ОЦІНКА ЖИТТЄЗДАТНОСТІ ЯЙЦЕКЛІТИН І ЗАРОДКІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН

Б. М. ВЕЛЬМОЖНИЙ, М. Т. ПЛІШКО, Г. Г. ПОГРІБНИЙ, кандидати біологічних наук

Український науково-дослідний інститут розведення і штучного осіменіння великої рогатої худоби

При розробці та впровадженні у виробничу практику методів одержання і пересадки яйцеклітин та зародків сільськогосподарських тварин виникла необхідність об'єктивно оцінити їх якість і життєздатність.

Літературні відомості про методи оцінки якості яйцеклітин та зародків грунтуються на вивченні морфологічних змін структури (Moor, Bilton, 1973) та зміни фізико-хімічних властивостей оболонок і різній проникності й абсорбції деяких барвників (Н. А. Мартиненко, 1965).

Проте морфологічні зміни проявляються пізніше функціональних порушень, а диференційоване фарбування, яке грунтується на явищі паранекрозу, хоч і дозволяє визначити живі й мертві клітини, проте саме по собі прискорює відмирання цих об'єктів і не дає змоги використовувати їх дальше з біологічною метою. Ми спробували застосувати для оцінки якості яйцеклітин та зародків метод люмінесцентного аналізу і метод визначення мембранних біопотенціалів.

Люмінесценцію проводили на мікроскопі МЛ-2 із світлофільтрами ФС-1 і ЖС-18-05. Робочі розