й день статевого циклу.

Концентрацію гормонів визначали в замороженій у рідкому азоті плазмі: прогестерон та 17β-естрадіол — імуноферментним методом, а біологічно активний лютеїнізуючий гормон (ЛГ) — методом Damme із співавт. [7].

Другий дослід проводили на 10 чорно-рябих телицях віком 20—24 місяці з живою масою 310—360 кг у КСП ім. Шевченка, а контрольний забій дослідних тварин та їх пар-аналогів за живою масою та днем статевого циклу — на ковбасному заводі КСП "Київський" Києво-Святошинського району Київської області. Дослідним телицям вводили внутрішньовенно 4 рази препарат "Глютам" у дозі 140 мл за два дні до ін'єкції естрофану та наступні два дні, включаючи день обробки; контрольним тваринам у цій самій дозі — фізіологічний розчин. Тварин забивали на 7-й день статевого циклу, почергово по одній голові з контрольної та дослідної груп. Для біохімічних досліджень жовті тіла заморожували у рідкому азоті. У пробах визначали: вміст глікогену та глюкози — феноловим реактивом; пірувату, лактату, глутарату і α-кето-лутарату — ферментним методом [8]; вільний холестерин і фосфоліпіди визначали у екстракті ліпідів [9] на газовому хроматографі HRGC—5330 Carlo ERBA (Італія).

Аналіз результатів першого досліду показав, що у дослідних тварин з візуально зафіксованою статевою охотою рівень концентрації ЛГ більший порівняно з контрольними на 15,7%. Водночас у них в крові також більше прогестерону та естрадіолу, ніж у контрольних відповідно на 25 та 19,8% (табл. 1).

Отже, встановлена тенденція більшого вмісту в крові дослідних тварин ЛГ, прогестерону та 17β-естрадіолу є підставою для твердження, що трикратне введення внутрішньовенно

1. Концентрація статевих гормонів у крові реципієнтів з візуально фіксованою тічкою, n=3

Гормон	Контроль, M±m	Cv, %	Дослід, M±m	Cv, %
Біологічно активний ЛГ, м.о./л	5,69±1,69	51,5	6,75±0,82	21,2
Прогестерон, нг/мл	2,23±1,29	99,9	2,97±1,43	83,5
17β-естрадіол, пкг/мл	36,1±1,65	7,9	45,0±7,75	29,8

препарату "Глютам"у дозі 140 мл спричинює в період стимуляції аналогами простагландину F2α статевої охоти довготривалі морфофункціональні зміни в гіпоталамо-гіпофізарній системі, які сприяють інтенсивному виділенню гонадотропних гормонів, нормалізуючих функціонування яєчників тварин.

Порівняльний аналіз біохімічних даних, отриманих у другому досліді, показав, що у жовтому тілі яєчників дослідних телиць відбувається збільшення на 14 та 22% вмісту глутамату та кетоглутарату, зменшення лактату на 4,6%, пірувату — на 17,8% і загального холестерину — на 16,4% порівняно з контрольними тваринами. Враховуючи також тенденцію зростання рівня глікогену (на 11,6%), можна вважати, що процеси глюконеогенезу в жовтому тілі інтенсифікуються за рахунок використання піровиноградної та молочної кислот (табл. 2).

У жовтому тілі дослідних реципієнтів усіх класів фосфоліпідів менше на 13—46%, ніж у контрольних тварин, за винятком дифосфатидилгліцеролу, якого було більше на 46,7% (табл. 3).

Встановлена тенденція збільшення виділення жовтим тілом прогестерону та ЛГ при внутрішньовенному введенні препарату "Глютам" співпадає з даними [10] про важливе значення глутамінової кислоти (одного із інгредієнтів препарату) і її метаболітів для гіпоталамо-гіпофізарної регуляції. Також відомо, що прогестерон синтезується з холестерину, а ЛГ може змінювати вміст фосфоліпідів у мембранах [11]. Усе це є підставою вважати, що препарат "Глютам" забезпечує такі

2. Метаболічний стан жовтого тіла яєчників піддослідних телиць

Метаболіт	Контроль			Дослід		
	n	M±m	Cv,%	n	M±m	Cv,%
Глюкоза, г/кг	4	1,15 ± 0,04	5,5	4	1,30 ± 0.06	9,4
Глікоген, г/кг	4	1,07 ± 0,04	5,9	4	1,21 ± 0,06	9,4
Лактат, мкмоль/г	4	5,33 ± 0,48	15,5	4	5,09 ± 0,33	13,2
Піруват, мкмоль/г	4	0,14 ± 0,02	27,2	4	0,12 ± 0,01	19,4
Глутамат, мкмоль/г	4	2,64 ± 0,50	33,1	4	3,07 ± 0,26	17,3
Кетоглутарат, мкмоль/г	4	0,20 ± 0,04	36,0	3	0,25 ± 0,02	11,5
Холестерин, мкг/г	3	1220,3±354,9	50,4	3	1019,7±136,1	23,1

зміни у ферментних системах енергетично-пластичного синтезу ЛГ, які сприяють більшому його виділенню в кров і це стимулює функціонування жовтого тіла.

Зміни фосфоліпідів зумовлені тим, що вища біологічна активність ЛГ стимулює синтез простагландинів, через які модифікується реакція клітин жовтого тіла на нього, а саме збільшення цАМФ [11], а значить, і концентрації прогестерону. Це, в свою чергу, призводить до інтенсивного використан-

3. Фосфоліпідний склад жовтого тіла яєчників телиць (M±m), мг/г

Фосфоліпіди	Контроль, n=3	Дослід, n=3	Різниця,%
Загальний фосфор	0,63 ± 0,13	0,49 ± 0,01	–22,3
Фосфатидилхолін	9,83 ± 1,44	6,58 ± 0,16	–43,1
Фосфатидилетаноламін	4,33 ±, 96	3,39 ± 0,17	–21,8
Сфінгоміелін	1,39 ± 0,26	0,74 ± 0,31	–46,8
Фосфатидилінозитол	0,61 ± 0,08	0,53 ± 0,03	–13,1
Дифосфатидилгліцерол	0,30 ± 0,03	0,44 ± 0,05	+46,7
Фосфатидилгліцерол	0,60 ± 0,14	0,43 ± 0,06	–28,4

ня арахідонової кислоти як складової простагландину, основним джерелом якої є фосфоліпіди. Тому зменшення рівня фосфоліпідів у жовтому тілі дослідних тварин побічно свідчить про інтенсифікацію синтезу прогестерону.

Отже, тенденція збільшення концентрації прогестерону у дослідних тварин підтверджується рядом побічних факторів, а саме зростанням біологічної активності ЛГ, зменшенням концентрації холестерину та фосфоліпідів.

Таким чином, інтравенозне введення біологічно активного препарату "Глютам" у період стимуляції статевої охоти у телиць спричиняє у жовтому тілі яєчників інтенсифікацію процесів синтезу та виділення прогестерону, а також глюконеогенезу, який відбувається в основному за рахунок використання лактату і пірувату.

1. *Иванова О.М.* Радиоиммунологическое определение содержания прогестерона в сыворотке крови коров в течение нормального полового цикла и при фолликулярных кистах яичников // Актуальные вопросы акушерско-гинекологической и хирургической патологии с.-х. животных. — М.: Москов. вет. академия.— 1982.— С. 24—27.

2. *Эскин И.А.* Основы физиологии эндокринных желез.— М.: Высшая шк., 1975.— 303 с.

3. *Сысоев А.А.* Физиология размножения сельскохозяйственных животных.— М.: Колос,1978. — 360 с.

4. *Мицкевич М.С.* Гормональные регуляции в онтогенезе животных.— М.: Наука, 1978.—222 с.

5. *Павлов В.А.* Физиология воспроизводства крупного рогатого скота.— М.: Россельхозиздат, 1984.—208 с.

6. *Прокофьев М.И.* Регуляция размножения сельскохозяйственных животных.— Л.: Наука, 1983.— 263 с.

7. *Damme M.P.van Robertson D.M., Diczfalusy E.* An inpruved in vitro bioassay method for measuring luteinizirig hormone (LH) activity usind mouse Leydig cell preparations // Acta endocrinol.—1974.—(Kbh)77.—P.655.

8. *Асатиани В.С.* Ферментные методы анализа. — М.: Наука,1969.—739 с.

9. *Bligh E.G., Dyer W.I.* Rapld method of total lipid extraction and purification // Can. J. biochem. Physiol. —1959.—37.— P. 911—917.

10. *Волков М.С., Генкин А.М., Глотов Н.А., Маевский Е.И.* Глутаминовая кислота. Биохимические основы практического использования.— Свердловск : Средне-Уральское книж. изд-во, 1975.— 119 с.

11. *Теппермен Дж., Теппермен Х.* Физиология обмена веществ и эндокринной системы:Пер. с англ. —М.: Мир, 1989.—652 с.

Національний аграрний університет

УДК 636.2.082.451

Й.З. СІРАЦЬКИЙ, С.Ю. ДЕМЧУК

ВИЯВЛЕННЯ ОХОТИ У КОРІВ ПІСЛЯ ЗАСТОСУВАННЯ ЕСТРОФАНУ

Коровам, з наявністю в яєчниках персистентного жовтого тіла було введено по 2 мл естрофану. Після цього у 40 корів охоту визначали бугаєм-пробником вранці протягом двох годин, а ввечері — за рефлексом нерухомості при стрибках однієї корови на іншу. У 18 корів охоту визначали бугаєм-пробником вранці і ввечері. Так само визначали охоту у 36 корів контрольної групи, яким препарат не вводили. При одноразовому виявленні охоти у корів бугаєм-пробником статеві цикли відновилися протягом десяти днів після введення естрофану у 43,8% корів. При використанні бугая-пробника двічі за добу відсоток корів у стані охоти становив 70,6. У контрольній групі цей показник був лише 5,8%. У другому досліді вивчалася ефективність штучного осіменіння після дворазового введення естрофану з інтервалом між ін'єкціями 12 днів. Охоту у 43 корів першої дослідної групи виявляли бугаєм-пробником двічі впродовж доби. Переважна більшість з них (90,6%) синхронно проявили охоту і мали добрий показник (65%) запліднености від першого осіменіння. Корів другої піддо-слідної групи осіменяли без виявлення охоти через 72 год. після другого введення препарату. З 32 корів цієї групи запліднилося 7 (21,9%). У контрольній групі з 39 корів охоту

© Й.З. Сірацький, С.Ю. Демчук, 2001

протягом місяця спостерігали у 16 (41%) корів, а з них запліднилося 7 (43,7%).

Таким чином, дію естрофану на статеву функцію корів у повній мірі можна виявити при використанні бугаїв-пробників. Результати поліпшуються при дворазовому їх використанні (вранці та ввечері). Осіменіння корів через 72 год. після введення естрофану без виявлення охоти малоефективне.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.22/28

О.М. ЦЕРЕНЮК

ВІДТВОРНІ ЯКОСТІ САМОК УКРАЇНСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ У ПОЄДНАННІ З КНУРАМИ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ

Мета наших досліджень — вивчення поєднувальної здатності самок української м'ясної породи свиней при поєднанні з кнурами різних генотипів (голубівського спеціалізованого заводського м'ясного типу великої білої породи, породи дюрок та спеціалізованої червонопоясної лінії).

Дослідження проводились у 1999—2000 рр. у КСП "За мир" Магдалинівського району Дніпропетровської області по групах тварин в умовах промислового комплексу.

Проведеними дослідженнями встановлено, що самки української м'ясної породи, покриті кнурами цієї самої породи, за відтворними якостями не поступались самкам великої білої породи свиней, що були покриті кнурами цієї самої породи свиней (за кількістю живих поросят при народженні — 11,1 проти 10,4, за масою гнізда при народженні — 13,6 кг проти 12,4, за масою одного поросяти при народженні — 1,22 кг проти 1,18, за збереженістю при відлученні (60 днів) — 83,90 %

© О.М. Церенюк, 2001

проти 80,00, за масою гнізда при відлученні — 144,39 кг проти 132,30).

При схрещуванні самок української м'ясної породи свиней з кнурами спеціалізованої червонопоясної лінії спостерігалося незначне підвищення їхньої продуктивності, за деякими показниками тварини цієї групи поступались самкам української м'ясної породи свиней, що були покриті кнурами української м'ясної породи. При схрещуванні самок української м'ясної породи і кнурів великої білої та породи дюрок відзначався ефект гетерозису за ознаками з низьким рівнем спадковості, у середньому продуктивність самок збільшилась по кількості живих поросят при народженні на 6,84 — 2,88%, за масою одного поросяти при народженні — на 14,73% — 3,85%, за масою гнізда при народженні — на 18,44 — 0,3%, за масою одного поросяти при відлученні у 60 днів — на 13,99 — 3,48%, за масою гнізда при відлученні — на 21,66 — 2,76%, за збереженістю при відлученні — на 1,19 — 1,14% відповідно.

Найкращими показниками за відтворними якостями характеризувались самки української м'ясної породи, покриті кнурами великої білої породи та породи дюрок, і самки великої білої породи, покриті кнурами української м'ясної породи.

Таким чином, використання української м'ясної породи як материнську форму при поєднанні з кнурами таких порід, як велика біла та дюрок для промислових господарств є доцільним та економічно вигідним.

Інститут тваринництва УААН

УДК 636.082.4-089.943

В.С. КОТ, В.А. КОРКІН

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ МЕТОДИ КОРЕКЦІЇ ВІДТВОРНОЇ ФУНКЦІЇ КОРІВ І ТЕЛИЦЬ

Мета нашого дослідження — комплексне вивчення дії препарату на організм корів та телиць для його використання не тільки у трансплантації, а й для лікування неплідності, стимуляції відтворної функції, подолання сезонної активності, одержання двійні і таке інше. Ми вивчили реакцію корів на введення різних доз препаратів ФСГ від 0 до 110 мг. У досліді використовували препарат ФСГ-супер (Росія). Препарат вводили тваринам протягом 4 днів через 12 годин. Для досліду і в контролі використовували корів через 60—90 днів після розтелу або телиць статевозрілого віку вагою не менше 350 кг. У всіх тварин були відсутні статеві цикли. При визначенні доз очікувалося, що введення екзогенного ФСГ повинно змінити гормональний фон. Ми провели теоретичний розрахунок загальної кількості ФСГ у крові тварин. Базальний рівень ФСГ у межах 3—4 нг/мл крові. Середня вага корів близько 500 кг. Об`єм циркулюючої крові корів приблизно 40—50 л залежно від живої ваги тварин. Виходячи з цих даних можна визначити загальну кількість ФСГ у циркулюючій крові: близько 120 мкг = 0,12 мг. Пікова концентрація ФСГ у крові корови у 3—5 разів вища від загальної. Якщо циркуляція гормону в крові у природних умовах підтримується на певному максимальному рівні 2—3 дні, то при введенні екзогенного ФСГ максимальний рівень тримається 4—5 днів. Оскільки у природному циклі пік гормону зростає в декілька разів, ми вважаємо доцільним дослідити введення екзогенного ФСГ у кількості, що змінюється у геометричній прогресії. Наш попередній дослід роботи підказує, що при розрахунку доз екзо-

© В.С. Кот, В.А. Коркін, 2001

генного ФСГ доцільно використовувати коефіцієнт близько 1,4. Більш високі коефіцієнти призводять до втрати значень між припустимими типами відповідних реакцій. Менші коефіцієнти потребували великої кількості дослідів.

У результаті досліджень встановлено, що порогове значення стимулюючої ріст фолікулів дози ФСГ 7,7 мг, близько 1 мг на ін'єкцію. Активний ріст 1—3 фолікулів починається з дози втричі більшої від порогової.

Сумарна доза 29,5 мг визиває ріст 3—11 фолікулів (у середньому 4,3) на корову і високий відсоток овуляцій (95,3%). При введенні сумарної дози 58 мг (разова близько 7 мг) на фоні збільшення загальної кількості фолікулів (у середньому 12) помітно зменшилася кількість овуляцій до 72,5% і збільшилася кількість кіст до 0,8 на корову. При введенні 81 мг ФСГ (разова доза 10 мг) спостерігався масовий ріст кіст до 2,3 на голову, а кількість овуляцій впала до 45%. Сумарна доза ФСГ 112 мг (14 мг на ін`єкцію) визвала гіпертрофію яєчників, полікістоз і кістозне переродження яєчників у більшості тварин. На цьому фоні важко диференціювати фолікули, але все-таки зафіксовано 61% овуляцій. На підставі цих результатів можна встановити порогові значення разових доз ФСГ: стимуляція росту яєчників — 0,5—0,7 мг; ріст фолікулів — 1—2 мг; 2—3 фолікули — 2,6 мг; поліовуляція — 3,7—7,3 мг; патологічні явища — 10 мг. Наш якісний аналіз процесу дає лише приблизну його характеристику, тому необхідно розробити математичну модель біотрансформації препарату. Це дозволить прогнозувати реакцію яєчників корів і телиць на введення певних доз фолікулостимулюючого гормону.

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.4.082.11

М.І. МАЦЕНКО

ЕФЕКТИВНІСТЬ СЕЛЕКЦІЇ СВИНОМАТОК ЗА ТРИВАЛІСТЮ ПОРОСНОСТІ

Як показує досвід роботи промислових свинарських комплексів, увесь технологічний процес та ритмічність виробництва в них порушуються унаслідок різної тривалості поросності свиноматок. Крім того, у зв'язку з різною тривалістю поросності опороси у деяких свиноматок проходять ще у групових станках, що призводить до значної загибелі поросят.

У багатьох країнах світу проведена значна кількість досліджень по синхронізації опоросів свиноматок в умовах промислових комплексів. Однак, якщо доцільність синхронізації опоросів за допомогою спеціальних біологічно-активних речовин встановлена, то можливість застосування іншого шляху — селекційного — вивчена ще недостатньо.

Великого значення у селекції сільськогосподарських тварин набувають показники успадковуваності та повторюваності. У зоотехнічній літературі є дуже мало даних по успадковуваності та повторюваності тривалості плодоношення у сільськогосподарських тварин, особливо у свиней, причому дані різних авторів мають значні розходження.

Для визначення коефіцієнта повторюваності поросності методом випадкової вибірки нами взяті дані тривалості поросності 128 свиноматок великої білої породи промислового свинарського комплексу "Калитянський" Київської області по I, II, III та IУ опоросах.

Тривалість поросності цих свиноматок по 512 опоросах становила у середньому 114, 72 доби, у тому числі: по першому опоросу — 114,89, другому — 114,61; третьому — 114,72 і четвертому — 114,67 діб. Тривалість поросності коливалась від 105 до 128 діб. Найбільший ліміт по тривалості поросності — 18 діб спостерігався по четвертому опоросу свиноматок, а

© М.І. Маценко, 2001

найменший — по першому — 9 діб. Загальною закономірністю для всіх свиноматок є збільшення коефіцієнтів повторюваності тривалості поросності з віком свиноматок. Водночас спостерігається різниця і в показниках коефіцієнтів повторюваності у свиноматок з різною тривалістю поросності. Так найвищі коефіцієнти повторюваності (0,43 — 0, 74) у свиноматок з укороченою тривалістю поросності (115 — 111 діб), а найнижчі (0,17 — 0,46) — у тварин з подовженою тривалістю поросності (117 — 128 діб). Найнижчі коефіцієнти повторюваності у свиноматок із вкороченою або подовженою тривалістю поросності по першому — другому опоросу, що виключає можливість прогнозування тривалості другої поросності по тривалості першої. Однак нам вдалося виявити невелику групу свиноматок, у яких протягом декількох опоросів тривалість поросності вкорочена, і другу групу з подовженою тривалістю поросності.

При вивченні коефіцієнта успадковування тривалості поросності встановлено, що найвищим він був у свиноматок при випадковій вибірці (0,72+0,098), більшість яких мали тривалість поросності 114 — 116 діб. Коефіцієнти успадковуваності були нижчі у свиноматок із вкороченою і подовженою тривалістю поросності. Так у свиноматок із вкороченою тривалістю поросності коефіцієнт дорівнював 0,47 + 0,247, а із подовженою — 0,53 + 0, 157.

Серед цих свиноматок вдалося виділити тих, котрі маючи вкорочену або подовжену тривалість поросності, передавали цю ознаку своїм дочкам. Так у дочок свиноматки Тайги 1852, яка мала середню тривалість поросності за 5 опоросів рівну 118,2 доби, тривалість поросності тривала 117,9 доби. Такими самими якостями відрізнялися свиноматки Волшебниця 1870, Тайга 2542, Тайга 1024 та ін.

Враховуючи досить високі показники коефіцієнтів повторюваності та успадковуваності, а також здатність деяких свиноматок передавати певну тривалість поросності своїм дочкам, можна передбачити, що ця ознака є спадковою і за нею можна вести відбір тварин.

Національний аграрний університет

УДК 636.4.082.25

Л.П. ГРИШИНА

ВПЛИВ ЖИВОЇ МАСИ СВИНОМАТОК ПРИ ПЕРШОМУ ПАРУВАННІ НА ПОДАЛЬШУ ЇХ ПРОДУКТИВНІСТЬ

З усіх господарсько-корисних ознак жива маса має найважливіше значення, оскільки вона характеризує організм у цілому та пов'язана з багатьма його властивостями. Однак особливу зацікавленість викликає такий показник, як жива маса свиноматок при першому паруванні. Для визначення впливу цього показника на репродуктивні якості свиноматок у племзаводі "Комсомолець" Миколаївської області проведений науково-господарський дослід. Для цього сформовано дві групи свинок: перша — з живою масою 90—115 кг, друга — 120—125 кг. Вік свинок становив 10—11 місяців, тому вік як фактор у наших дослідженнях був виключений. До уваги бралась тільки жива маса свинок при першому паруванні та її вплив на багатоплідність, живу масу поросяти і масу гнізда при відлученні, а також збереженість поросят до двомісячного віку (свинок та кнурців окремо). Наскільки жива маса при першому паруванні впливає на подальшу їх продуктивність вивчали за допомогою дисперсійного аналізу.

Проведені дослідження показали, що найбільше впливає жива маса на збереженість поросят до двомісячного віку — 66,78%. Цей прогноз дається з найвищою достовірністю. Значно менший її вплив проявляється по живій масі гнізда при відлученні та багатоплідності. На ці показники відтворювальних якостей більше впливають рівень годівлі та умови утримання, аніж жива маса при першому паруванні. Однак, як відомо, між масою гнізда при відлученні та збереженістю поросят існує позитивна кореляція, яка для племзаводу "Комсомолець" становить r=0,73. Тому для збільшення репродуктив-

© Л.П. Гришина, 2001

них якостей у цілому жива маса свинок при першому паруванні повинна сягати не менше 120 кг.

Необхідно також відзначити, що при визначенні впливу живої маси на збереженість приплоду вивчали вплив статі (окремо свинок та кнурців). Дослідження показали, що стать практично не впливає на збереженість поросят, хоча спостерігалась деяка тенденція до збільшення відходу свинок від самок, котрі мали при паруванні живу масу 90—115 кг.

Отже, для збільшення виходу поросят до двомісячного віку жива маса свинок при першому паруванні повинна становити 120—125 кг.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.2.034.082.4

А.А. МАЛЯРЕНКО*

ВПЛИВ РІВНЯ МОЛОЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ НА ДЕЯКІ ПОКАЗНИКИ ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ КОРІВ

Хоча вплив рівня молочної продуктивності корів на показники їхньої відтворної здатності вивчався багатьма дослідниками (Басовський М.З., Завєртяєв Б.П., 1975; Завєртяєв Б.П., 1979; Решетникова Н.М., 1976; Гавриленко Г.М., 1984 та ін.), проте ці зв'язки недостатньо вивчені у корів української червоно-рябої молочної породи (Кругляк А.П., 1997; Хаврук О.Ф., 1997; Бащенко М.І., 1999).

На поголів'ї 120 корів племзаводу "Тростянець" нами встановлено зворотний зв'язок між рівнем молочної продуктивності та деякими показниками їхньої відтворної здатності. У тварин з надоєм до 5 тис. кг молока за лактацію сервіс-період у середньому становив 120 днів, міжотельний період —

**Науковий керівник — кандидат біологічних наук А.П. Кругляк.*

© А.А. Маляренко, 2001

410 днів, число осіменінь на запліднення — 1,8. При підвищенні молочної продуктивності корів на 2 тис. кг молока ці показники збільшувались: сервіс-період — на 19%, міжотельний період — на 5%, число осіменінь — на 0,7, а при збільшенні надоїв до 8 тис. кг ці показники зросли відповідно на 20%, 5 та на 1,1%.

Таким чином, попередні результати наших досліджень підтверджують залежність показників відтворної здатності корів української червоно-рябої молочної породи від їх молочної продуктивності.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.32/.38.082.4

А.О. БОНДАР*

ФАКТОРИ, ЩО ВПЛИВАЮТЬ НА БАГАТОПЛІДНІСТЬ ОВЕЦЬ

Багатоплідність — один із факторів, що підвищує продуктивність і конкурентоспроможність тварин. Тому це питання є актуальним для зоотехнічної науки і практики.

Методика дослідження. Багатоплідність аксанійської тонкорунної породи вивчали в умовах племінного заводу ім. Шмідта Очаківського району Миколаївської області. Потенційну багатоплідність вивчали в умовах ІТСР "Асканія-Нова". З цією метою врахували окоти 647 овець. Дослідження проведені методом спостереження, варіаційного аналізу даних окотів.

Результати дослідження. Обстежували окоти 647 самок кавказької породи, з них трійнями окотилось чотири самки (0,6%), двійнями — 95 (14,7%), а 548 самок (84,7%) народили по одному ягнятові. У середньому багатоплідність овець кавказької породи в наших дослідженнях становила 116 %.

**Науковий керівник — кандидат біологічних наук В.М. Давиденко.*

© А.О. Бондар, 2001

Серед народжених ягнят було 379 ярочок (50,6%) і 371 баранчик (49,4%). По три ягняти народили такі тварини: №04661—04791 віком 10 років, тривалість кітності 145 діб; самка № 45104—045565 віком шести років, тривалість кітності 147 діб; самка № 5к 619—04471 віком п'яти років, тривалість кітності 155 діб; самка №863—07458 віком двох років, тривалість кітності 147 діб. Всі ягнята були добре розвинуті (жива маса при народжені сягала 2,7—3,0 кг). Вівцематки малу хорошу молочність і добре виражені материнські якості. За умов селекційної роботи, спрямованої на підвищення багатоплідності овець, такі самки і їхній приплід являють собою особливо цінний матеріал.

У виробничо-науковому досліді ми вивчали фактичну багатоплідності самок асканійської тонкорунної породи в умовах вівцеплемзаводу ім. Шмідта за період з 1986 по 1995 р. У результаті цих досліджень виявлено, що найнижчий показник багатоплідності мають вівцематки при першому окоті, яких осіменяли у віці ярок. Серед цих тварин було лише 4,1% самок, які мали двійню при ягнінні. У тварин, яких вперше осіменяли у віці переярок, кількість самок, котрі при окотах дали двійню, зросла до 8,6%. Ще в більшій мірі зросла кількість багатоплідних самок другого, третього, четвертого і п'ятого окотів і становила відповідно 14,2; 11,9; 16,8; 31,8 відсотків. А після шостого окоту кількість самок, що окотились двійнями, різко знизилась і становила 6,1%. Результати досліджень свідчать, що багатоплідність вівцематок залежить від віку: у молодих і старих овець цей показник досить низький, а у дорослих — коливається від 11,9 до 31,8 відсотків. Звертає на себе увагу, що багатоплідність тварин, яких вперше осіменили у віці переярок, значно перевищує тих, котрих осіменили у віці ярок (8,6 проти 4,1%).

За період з 1986 по 1995 р. найменша кількість багатоплідних самок була у 1986 та 1992 р., лише по 5,4% тварин, а найбільша — у 1988 р. (17,4%). За показником багатоплідності не спостерігається і почерговість у роках. Так у 1992 р. багатоплідних самок було 5,4 %, в наступному 1993 р.

— 5,6%, а в період з 1988 по 1991 р. показник багатоплідності тримався на досить високому рівні відповідно 17,4; 12,4; 16,4; 14,9 відсотків. Отже, багатоплідність самок залежить від кормових та кліматичних умов, оскільки роки з низькою багатоплідністю самок мали низький рівень кормового забезпечення, а осінь у ці роки була несприятлива для нагулу самок.

Проаналізували також кількість багатоплідних самок у розрізі отар. У цьому випадку на 5 отарах коливання багатоплідності самок виявилось досить значним . Так в отарі № 5 самок з багатоплідними окотами було 14,2%, тоді як в отарі № 2 таких самок було лише 4,3%. Отже, можна зробити висновок, що багатоплідність самок залежить від господарських умов і, зокрема, має прямий зв'язок із якістю їх годівлі й догляду.

Тварини, які окотились трійнями: матка № 61627, 1986 року народження, класу еліта з вовняною продуктивністю 5,5 кг на четвертому році життя народила 3 ягнят (у 1989 р.). Самка мала хорошу молочність, а ягнята були добре розвинені. Друга самка № 0530, 1990 року народження, першого класу також на четвертому році життя (у 1993 р.) народила 3 добре розвинених ягнят.

В умовах племінного заводу ім. Шмідта з 6 проаналізованих окотів виявили тільки одну самку, яка протягом 5 років приводила двійні; дві самки мали таких окотів 4, 25 тварин мали таких окотів 3, по 2 окоти мали 79 самок.

У спеціальному досліді на вівцематках асканійської тонкорунної породи вивчали активність готовності самок до стану статевої охоти, їх запліднення та багатоплідність після осіменіння розбавленою, транспортованою спермою, що зберігалась до моменту використання протягом двох годин. Дослідом було охоплено 2006 самок зовні фізіологічно нормальних, вище середньої вгодованості, віком від 3 до 6 років. Осіменіння овець проводили один раз (одразу ж після завершення відбору їх у стані статевої охоти) протягом доби.

Результати цього досліду свідчать, що багатоплідність овець, яких осіменяли у перші дні періоду парування була вищою, ніж багатоплідність самок, яких осіменяли в останні дні.

Так протягом перших 10 днів окотилось 729 самок, від яких одержано 1185 ягнят. Багатоплідність (фактична) при цьому становила 162,5%.У другу декаду окотилась 401 самка, одержано 605 ягнят і багатоплідність становила 150,9%, а в третю декаду — 71 самка, одержано 109 ягнят, багатоплідність становила 146,5%. У результаті біометричного опрацювання вірогідність різниці (td) між багатоплідністю в першу і другу декади окоту становила 7,6; між багатоплідністю в першу і третю декади — 20,0, а між багатоплідністю в другу і третю декади — лише 1,5.

Серед самок, які окотились у першу декаду, народилось 416 (57,1%), в другу 190 (47,7%) і в третю — 27 ягнят (38,1%). Аналогічна закономірність спостерігалась і по окремих отарах.

Висновки. Багатоплідність овець визначається багатьма факторами — біологічними особливостями та фізіологічним станом організму, віком тварин, умовами годівлі і утримання, кліматичними умовами, спадковими властивостями самок та плідників, термінами осіменіння самок протягом парувального періоду та інше. Показник багатоплідності коливається не тільки між різними породами тварин, але і в межах породи, господарства, протягом життя тварини. Це вказує на те, що воно може бути селекційним фактором.

Миколаївська державна аграрна академія

УДК 636.4.612.821;591.51

А.А. ГЕТЯ

ДОСЛІДЖЕННЯ ФІЗІОЛОГІЧНОГО СТАНУ ПОРОСЯТ В УМОВАХ ДІЇ СТРЕСОВОГО ФАКТОРА

Інтенсивна селекція по створенню м'ясних генотипів спричинила звуження норми реакції організму і, як наслідок, ослаблення здоров'я тварин та неспроможності існувати в певних умовах утримання. Виникла необхідність вивчення механізмів адаптації, що протікають в організмі під час пристосування тварини до тих чи інших умов. Унаслідок реформування сільського господарства виникли нові форми господарювання з відповідними умовами утримання такі, що пристосовані до інтенсивних технологій тварини не в змозі проявити свою потенційну продуктивність. У цьому зв'язку значну роль відіграють дослідження, направлені на вивчення поведінки тварин в умовах дії стресу. Особливу увагу привертає робота серця під час впливу стресового фактора.

У даній роботі вивчали зміну частоти серцевих скорочень при тестуванні поросят (10 кг) за методикою Backtest (M.J.S. Hessing et al., 1993). Дослідження проводили в дослідному господарстві Університету Хоенхайм (Німеччина) на свинях породи німецький ландрас. Під час тесту поросят перевертали на спину і поміщали в V-подібний дерев'яний штатив. Утримуючи поросят у такому стані протягом 5 хв., спостерігали за реакцією. Замірювання пульсу проводили кожні 5 с за допомогою приладу POLAR ACCUREX PLUS. Враховували зміну та середнє значення частоти.

Під час досліду протестовано 270 поросят. В основної маси тварин зміна частоти пульсу відбувалася за типовим зразком: тобто одразу після дії стресу було зафіксовано різке зростання частоти пульсу (понад 220 ударів на хвилину) з подаль-

© А.А. Гетя, 2001

шим його спаданням впродовж 5 облікових хвилин до 130—140 ударів на хвилину.

Наведені дані свідчать про те, що стресове навантаження призводить до значних змін у фізіологічному стані свиней, позначаючись на діяльності серця.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.22/28.082.26

О.А. ХОМ'ЯК

ВПЛИВ ГЕНОТИПУ НА ПОКАЗНИКИ ПРОДУКТИВНОСТІ ТА ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ У ТВАРИН УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Знання про взаємодію між генотипом тварин та середовищними чинниками дає змогу не тільки вірогідно проводити добір та підбір тварин у межах породи, а й інтенсивно використовувати худобу у сучасних технологіях виробництва.

Дослідження по даній проблемі проводились на тваринах української червоно-рябої молочної породи з різною часткою спадковості за голштинською породою у КСП "Нива" Черкаської області та ВАТ "Терезине" Київської області.

Вивчаючи показники молочної продуктивності, відтворної здатності, тривалості господарського використання та якісні показники молока, отримано результати, котрі різняться у тварин з низькою (50%) та високою (88 % і більше) частками спадковості за голштинською породою.

Тварини з низькою часткою крові цієї породи мають вищі показники порівняно з висококровними тваринами : за надоєм — на 370 кг ; терміном використання — на 1,3 — 2 лактації; за величиною сервіс-періоду — коротший на 50 діб ; за

© О.А. Хом'як, 2001

якісними показниками молока — вміст сухої речовини у молоці низькокровних тварин на 0,9 % більший; відсоток жиру — на 0,8; відсоток білка — на 0,08.

Дані результати досліджень вказують на те, що кращі тварини за вивченими показниками є корови, у генотипі яких є низька частка спадковості голштинської породи.

Тому, вказуючи на результати досліджень, можна зробити висновок, що питання щодо збільшення, зменшення чи стабілізації частки спадковості голштинської породи у генотипі тварин необхідно вирішувати спеціалістам підприємств залежно від можливостей створення достатнього рівня годівлі та утримання.

Білоцерківський державний аграрний університет

УДК 636.32/.38:612.646.089.67

О.С. ЖУЛІНСЬКА, В.М. СМАГОЛЬ

ОЦІНКА РЕАКЦІЇ ОВЕЦЬ РІЗНИХ ПОРІД НА СТИМУЛЯЦІЮ ПОЛІОВУЛЯЦІЇ

При трансплантації ембріонів підбір донорів є чи не найважливішим його етапом. Щоб отримати якісні зародки, слід враховувати усі фактори, які можуть вплинути на репродуктивний статус самки-донора. Одним з таких факторів є порода тварини.

Проведено дослід по обробці на суперовуляцію вівцематок асканійської тонкорунної породи та багатоплідного каракуля з метою отримання та пересадки ембріонів. Обробку починали застосуванням інтравагінальних песаріїв з кронолоном. На 10-й день тварин обробляли гіпофізарним препаратом ФСГ за чотириденною схемою (сумарна доза 25 ОД на тварину). На 12-й день песарії видаляли і внутрішньом'язово вводили про-

© О.С. Жулінська, В.М. Смаголь, 2001

Середня кількість овуляцій у самок різних порід

Порода овець	n	Кількість овуляцій на оброблену тварину	Отримано в середньому на донора		
			нормальних ембріонів	дегенеративних ембріонів	незапліднених яйцеклітин
Тонкорунна	3	11,3±4,8	2,6±1,2	2,3±1,9	3,6±0,9
Каракуль	5	5,5±1,6	1,6±1,1	—	—

стагландин F2α (естрофан). Тварин з проявами статевої охоти виявляли і осіменяли на 14—15 добу від початку досліду. Вилучення ембріонів проводили лапароскопічним способом за допомогою катетера Фолі на 6-й день після першого встановлення стимульованої статевої охоти.

Проведено порівняльну оцінку перебігу статевої охоти у тварин обох порід. У тонкорунних вівцематок відмічена тенденція до розтягненості статевої охоти (2—3 доби), тоді як у каракульських вівцематок лише у однієї з п'яти тварин охота тривала більше 48 год.

За результатами досліджень середня кількість овуляцій у самок тонкорунної породи була вища, ніж у каракульських (таблиця). Але від перших після вимивання крім якісних отримано і дегенеративні ембріони, і незапліднені яйцеклітини, тоді як від других — лише якісні зародки.

На нашу думку, така різниця пояснюється часом проведення дослідів (жовтень). У овець тонкорунної породи в цей період відбувається затухання статевої активності, тоді як у каракульських вівцематок спостерігається її підвищення.

Можна зробити припущення про породні особливості реагування на гормональну індукцію поліовуляції, що необхідно враховувати при підборі тварин для використання в якості донорів при трансплантації ембріонів.

Інститут тваринництва степових районів ім. М.Ф. Іванова "Асканія-Нова" — Національний селекційно-генетичний центр з вівчарства УААН

УДК 363.082.11 : 591.4. : 611.13

С.Б. ПРОСЯНИЙ, Й.З. СІРАЦЬКИЙ

ДИНАМІКА РОСТУ МАТКИ ТІЛЬНИХ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ

Для дослідів за принципом аналогів сформовано чотири групи корів по 15 голів в кожній: перша (контрольна) — плоди чистопородних чорно-рябих корів; друга (дослідна) — плоди генотипу 5/8 Ч × 3/8 Г; третя (дослідна) — плоди генотипу 7/16 Ч × 9/16 Г і четверта (дослідна) — плоди 5/16 Ч × 11/16 Г. Умови годівлі та утримання тварин однакові. З кожної групи забивали по 5 голів на третьому місяці тільності, 5 — на п'ятому і 5 — на сьомому місяці тільності.

У результаті проведених досліджень встановлено, що маса матки корів другої групи у 3-місячному віці плодів була на 14,57 %, третьої — на 8,04 і четвертої — на 18,59 % вищою порівняно із тваринами першої групи. Різниця за масою матки у 3-місячному періоді тільності між тваринами першої та другої і першою та четвертою групами вірогідна. Спостерігалася тенденція до збільшення маси матки у зв'язку із збільшенням кровності за голштинською породою. На п'ятому місяці тільності маса матки у корів другої групи була вищою на 4,65 %, третьої — на 1,09 і четвертої — на 9,67% порівняно із тваринами першої групи. У 7-місячному віці тільності у корів другої групи маса матки на 10,0%, третьої — на 2,88 і четвертої — на 9,33 % більша порівняно з коровами першої групи. Маса матки у корів першої групи з 3 до 5 місяця тільності збільшилася у 5,51 рази, другої — у 5,03, третьої — у 5,15 і четвертої — у 5,09 рази, а з 5 до 7 місяця тільності — відповідно у 2,38; 2,51; 2,45 і 2,37 рази, а за період з 3 до 7 місяця тільності — відповідно у 13,09; 12,63; 12,63 і 12,08 раз.

© С.Б. Просяний, Й.З. Сірацький, 2001

Довжина матки на третьому місяці тільності у корів другої групи була більшою на 4,80%, третьої — на 1,24 і четвертої — на 3,20 % порівняно з коровами першої групи, на п'ятому місяці тільності — відповідно на 4,47; 2,71 і 5,28 % і на 7-му місяці тільності — відповідно на 0,75; 3,02 і 5,40 %. Довжина матки у корів першої групи за період з 3 до 5 місяця тільності збільшилася у 1,74 рази, другої — в 1,74, третьої — в 1,77 і четвертої — в 1,78 рази, з 5 до 7 місяців тільності — відповідно у 2,02; 1,95; 2,03 і 2,03 рази і за період з 3 до 7 місяця тільності — відповідно у 3,52; 3,37; 3,58 і 3,60 рази.

Ширина матки на третьому місяці тільності у корів другої групи була вищою на 5,76 %, третьої — на 4,12, четвертої — на 8,7 %, ніж у корів першої групи, на 5 місяці тільності — відповідно на 6,54, 2,62 і 6,70 % і на сьомому місяці тільності — відповідно на 5,20; 1,82 і 3,35 %. Ширина матки у корів першої групи за період з 3 до 5 місяця тільності збільшується у 2,62 рази, другої — у 2,64, третьої — у 2,58 і четвертої — у 2,57 рази, з п'ятого до сьомого місяця тільності — відповідно в 1,58; 1,56; 1,57 і 1,53 раза та з 3 до 7 місяця тільності — відповідно у 4,14; 4,12; 4,05 і 3,93 рази.

Кількість алантоїсної рідини за період з 3 до 5 місяця тільності збільшилася у корів першої групи у 2,89 рази, другої —у 3,77, третьої — у 3,87 і четвертої — у 2,94 рази, з 5 до 7 місяця тільності — відповідно у 1,65; 1,50; 1,36 і 1,47 рази і з 3 до 7 місяця тільності — відповідно у 4,76; 5,67; 5,29 і 4,33 рази. Кількість амніотичної рідини з 3 до 5 місяця тільності збільшилась у корів першої групи у 5,64 рази, другої — у 6,31, третьої — у 5,91 і четвертої — у 5,58 рази, з 5 до 7 місяця тільності — відповідно в 1,53; 1,60; 1,33 і 1,26 рази і з 3 до 7 місяця тільності — відповідно у 8,63; 10,12; 7,86 і 7,06 рази.

Таким чином, ріст маси та лінійних розмірів матки в ембріональний період проходить з різною інтенсивністю. Збільшення алантоїсної і амніотичної рідини у корів інтенсивніше проходить з 3 до 5 місяця тільності порівняно з періодом з 5 до 7 місяця тільності.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.082.32

В.П. ТКАЧУК, Й.З. СІРАЦЬКИЙ, І.В. ГУЗЄВ,
В.М. ВИШНЕВСЬКИЙ

ДИНАМІКА ВІКОВИХ ЗМІН БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ У ТВАРИН РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ М'ЯСНОЇ ХУДОБИ

Мета наших досліджень — дати характеристику біохімічних показників крові бугайців помісей F_1 спеціалізованих м'ясних порід поліської, симентальської, української та волинської порівняно з українською чорно-рябою худобою; простежити за індивідуальними, міжпородними відмінностями біохімічних показників крові та встановити зв'язок цих показників з енергією росту.

Дослідження проводились в КСП "Полісся" Овруцького району Житомирської області, де нами було сформовано 5 груп тварин по 20 голів: I — контрольна (тварини чорно-рябої породи), II — помісі чорно-ряба × поліська м'ясна, III — помісі чорно-ряба × симентальська м'ясна, IV — помісі чорно-ряба × українська м'ясна, V — помісі чорно-ряба × волинська м'ясна порода. Молодняк на дослід відбирався при народженні. Піддослідні групи сформовані протягом двох місяців. Тварини перебували групами в однакових умовах годівлі і утримання. Кров для досліджень брали у бичків з яремної вени вранці до першої годівлі у 6-, 12- і 15-місячному віці.

Визначали такі біохімічні показники: лужну фосфатазу, білірубін, сечовину АСТ, АЛТ, тригліцерин, білок, глюкозу Дослідження проводили за загальноприйнятими лабораторними методиками. Одержані результати досліджень опрацьовані за допомогою програм статистичного аналізу на персональному комп'ютері.

За результатами наших досліджень біохімічні показники

© В.П. Ткачук, Й.З. Сірацький, І.В. Гузєв, В.М. Вишневський, 2001

крові піддослідних бичків були у межах фізіологічної норми. Обстежені показники мають значну різноманітність, як індивідуальну (внутрішньогрупова), так і вікову. Через значну індивідуальну різноманітність характер міжпородних відмінностей не сталий в різні вікові періоди.

Міжпородні відмінності за вмістом лужної фосфатази, білірубіну, сечовини, АСТ, АЛТ, тригліцерину, білка і глюкози, більш суттєво спостерігаються у 6- місячному віці.

Серед ферментів, що відіграють важливу роль у процесах обміну сільськогосподарських тварин, значний інтерес викликають аспартатамінотрансфераза (АСТ) і аланінамінотрансфераза (АЛТ), які приймають участь у реакції переамінування і мають велику каталітичну активність. Активність АСТ і АЛТ з віком збільшується в усіх піддослідних групах (окрім АЛТ у помісей української м'ясної породи). У період з 6- до 15-місячного віку величина збільшення активності АСТ становила: для тварин I групи — 0,450 ммоль/г.л., II — 0,572, III —0,500, IV — 0,582, V — 0,530 ммоль/г.л., активності АЛТ — відповідно 0,492 ммоль/г.л., 0,417, 0,417, 0,322 і 443 ммоль/г.л. Зміна активності амінотрансфераз пов'язана з інтенсивністю росту піддослідних тварин.

Тварини, одержані від схрещування з м'ясними бугаями мали дещо більшу активність АСТ, тому можна сказати, що помісі F_1 мали вищі прирости, добрі відгодівельні і м'ясні якості.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.22/28.082.12

Р.В. СТАВЕЦЬКА

ТРИВАЛІСТЬ ПРОДУКТИВНОГО ВИКОРИСТАННЯ КОРІВ ЯК ФАКТОР СЕЛЕКЦІЙНОГО ТА ЕКОНОМІЧНОГО ПРОГРЕСУ У МОЛОЧНОМУ СКОТАРСТВІ

Незаперечним є факт спадкової зумовленості тривалості господарського використання корів певних генотипів у межах одного господарства. Тому в деяких країнах Європи (Німеччина, Франція та інші) тривалість господарського використання корів включена як селекційна ознака до системи селекції великої рогатої худоби.

Аналіз господарських даних, приведений вченими багатьох країн, показує, що період використання корів за останні 10 років щорічно скорочується на 0,1 лактацію (в Україні у 1996 р. він становив 3,51 лактацію). Якщо середня тривалість використання корів буде меншою, ніж 2,5 лактацій, то коровиматері почнуть вибувати із стада раніше, аніж дадуть приплід їхні дочки. При такому положенні стадо перестає існувати як біологічна система. Тому виникає потреба вивчення факторів, що обумовлюють тривалість господарського використання корів та розробки заходів щодо її поліпшення.

Чорно-ряба та червоно-ряба українські молочні породи великої рогатої худоби мають високий генетичний потенціал за надоєм (близько 7000 кг молока) та добру здатність переробляти поживні речовини корму в продукцію. Тому при оптимальній годілі тварини цих порід виявляють високу продуктивність та відтворну здатність.

В умовах ВАТ "Терезине" тварини двох порівнюваних порід проявляють різну продуктивність та тривалість використання. Корови української чорно-рябої породи переважають

© Р.В. Ставецька, 2001

ровесниць червоно-рябої породи на 467 кг молока (P>0,999) та 15 кг молочного жиру (P>0,99), що зумовлено, насамперед, вищим генетичним потенціалом за надоєм корів чорно-рябої породи. У корів червоно-рябої породи вища жирність молока на 0,04% (P>0,95) та більша на 0,4 лактації (P>0,95) тривалість використання.

У господарствах з невисоким рівнем годівлі та утримання тварин, у корів, особливо з високою часткою спадковості за голштинською породою (75 і більше відсотків), спостерігається підвищення частоти вибуття із стада через різні захворювання, порушення відтворної функції, різке зниження продуктивності та інше, і, як наслідок, знижується тривалість їхнього виробничого використання.

Тривалість виробничого використання корів прямо залежить від генетичної резистентності тварин до захворювань. У ВАТ "Терезине" основними причинами вибраковування тварин обох порід є гінекологічні хвороби (29—35%), а також хвороби вим'я (32%). Корови чорно-рябої та червоно-рябої порід вибувають із стада через зазначені причини майже в рівному співвідношенні, лише за порушенням відтворної функції корів української чорно-рябої породи вибуло на 6% більше, ніж української червоно-рябої. Це свідчить про те, що у більш продуктивних корів, якими є тварини чорно-рябої породи, частіше порушується відтворна функція через гінекологічні захворювання.

Білоцерківський державний аграрний університет

УДК 636.2.082.12

О.І. ЛЮБИНСЬКИЙ

МОЛОЧНА ПРОДУКТИВНІСТЬ КОРІВ РІЗНИХ ЛІНІЙ ПРИКАРПАТСЬКОГО ТИПУ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Дослідження проведені в стаді племзаводу "Мамаєвський" Чернівецької області. За даними зоотехнічного і племінного обліку проаналізовано продуктивні якості первісток різних ліній голштинської породи червоно-рябої популяції.

Результати досліджень свідчать, що найвищу продуктивність мали первістки від бугаїв-плідників лінії Віс Бек Айдіала. Переваги за надоєм порівняно з первістками інших ліній становили: 16,5 кг (лінія Романдейл Шейлімара), 659,6 (лінія Монтвік Чифтейна), 509,8 (лінія Рифлекшн Соверінга) і 765,1кг (лінія Віс Айдіала).

Первістки лінії Романдейл Шейлімара за надоями переважали аналогів ліній Монтвік Чифтейна, Рифлекшн Соверінга і Віс Айдіала відповідно на 642,7, 492,9 і 748,2 кг. Відмінності між первістками ліній Монтвік Чифтейна, Рифлекшн Соверінга і Віс Айдіала незначні.

Мінливість надою у первісток всіх ліній висока (19,2 — 21,9 %), що дає можливість поліпшення цього показника селекційними методами. Найвище значення коефіцієнта варіації у корів лінії Віс Бек Айдіала (21,9%).

Порівняльна оцінка жирномолочності первісток різних ліній показала, що найвищий вміст жиру в молоці мали корови-первістки лінії Монтвік Чифтейна (3,78%). Перевага порівняно з аналогами інших ліній становила: 0,03% (лінія Рифлекшн Соверінга), 0,08 (лінія Романдейл Шейлімара), 0,05 (лінія Віс Бек Айдіала) і 0,02 % (лінія Віс Айдіала). Первістки ліній Рифлекшн Соверінга і Віс Айдіала мали майже однако-

© О.І. Любинський, 2001

вий вміст жиру в молоці (3,75 і 3,76 %), переважали корів ліній Романдейл Шейлімара і Віс Бек Айдіала на 0,05 —0,02 % і 0,06—0,03%. Відмінність за жирномолочністю у первісток лінії Віс Бек Айдіала і Романдейл Шейлімара становила 0,03 %.

Залежно від рівня селекції плідника, кращі показники молочної продуктивності відмічені у первісток від плідників німецької селекції порівняно з канадською і вітчизняною. Але ступінь реалізації потенціалу молочності вищий у корів від плідників української селекції, одержаних в умовах Буковини, що в свою чергу свідчить про кращу пристосованість до умов регіону і лабільність до зовнішнього середовища.

Подільська державна аграрно-технічна академія

УДК 636.082.031

Д.Ю. ДОРОФЕЄВ

ДИНАМІКА БІОХІМІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ У РІЗНІ ПЕРІОДИ ТІЛЬНОСТІ

Висока продуктивність молочних корів обумовлює підвищення інтенсивності обмінних процесів та функціонального навантаження на системи і органи організму. Порушення умов утримання, повноцінності годівлі викликають зміни обміну речовин і сприяють розвитку гінекологічних хвороб та неплідності.

Дослідження біохімічних показників крові проведено на коровах і нетелях червоно-рябої молочної породи прикарпатського типу у різні періоди тільності та залежно від рівня продуктивності за методиками, описаними В.В. Меньшиковим та ін. (1987). За результатами досліджень кількість загального білка при зростанні тривалості тільності у корів і нетелей

© Д.Ю. Дорофеєв, 2001

збільшується, тоді як кількість альбуміну зменшується, а глобуліну — підвищується.

У корів залежно від їхнього продуктивного потенціалу встановлені такі особливості: у групі високопродуктивних корів (надій більше 5000 кг молока) вміст загального білка у всі контрольовані періоди нижчий, ніж у корів з середнім рівнем (надій 3500—5000 кг молока) і низькопродуктивних (надій менше 3500 кг) відповідно на 0,7—1,7 г/л (3 міс.), 0,6—1,3 (5 міс.), 0,4—1,4 (7 міс.) та 0,6—2,0 г/л (9 міс.). За відношенням альбумінів до глобулінів чітких відмінностей між порівнюваними групами тварин не відмічено. При збільшенні періоду тільності альбуміно-глобуліновий коефіцієнт зменшується з 0,94—1,22 (при тривалості тільності 3 міс.) до 0,43—0,63 (9 міс.), тобто посилюються захисні функції організму корови у заключні періоди тільності. У високопродуктивних корів в період тільності від 3 до 5 міс. спостерігається зменшення частки γ-глобулінів на 6,7 %, а в послідуючі періоди вона зростає на 9,8—16,8 %.

Аналізуючи динаміку вмісту загального білка у сироватці крові нетелей, слід відзначити, що його кількість менша, ніж у корів на 2,9—4,6 г/л (при тривалості тільності 3 міс.) , на 1,6—2,9 (5 міс.), на 0,8—2,2 (7 міс.) та на 0,2—2,2 г/л (9 міс.). Зауважимо, що більш істотною є різниця на початкових етапах тільності, а в послідуючі періоди вона зменшується. Це зумовлено тим, що корови продукують молоко, а організм нетелей весь період готується до наступних родів.

Отже, аналіз динаміки вмісту загального білка і його фракцій в сироватці крові корів з різним рівнем продуктивності показує, що для забезпечення продуктивного довголіття високопродуктивних корів необхідно для них поліпшувати умови годівлі і утримання.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.2.082.12

А.А. ПАХОЛОК, О.В. САВЧУК

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА МОЛОЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ І ВІДТВОРНОЇ ЗДАТНОСТІ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ І ДАТСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ ПОРІД

Для проведення порівняльної оцінки продуктивності корів української чорно-рябої молочної і датської чорно-рябої порід в умовах племзаводу "Квітневе" Білогірського району сформовано дві групи корів. У першу (контрольну) групу входить 122 гол. української чорно-рябої молочної породи, у другу (дослідну) — корови-ровесниці датської чорно-рябої породи, імпортовані з Данії (91 гол.).

Результати досліджень показують, що у первісток, завезених з Данії, удій за І лактацію становив 5635,18 кг, тоді як у корів-первісток української чорно-рябої молочної удій вірогідно менший на 1644,6 кг молока (29,2%) (P>0,999). За вмістом жиру корови-первістки другої групи також переважають своїх ровесниць на 0,57%, і відповідно вихід молочного жиру становить 201,69 кг, що на 61,56 кг (44%) більше, ніж у першій групі корів.

За ІІ лактацію корови датської селекції порівняно з тваринами вітчизняної селекції мали також більший надій (на 912,31кг молока), вищий вміст жиру в молоці (на 0,31% (8,2 %)) відповідно і вихід молочного жиру (на 49,07 кг або 35%). Такі особливості є вірогідними (P>0,999).

За ІІІ лактацію відмінності відповідають встановленим за І, ІІ лактації, хоча не такі значні. Різниця за надоєм, вмістом жиру і кількістю молочного жиру на користь корів датської селекції становить 461,7кг, 0,3%, 23,3 кг.

У корів датської чорно-рябої породи продуктивність з

© А.А. Пахолюк, О.В. Савчук, 2001

віком знижується, за II лактацію на 473,99 кг менше, ніж за I лактацію, за III — на 132,86 кг менше порівняно з II лактацією і на 606,85 кг менше порівняно з I лактацією. У корів української чорно-рябої молочної породи продуктивність з віком збільшується відповідно на 358,3 кг і за III відповідно на 318,56 і 576,66 кг.

Тривалість сервіс-періоду більша у корів другої групи. Різниця за I лактацію становить 70 днів, за III — 80 днів, а за II — незначна. Різниця тривалості сухостійного періоду за I і II лактації незначна, а за III —30,5 днів на користь корів першої групи.

Отже, корови української чорно-рябої молочної породи краще пристосовані до умов годівлі і утримання, а ровесниці датської чорно-рябої знижують продуктивний потенціал при адаптації в нових умовах.

Подільська державна аграрно-технічна академія

УДК 636.2.082.12

Б.В. МОСКАЛЮК

ПРОДУКТИВНІ ЯКОСТІ КОРІВ ПРИКАРПАТСЬКОГО ТИПУ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Інтенсивне впровадження міжпородного схрещування на Буковині, де розводять худобу симентальської породи, призвело до формування червоно-рябої худоби молочного типу.

Дослідження проведено у стаді племзаводу СВК ім. Суворова Чернівецької області. За даними зоотехнічного і племінного обліку проаналізовано продуктивні якості первісток 3/4-кровних плідників різних типів червоно-рябої популяції. I група — дочки плідника Секрета 7541 прикар-

© Б.В. Москалюк, 2001

патського типу, II— дочки бугая-плідника Дубка 3212 центрального типу.

Аналіз одержаних даних показує, що вищу продуктивність із порівнюваних груп мали первістки I групи. Перевага за надоєм над ровесницями II групи становила 212,8 кг. Порівняльна оцінка жирномолочності первісток показала, що найвищий вміст жиру в молоці мали корови-первістки I групи (3,55%). Перевага порівняно з аналогами II групи становила 0,06 %. Встановлені особливості були вірогідними (P>0,01). За кількістю молочного жиру первістки від бугая Секрета 7541 вірогідно переважали ровесниць від плідника Дубка 3212 на 9,3 кг (P>0,01).

Найбільшу живу масу мали первістки I групи (470,2 кг), що вірогідно більше порівняно з коровами-первістками II групи на 18,4 кг (P>0,001). Кращі показники коефіцієнта молочності були також у первісток I групи. Вони переважали аналогів II групи на 24 кг.

Оцінка первісток за формою вим'я показала, що серед дослідних груп 84% первісток I групи мали бажані форми вим'я, а у II групі — лише 72%. В обох групах кількість тварин з ванноподібною формою вим'я була однаковою. Отже, переважна більшість первісток мали форму вим'я, яка придатна до сучасних технологій машинного доїння.

Вищу інтенсивність молоковіддачі мали первістки I групи (1,69 кг/хв), що краще порівняно з ровесницями II групи на 0,03 кг/хв, але відмінності невірогідні (P<0,2).

Порівняльна оцінка відтворної здатності корів показала, що у первісток II групи ці показники кращі, ніж у ровесниць I групи. Тривалість сервіс- і міжотельного періодів менша у них на 50,0 і 47,9 днів (P>0,05), але коефіцієнт відтворної здатності вищий на 0,081 (P>0,05).

Інститут розведення і генетики УААН

УДК 619:614.9:636.4.064:612.118.017.11.06

О.Б. ШЕВЧЕНКО

ЗАЛЕЖНІСТЬ ІНТЕНСИВНОСТІ РОСТУ, АКТИВНОСТІ ГУМОРАЛЬНИХ ФАКТОРІВ ПРИРОДНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ І ЗДОРОВ'Я СВИНЕЙ ВІД МІКРОКЛІМАТУ ПРИМІЩЕНЬ

Вузькоспеціалізовані породи м'ясних свиней імпортної селекції не знайшли широкого використання в Україні при чистопородному розведенні із-за низької адаптаційної властивості і значної стрес-стійкості. Водночас тільки тварини, які поєднують високі господарсько-корисні якості з необхідним рівнем стійкості до несприятливих чинників зовнішнього середовища, можуть забезпечити рентабельність виробництва продукції.

Тому велике значення набуває вивчення факторів природної резистентності свиней, які були вирощені в несприятливих умовах мікроклімату.

Сформовано 6 груп свиней таких генотипів: 1 і 4 групи — велика біла порода; 2 і 5 — порода ландрас; 3 і 6 групи — помісні тварини 1/2 ВБ + 1/2 Л. Тварини контрольних груп (1, 2 і 3) вирощувалися при температурі 16—18 °С і відносній вологості 70—71%, а дослідних (4, 5 і 6) — відповідно 11—13 °С і 72—73%.

Встановлено, що зниження температури на 5—7 °С і збільшення відносної вологості на 1—3% привело до різкого зменшення інтенсивності швидкості росту свиней. Зміна умов утримання вплинула на показники факторів сироватки крові — встановлена вірогідна різниця між контрольними і дослідними групами у всі вікові періоди по бактерицидній, лізоцимній і комплементарній активності.

© О.Б. Шевченко, 2001

Зменшення активності гуморальних факторів природної резистентності тварин привело до збільшення захворювання їх респіраторними, кишково-шлунковими та іншими хворобами.

Харківський зооветеринарний інститут

УДК 636.4.082

Б.П. КОВАЛЕНКО

НОВИЙ ЗАВОДСЬКИЙ ТИП СВИНЕЙ ВЕЛИКОЇ БІЛОЇ ПОРОДИ

У комплексі заходів, направлених на подальший розвиток свинарства, збільшення виробництва дешевої свинини високої якості, поряд з раціональним використанням генетичного потенціалу порід свиней, які розводяться в Україні, великого значення набуває створення нових, високопродуктивних генотипів свиней, які в системах чистопородного розведення і гібридизації можуть забезпечити прогрес галузі. Генофонд свиней нашої держави характеризується високим потенціалом продуктивності, але за м'ясними якостями і витратами корму поступається кращим світовим породам і спеціалізованим лініям. Водночас імпортні породи в сучасних екологічних умовах не повністю проявляють свій генетичний потенціал продуктивності, мають низьку якість м'ясопродуктів. Тому селекція основних порід ведеться у напрямі виведення в них спеціалізованих типів.

Колективом вчених Інституту тваринництва УААН, Харківського зооветеринарного інституту, фахівців Дніпропетровського селекційно-гібридного центру та інших підприємств і господарств завершена робота по виведенню спеціалізованого заводського типу великої білої породи з підвищеними м'ясними

© Б.П. Коваленко, 2001

якостями. Програма щодо створення заводського типу координувалась Інститутом свинарства УААН.

Середня багатоплідність самок з двома і більше опоросами становила 11,7 поросят, маса гнізда в 35-добовому віці — 66,5 кг.

Дані контрольної відгодівлі 324 голів (1995—1996 рр.) свідчать про те, що тварини нового генотипу живої маси 100 кг досягали за 175 днів при середньодобових приростах 795 г та витратах корму на 1 кг приросту 3,35 корм. од. Довжина туші забитих тварин становила 97,5 см, товщина сала на рівні 6—7 грудних хребців — 24,5 мм, маса окосту — 10,9 кг. Вказані дані на 2,0—11,0% перевершують цільовий стандарт і на 8,0—21,0% — стандарт класу еліта по великій білій породі.

У розрізі належності до основних заводських ліній кращими за відгодівельними якостями були представники лінії Діапазона, Дніпра і Диплома, а найвищим вмістом м'яса в туші — представники лінії Дуплета (64,2%).

Хімічний склад, фізичні та технологічні властивості найдовшого м'язу спини показали, що м'ясо тварин нового заводського типу порівняно з м'ясом свиней породи ландрас має кращі технологічні властивості, характеризується більшою вологоємністю і меншими витратами при тепловій обробці, а по вмісту повноцінних білків воно не поступається м'ясу свиней порід ландрас і дюрок.

Харківський зооветеринарний інститут

УДК 636.4.082

А.А. ГЕТЯ

ПРОДУКТИВНІСТЬ МОЛОДНЯКУ СВИНЕЙ ПОЛТАВСЬКОЇ М'ЯСНОЇ ПОРОДИ, ОТРИМАНОГО ВІД ГЕТЕРОГЕННОГО ПІДБОРУ БАТЬКІВСЬКИХ ФОРМ

Правильний підбір батьківських пар є однією з передумов для досягнення селекційного прогресу. Дане питання не є новим у селекційній роботі, проте залишається актуальним і зараз. При підборі тварин традиційно звертається увага на продуктивність та екстер'єр. Перш за все враховуються ті показники, що корелюють з ознаками продуктивності, наприклад довжина тулуба. Така ознака як міцність кінцівок хоча і досліджувалась, але в більшій мірі у зв'язку із здоров'ям тварин (M.F. Rothschild et al., 1988). У даних дослідженнях ми

Результати контрольного забою

Ознаки	Групи			
	1	2	3	4
Вік досягнення живої маси 100 кг, дн.	224,0	228,5	225,2	229,8
Середньодобовий приріст, г	495,3	485,2	491,9	479,5
Товщина шпику, мм	27,7	28,1	28,1	28,8
Вихід, %:				
м'яса	58,5	58,1	57,9	58,0
сала	22,9	22,9	22,9	23,2
кісток	12,3	12,7	12,3	12,3
Шкіра	6,3	6,3	6,9	6,5
pH	6,0	6,0	5,9	6,0
Ніжність, с	14,7	14,6	14,3	15,4
Колір, од. екст. × 1000	64,3	66,2	67,2	64,3
Вологовтримуюча здатність, %	46,6	45,5	45,3	43,0

© А.А. Гетя, 2001

спробували показати як міцність кінцівок батьківських пар впливає на відгодівельні та м'ясні якості нащадків, а також якість їхнього м'яса.

Робота проводилася у дослідному господарстві Інституту свинарства УААН. На основі попередніх тестувань за методикою оцінки міцності кінцівок (Малишев Б.Т., 1988) тварин було розділено на дві групи: з міцними та слабкими кінцівками. За їх участю було сформовано 4 групи піддослідних поросят таким чином, що перша та четверта групи походили від гомогенно підібраних батьків відповідно з слабкими (1) та міцними (4) кінцівками (асортативне схрещування), друга та третя групи утворилися у результаті гетерогенного підбору (реципрокне схрещування). Всі тварини утримувалися в аналогічних умовах. При досягненні тваринами 100 кг маси їх було забито (таблиця).

На основі наведених даних можна зробити висновки, що молодняк, отриманий від поєднання конституційно міцних тварин, досяг найкращих відгодівельних якостей, хоча за якістю м'яса переваг не виявлено.

Інститут свинарства УААН

УДК 636.22/ 28.082

В.І. ЦУП, Б.Є. ТИХОНОВА, Т.С. ЯЩУК, О.М. ЖУКОРСЬКИЙ

ХАРАКТЕР ТА ОСОБЛИВОСТІ УСПАДКУВАННЯ ОСНОВНИХ СЕЛЕКЦІЙНИХ ОЗНАК КОРОВАМИ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ ПОРОДИ

Дослідження проведені на 230 коровах старіших третього отелу та їх дочках. Кровність корів-матерів за голштинською породою знаходилась у межах 50—75%. Вони осіменялися сім'ям чистопородних голштинських бугаїв американської селекції, тобто кровність дочок на порядок вище. Проміри та ек-

© В.І. Цуп, Б.Є. Тихонова, Т.С. Ящук, О.М. Жукорський, 2001

стер'єрно-конституційну оцінку корів проводили на 2—3 міс. лактації, молочну продуктивність обліковували за 305 днів лактації. Вивчення наявних відмінностей по морфологічних ознаках корів здійснювали через взяття 7 промірів тулуба, вирахування індексів тілоскладу, визначення коефіцієнта виробничої типовості (КВТ) тварин за Б.П. Ничиком (1987).

Конституційний тип корів визначали окомірно, використовуючи традиційний метод визначення конституції, запропонований П.Н. Кулешовим і М.Ф. Івановим. До грубого типу конституції відносили в основному тварин близьких за типом тілобудови до симентальської породи, до ніжного — корів з чітко вираженими ознаками молочного типу, корів з проміжними формами тілобудови — до міцного типу конституції. Групуючи корів з урахуванням конституції порівнювали молочну продуктивність корів різних конституційних типів, вивчали взаємозв'язок цих показників з молочною продуктивністю, а також відповідність конституційного типу корів виробничому типу.

На основі проведеної оцінки встановлено, що в стаді питома вага корів з грубою конституцією становить 12,0, міцною — 58,0, ніжною — 30,0 відсотків. Коефіцієнт виробничої типовості (КВТ) становить 2,7, причому межі значень його досить широкі (від 3,2 до 2,0). Про значну неоднорідність поголів'я свідчать також порівняно високі показники коефіцієнтів варіації по промірах висоти в холці, довжини тулуба, ширини грудей.

При оцінці взаємозв'язку типу конституції з молочною продуктивністю тварин встановлено, що більш високі надої за 305 днів лактації властиві коровам міцної конституції. Корови з міцною конституцією переважали за надоєм корів ніжного типу на 154,2 кг, грубого — на 516,0 кг. Для корів ніжного типу властива менша жива вага на 38,6 кг, ніж у корів грубого типу і на 18,0 кг порівняно з коровами міцної конституції, але більша висота в холці та глибина грудей. Коровам грубої конституції характерні більш високі показники обсягу та ширини грудей, обсягу п'ястка, тобто різниця в тілобудові

тварин різних конституційних типів підтверджується показниками лінійних промірів.

Встановлено чітку узгодженість показників коефіцієнтів молочності та виробничої типовості тварин у розрізі конституційних типів. Корови ніжної та міцної конституції як за коефіцієнтом молочності, так і за коефіцієнтом виробничої типовості відносяться до молочного і молочно-м'ясного типу, водночас, як корови грубого типу конституції ближчі до м'ясо-молочного типу.

Аналіз успадкування тілобудови дочками свідчить про досить високу ступінь передачі грубого типу матерями. Так 35 відсотків дочок корів грубого типу конституції успадкували тип тілобудови матерів. Висока спадкова обумовленість та консервативність цього типу тілобудови підтверджується наявністю серед дочок корів з ніжним і міцним типом до 15 відсотків особин з грубою конституцією.

Показники успадкування надою і жиру, вираховані шляхом подвоєння коефіцієнта кореляції в парах мати-дочка, свідчать, що взаємозв'язок між надоєм дочок і матерів, які належать до грубого і ніжного типів конституції, відсутній. Виявлено позитивну кореляцію між надоєм у парах мати-дочка ($r = 0,18$) з міцною конституцією.

Тернопільський інститут АПВ

УДК.636.2.082

В.І. ЦУП, О.М. ЖУКОРСЬКИЙ, Т.С. ЯЩУК, Б.Є. ТИХОНОВА

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ РІЗНОЇ СЕЛЕКЦІЇ ПРИ УДОСКОНАЛЕННІ УКРАЇНСЬКОЇ ЧЕРВОНО-РЯБОЇ ПОРОДИ

У селекційному процесі створення та удосконалення української червоно-рябої породи широко задіяні бугаї канадського, німецького та вітчизняного походження, тому доцільним є проведення порівняльного аналізу ступеня реалізації генетичного потенціалу бугаїв різної селекції при використанні їх на місцевому маточному матеріалі.

Молочну продуктивність за першу лактацію корів-дочок червоно-рябих голштинських бугаїв-плідників канадської, німецької та вітчизняної репродукції вивчали на 6 кращих племінних і товарних фермах Заліщицького району. У цих господарствах одночасно використовувалися бугаї зарубіжної та вітчизняної селекції. Одержані дочки лактували в одні й ті самі роки в практично однакових умовах годівлі, догляду та утримання.

Середня продуктивність корів у стадах знаходилась в межах 3,0—3,6 тис. кг молока за лактацію. Дослідженнями було охоплено 12 бугаїв, з них 3 — канадського, 5 — німецького, 4 — вітчизняного походження та 356 їхніх дочок. Усі канадські бугаї належали до чистопородних, німецькі та вітчизняні — представлені як чистопородними, так і помісними бугаями з долею кровності по німецькій палево-рябій породі від 1/8 до 1/4. Батьківський індекс (БІБ) імпортних бугаїв канадської селекції становив 9,6 тис. кг молока жирністю 3,9%, німецької — 8,9 тис. кг молока жирністю 4,2%, вітчизняної репродукції — відповідно 8,2 тис. кг і 3,8%.

© В.І. Цуп, О.М. Жукорський, Т.С. Ящук, Б.Є. Тихонова, 2001

У відношенні до ровесниць кращими виявилися дочки бугаїв німецького походження (82 дочки, +182,6 кг, +0,04%), вони переважали дочок бугаїв вітчизняної репродукції за надоєм на 143,4 кг, за вмістом жиру — на 0,02%. Дочки бугаїв-плідників канадської селекції значно поступалися за молочною продуктивністю дочкам бугаїв як німецького, так і вітчизняного походження (72 дочки, — 125,3 кг, — 0,02%).

Аналіз використання високопродуктивних голштинських плідників для поліпшення різних генетичних груп тварин української червоно-рябої породи у стадах з надоєм до 3,5 тис. кг молока на рік показав, що незважаючи на високий рівень продуктивності предків, ступінь реалізації генетичного потенціалу бугаїв досить низький. В цілому більш високоцінні бугаї канадської селекції в умовах екстенсивного ведення галузі за впливом на продуктивність дочок поступалися менш цінним плідникам європейського походження.

Порівнюючи плідників за методом дочки-ровесниці виявлено, що ранговий розподіл бугаїв різного походження за надоєм дочок може істотно змінюватися залежно від продуктивності стада.

Паралельно проаналізовано результати оцінки 37 голштинських червоно-рябих бугаїв у Чернівецькому облплемоб'єднанні за період з 1988 по 1996 р. на 970 дочках. При середньому надої в стадах вище 4,0 тис. кг молока плідники канадської селекції за ефективністю використання були кращими від бугаїв німецького та вітчизняного походження.

Отже, поліпшення ефективності використання голштинських бугаїв можна забезпечити лише за умови допущення до осіменіння корів з надоєм 4,0 тис. кг молока і вище, а також проведення оцінки плідників по якості нащадків на поголів'ї з продуктивністю, характерною для регіону.

Тернопільський інститут АПВ

УДК.636.22/ 2.082.26

О.М. ЖУКОРСЬКИЙ, Н.В. ГЕЦЬ, Б.Є. ТИХОНОВА,
Н.М. ДЕМЧУК

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ БУГАЇВ М'ЯСНИХ ПОРІД УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ У ПРОМИСЛОВОМУ СХРЕЩУВАННІ

Для вивчення росту і м'ясної продуктивності сформовано дослідні групи бичків по 13—15 голів у кожній: I група — чорно-ряба × голштинська × волинська (ЧР × Г × В), II — чорноряба × голштинська х знам'янська (ЧР × Г × Зн), III — чорноряба × голштинська × українська (ЧР × Г × УМ),IV — червоно-польська × голштинська х волинська (ЧП × Г × В),V — червоно-польська × голштинська × знам'янська (ЧП × Г × Зн),VI — червоно-польська х голштинська (ЧП × Г),VII група — чорно-ряба × голштинська (ЧР × Г).

В усі вікові періоди знам'янські помісі за живою масою переважали волинських. Найвищою живою масою відзначалися тварини генотипу ЧР × Г × УМ. За весь період досліду від народження до 18-місячного віку середньодобові прирости у помісей ЧР × Г × УМ були вищі, ніж у знам'янських помісей на 3,2% і на 6,5% ($P < 0,02$) порівняно з волинськими.

Перед заключним періодом відгодівлі (15 місяців) тварини всіх генотипів досягли живої маси 390 — 430 кг. Протягом заключного періоду відгодівлі (90 днів) збереглась тенденція у приростi живої маси у різних генотипів у тій самій послідовності, що й до 15 місяців. Абсолютні показники приросту живої маси у тварин ЧР × Г × УМ на 3—18% вищі, ніж у інших генотипів.

По закінченні відгодівлі (18 міс.) жива маса бичків III групи була вищою на 3,45%, аніж у тварин II групи і на 7,2% порівняно з I групою ($P< 0,05$). Порівняно із материнською

© О.М. Жукорський, Н.В. Гець, Б.Є. Тихонова, Н.М. Демчук, 2001

породою їхня жива маса була вищою на 11% (P< 0,01). Бички I і II груп переважали своїх ровесників із VII групи відповідно на 3,7% і 7,4% (P < 0,05). Жива маса бичків IV групи була вищою на 6% (P< 0,05) порівняно із VI групою. Бички V групи переважали ровесників із VI групи на 10,2% (P < 0,001). По енергії росту у заключний період відгодівлі помісі із м'ясними породами значно випереджали своїх ровесників по материнській породі. Так середньодобовий приріст живої маси у помісей ЧР × Г × м'ясні породи був вищим на 11—21% (P < 0,001), а помісі ЧП × Г × Зн мали вищий приріст на 4,2% порівняно із ЧП × Г ровесниками.

Встановлено, що по забійних показниках є різниця на користь помісей ЧР × Г × УМ. Слід відзначити, що вищий показник забійного виходу у помісей зумовлений вищим виходом туші, оскільки істотної різниці по вмісту жиру між групами не виявлено. Зауважимо, що тварини материнської породи істотно поступались помісям від м'ясних плідників. Різниця по виходу туші становила 1,3—2,4% у чорно-рябих та 1,1—1,6% у червоно-польських генотипів.

Вивчення морфологічного складу півтуш бичків показало, що існує закономірність у збільшенні показників виходу м'якуша у помісей із м'ясними плідниками. Різниця за цим показником становила близько 2% порівняно із бичками материнської породи. В цілому тварини материнської породи характеризуються і нижчим коефіцієнтом м'ясності.

За екстер'єрними показниками усі помісні тварини мали добре виражений м'ясний тип і за своїм габітусум відповідали напряму продуктивності. У всіх помісних тварин добре розвинуті передня і середня частини тулуба, особливо у генотипу ЧР × Г × УМ. За умов максимального використання жому і помірного рівня концентратів у 18 місяців вищої живої маси — 507 кг досягають помісні бички української м'ясної породи з голштинізованою чорно-рябою, далі ідуть знам'янські — 490 і волинські — 470 кг. Помісі голштинізованої червоної польської худоби із знам'янськими і волинськими плідниками у цьому ж віці мають живу масу 481 кг і 457 кг.

Тернопільський інститут АПВ

УДК 636.1.082

В.І. ЦУП, М.С. ВЛАСЮК, І.М. СКАЛЮК

ЗАВДАННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ НОВОЇ ПОРОДИ КОНЕЙ В УКРАЇНІ

Розвиток різних форм господарювання на селі спонукав необхідність зменшення енергетичних затрат на виробництво, зумовив пошук раціональних, екологічно чистих енергоносіїв. Як наслідок, значно зростає потреба у використанні коней як живої тяглової сили.

Особливо актуальним це питання є для західних областей України. Висока щільність населення (більше 100 чол. на 1 кв. км), а також особливості природно-кліматичних умов в окремих місцевостях регіону, обумовлюють функціонування значної кількості дрібних присадибних господарств з площею землекористування до 2 га, фермерських — до 15 га. Тут кінь був і залишається невід'ємною частиною сільського життя і побуту. Про це свідчить підвищення попиту на коней у населення. Якщо у 1990 р. співвідношення між кількістю коней у сільськогосподарських підприємствах і приватному секторі становило 3 : 1 , то у 2000 р. — 1 : 1,7. Нині у західних областях нараховується 312 тис. голів коней, або 42 відсотки до наявних в Україні. У регіоні нині відчутною стає потреба в конях як в кількісному відношенні, так і в якісному. Однак внаслідок систематичної недогодівлі коней, відсутності елементарного зоотехнічного обліку та належних умов утримання і експлуатації, якісний склад наявного поголів'я не може задовольнити зростаючих до нього вимог. У переважній більшості місцеві коні є малосильними і дрібними. Жива маса їх коливається в межах 350—450 кг.

Сьогодні селу потрібний універсальний запряжний кінь: сильний, витривалий з відповідною жвавістю, невибагливий,

© В.І. Цуп, М.С. Власюк, І.М. Скалюк, 2001

здатний для використання на різних сільськогосподарських роботах і в побуті.

Потребу в швидкому нарощуванні кількості таких коней неможливо покрити шляхом масового завозу в регіон породистих коней заводських порід. Це є проблемним, враховуючи недостатню кількість їх і досить вузьку спеціалізацію.

Найраціональнішим у даній ситуації є масове поліпшення наявного поголів'я. У регіоні є 208 тис. голів помісних коней, одержаних від використання жеребців новоолександрівської ваговозної, орловської рисистої та української верхової порід. Сформований масив поліпшених коней строкатий як у генотипному відношенні, так і за господарсько-корисними ознаками. Необхідним є налагодження цілеспрямованої роботи з ним по єдиному селекційному плану для консолідації якісних показників помісей у напряму універсальності їхнього використання.

Співробітниками інституту розроблена програма перетворення помісного масиву коней західного регіону в українську запряжну породу шляхом відтворного схрещування. Схема виведення породи передбачає використання на кобилах напівкровних за новоолександрівською ваговозною, орловською рисистою і українською верховою жеребців торійської та латвійської породи з доведенням долі крові обох порід у кінцевих генотипах до 50—75 відсотків та послідуючим розведенням поголів'я бажаного типу "у собі".

Мета роботи полягає у створенні в західному регіоні породи коней живою масою 500—580 кг з вираженими запряжними формами, масивним тулубом і міцною конституцією, придатної для виконання широкого діапазону сільськогосподарських робіт.

На даний час проведено комплексне експедиційне обстеження поголів'я коней у 47 господарствах восьми областей регіону. Вивчаються господарсько-корисні ознаки коней планових генотипів та уточнюються стандарти росту і розвитку коней нової породи. Робота по створенню породи ведеться в базових господарствах західного регіону.

Тернопільський інститут АПВ

УДК 636. 4. 084/087

Л.І. ЯЦЕНКО

ПРОТЕЇНОВЕ ЖИВЛЕННЯ І ПРОДУКТИВНІСТЬ СВИНОМАТОК

Мета наших досліджень — встановлення продуктивності тварин різних порід (великої білої, полтавської м'ясної та миргородської) при різному рівні протеїнового живлення.

Досліди проведено в умовах експериментальної бази Інституту свинарства УААН на 180 головах двомісячних свинок різних порід (великої білої, полтавської м'ясної та миргородської), сформованих у 9 груп по 20 свинок-сестер у кожній. Протеїнове забезпечення тварин перших груп — за нормами Інституту свинарства УААН, других і третіх — на 15% більше та менше відповідно.

Вивчали вплив різних рівнів протеїнового живлення на інтенсивність росту і розвитку ремонтних свинок, кількість і якість приплоду у свиноматок.

Середньодобові прирости піддослідних свинок різних генотипів перших груп знаходились на рівні 593 — 630 г, других — 577 — 605, третіх — 592 — 612 г.

При досягненні потрібної живої маси усіх свинок штучно осіменили спермою чистопородних кнурів-плідників відповідних порід. Із спарованих свинок найбільшу багатоплідність мали тварини других груп порід, але в них мертвонароджених поросят (0,31 — 0,50 гол. на опорос) було найбільше. Середня маса поросят у піддослідних групах всередині кожної породи виявилася майже однаковою. Дещо різна кількість відлучених поросят від спарованих свиноматок.

Період від одержання ремонтної свинки до відлучення від неї поросят у 60-денному віці від кожної породи свій.

Отже, протеїнове забезпечення свинок при вирощуванні за нормами Інституту свинарства УААН або збільшення їх на 15% дає позитивні результати.

Інститут свинарства УААН

© Л.І. Яценко, 2001

ЗМІСТ

Зубець М.В., Буркат В.П., Кругляк А.П. Золотий скарб біологічної науки двох тисячоліть 4

Жильцов Н.З., Суботин А.Д., Голубь А.С., Чичилов А.В. Усовершенствование технологии глубокого замораживания спермы 10

Осташко Ф.І., Осташко В.Ф. До механізму температурного шоку клітин 18

Павленко М.П. Нові альтернативні антишокові компоненти рослинної природи і їхній вплив на кріорезистентність і біологічні показники статевих клітин бугаїв при кріоконсервації у безжовткових середовищах 24

Павленко Б.М. Результати вивчення кріоконвекторного способу заморожування сперми 30

Смирнова О.І. Методи запобігання згубній дії перепадів осмотичного тиску електролітів і неелектролітів на спермії бугая 33

Смирнова О.І. Використання дрібнодисперсних кремнеземів у середовищах для кріоконсервації сперми баранів 36

Кругляк П.А., Мельничук С.Д., Маренець М.В., Смирнова О.І., Журавель М.П. Спосіб тривалого зберігання інактивованих сперміїв бугаїв при температурі +2 — +15 °С 39

Журавель М.П. Вплив гіпоосмолярності на характер і механізм ушкодження сперміїв шляхом специфічної деформації їх 44

Журавель М.П. К истории проблемы хранения спермы производителей посредством ангидробиоза 48

Буркат В.П., Бегма Л.О., Бегма А.А., Кругляк П.А. Спосіб раціонального використання сперми бугаїв-лідерів 57

Сивопляс В.В. Пути снижения экономических затрат при длительном хранении спермы быков-производителей в замороженном состоянии 60

Кругляк А.П. Якість замороженої сперми, що зберігалася понад 40 років 66

Кругляк А.П., Зеленська Т.І. Спосіб ефективного використання бугаїв 67

Суржанська Я.Ю., Медведовський О.В., Горбунов Л.В. Комп'ютерний метод оцінки рухливості сперміїв 70

Шарапа Г.С. Раціональне використання бугаїв і сперми 72

Бусенко О.Т. Розвиток сім'яників у бугайців за різних рівнів годівлі 77

Сірацький Й.З., Федорович Є.І. Закономірності формування відтворної здатності у бугаїв-плідників чорно-рябої породи ...80

Кадиш В.О., Сірацький Й.З. Динаміка становлення статевої функції у бугаїв абердин-ангуської породи 86

Сагло О.Ф., Фоломєєв В.З., Опришко Н.М. Вплив янтарнокислого натрію на репродуктивну функцію кнурів-плідників 88

Полупан Ю.П. Інтегральні методи прогнозування спермопродуктивності бугаїв 90

Коропець Л.А. Повторюваність ознак спермопродукції у бугаїв української м'ясної породи 98

Романов Л.М., Бойко О.В. Використання лактину для підвищення якості сперми бугаїв 100

Шапірко В.В. Мінливість ознак спермопродукції та запліднювальної здатності сперматозоїдів бугаїв м'ясних порід 102

Трофименко А.О., Тараненко А.Г. Фенетика гамет сільськогосподарських тварин 104

Кузнєцов В.Є. Перспективи розвитку біотехнологій у тваринництві та медицині України 109

Горбунов Л.В., Безуглий М.Д. Розробка ефективних технологій кріоконсервації статевих клітин та ембріонів ссавців у широкому діапазоні швидкостей заморожування 115

Горбунов Л.В., Морозова І.А. Визначення критичної зони кристалоутворення внутріклітинного середовища у ембріонів миші при високих та надвисоких швидкостях заморожування-відтавання 119

Трохименко Г.Г., Безуглий М.Д. Вивчення проникності цитоплазматичних мембран ооцитів свині до кріопротекторів .120

Дудчак В.О. Вплив біологічно-активних речовин на гістоморфологічні показники репродуктивних органів та приживлення деконсервованих ембріонів у телиць 122

Гаджієв О.І. Енуклеація ооцитів великої рогатої худоби, які дозріли *in vitro* до метафази II 125

Гузеватий О.Є., Троцький П.А. Кріоконсервування ооцитів корів з різним кумулюсом 126

Ковтун С.І. Вплив видалення сім'яної плазми перед заморожуванням еякульованих сперматозоїдів бугая на ефективність отримання зародків великої рогатої худоби *in vitro* 129

Кузнєцов В.Є., Мелешко Н.Я. Ефективність використання епідидимальних сперматозоїдів при отриманні зародків сільськогосподарських тварин поза організмом 131

Косенюк Ю.М. Приготування сухоповітряних препаратів енуклейованих ооцитів корів 133

Кузнєцов В.Є., Кузнєцова І.Б., Ковтун С.І. Диференційне С-забарвлення хромосом ооцитів великої рогатої худоби 134

Кузнєцова І.Б., Ковтюх О.О., Остаповець Л.І. Особливості зародкового розвитку партеногенонів великої рогатої худоби .136

Лобачова І.В. Залежність OPU-вилучення ооцитів корів від діаметра аспіраційної голки 138

Лобачова І.В. Особливості підготовки заморожено-відталих сперміїв баранів до інсемінації ооцитів *in vitro* 140

Мезінов О.С. Кріоконсервація ембріонів овець 142

Остаповець Л.І. Цитоморфологічні особливості незрілих ооцитів свиней 144

Ткачова І.В. Генетичні, імунологічні особливості, продуктивність та репродуктивна функція близнят великої рогатої худоби, отриманих методом трансплантації ембріонів 146

Мирось В.В., Ткачов А.Ф., Хватов А.І., Файзулін Р.А., Розсоха Л.В. Проблеми збереження породного генофонду свиней України 149

Рубан С.Ю. Методологія використання генетико-екологічних моделей для оцінки реалізованого генотипу в молочному скотарстві 151

Димань Т.М., Глазко В.І., Ланін Є.В. Особливості генетичної структури лебединської породи за біохімічними маркерами ...153

Корінний С.М., Балацький В.М. Генетико-популяційний аналіз стада внутрішньопородного типу УВБ-1 на основі імуногенетичного та ДНК-маркерування 155

Ганчев М.М., Бойко М.Ф., Бондаренко Г.П. Раннє прогнозування продуктивних якостей первісток як метод раціонального використання генофонду тварин 157

Степанова Н.Ю., Балацький В.М., Метлицька О.І. Розповсюдження алелів RYR1 та GH-генів у популяціях свиней різних порід 158

Бодак Н.Л., Полупан Ю.П. Адаптаційні та генетичні аспекти ефективності довічного використання чорно-рябої молочної худоби 160

Мельник Ю.Ф., Дідик М.В., Подоба Б.Є., Стоянов Р.О Імуногенетична експертиза у тваринництві України 162

Петренко І.П. Співвідношення статей у потомстві корів залежно від рівня їх молочної продуктивності 164

Рудик І.А., Буштрук В.В., Старостенко І.С. Ефективність добору ремонтних бугайців за спермопродуктивністю їх батьків 168

Тимченко Л.О., Тимченко О.Г. Ангуська худоба в породотворному процесі. 169

Ковтюх С.І. Вивчення господарсько-корисних ознак української чорно-рябої молочної породи 173

Йовенко І.В. Залежність ефективності селекції від точності оцінки племінної цінності ліній і родин 175

Пешук Л.В. Шляхи підвищення генетичного потенціалу червоної худоби 177

Любецький В.Й., Яблонський В.А. Деякі способи підвищення відтворювальної здатності корів 179

Шеремета В.І. Функціональний та метаболічний стан жовтого тіла яєчників телиць 184

Сірацький Й.З., Демчук С.Ю. Виявлення охоти у корів після застосування естрофану 189

Церенюк О.М. Відтворні якості самок української м'ясної породи у поєднанні з кнурами різних генотипів 190

Кот В.С., Коркін В.А. Біотехнологічні методи корекції відтворної функції корів і телиць 192

Маценко М.І. Ефективність селекції свиноматок за тривалістю поросності 194

Гришина Л.П. Вплив живої маси свиноматок при першому паруванні на подальшу їх продуктивність 196

Маляренко А.А. Вплив рівня молочної продуктивності на деякі показники відтворної здатності корів 197

Бондар А.О. Фактори, що впливають на багатоплідність овець 198

Гетя А.А. Дослідження фізіологічного стану поросят в умовах дії стресового фактора 202

Хом'як О.А. Вплив генотипу на показники продуктивності та відтворної здатності у тварин української червоно-рябої молочної породи 203

Жулінська О.С., Смаголь В.М. Оцінка реакції овець різних порід на стимуляцію поліовуляції 204

Просяний С.Б., Сірацький Й.З. Динаміка росту матки тільних корів української чорно-рябої молочної породи різних генотипів 206

Ткачук В.П., Сірацький Й.З., Гузєв І.В., Вишневський В.М. Динаміка вікових змін біохімічних показників крові у тварин різних генотипів м'ясної худоби 208

Ставецька Р.В. Тривалість продуктивного використання корів як фактор селекційного та економічного прогресу в молочному скотарстві 210

Любинський О.І. Молочна продуктивність корів різних ліній прикарпатського типу української червоно-рябої молочної породи 212

Дорофєєв Д.Ю. Динаміка біохімічних показників крові корів української червоно-рябої молочної породи у різні періоди тільності 213

Пахолок А.А., Савчук О.В. Порівняльна оцінка молочної продуктивності і відтворної здатності корів української чорно-рябої молочної і датської чорно-рябої порід 215

Москалюк Б.В. Продуктивні якості корів прикарпатського типу української червоно-рябої молочної породи 216

Шевченко О.Б. Залежність інтенсивності росту, активності гуморальних факторів природної резистентності і здоров'я свиней від мікроклімату приміщень 218

Коваленко Б.П. Новий заводський тип свиней великої білої породи 219

Гетя А.А. Продуктивність молодняку свиней полтавської м'ясної породи, отриманого від гетерогенного підбору батьківських форм 221

Цуп В.І., Тихонова Б.Є., Ящук Т.С., Жукорський О.М. Характер та особливості успадкування основних селекційних ознак коровами української червоно-рябої породи 222

Цуп В.І., Жукорський О.М., Ящук Т.С., Тихонова Б.Є. Ефективність використання бугаїв-плідників різної селекції при удосконаленні української червоно-рябої породи 225

Жукорський О.М., Гець Н.В., Тихонова Б.Є., Демчук Н.М. Ефективність використання бугаїв м' ясних порід української селекції у промисловому схрещуванні 227

Цуп В.І., Власюк М.С., Скалюк І.М. Завдання і перспективи створення нової породи коней в Україні 229

Яценко Л.І. Протеїнове живлення і продуктивність свиноматок 231

НАУКОВЕ ВИДАННЯ

РОЗВЕДЕННЯ І ГЕНЕТИКА ТВАРИН

Міжвідомчий тематичний науковий збірник

Заснований у 1971 р.

Випуск 34

Редактори *С.Д. Шевченко, Т.В. Пономарьова*
Коректори *Л.П.Захарченко, В.Л. Кечко*
Технічний редактор *М.П. Остапенко*
Комп'ютерна верстка *Л.О. Новицької*

Підписано до друку 03.04.2001р.
Формат 60×84 1/16. Папір офс. Гарнітура "Таймс". Друк офс.
Ум. друк. арк. 13,9. Обл.-вид. арк. 11,7.
Наклад 300 прим. Зам. № 1-68.

Видавництво "Аграрна наука"
Свідоцтво про державну реєстрацію
№ 0099-6447 від 15.12.93
03022, Київ, вул. Васильківська, 37

ВАТ «Книжкова друкарня наукової книги».
Київ, вул. Богговутівська, 17–21.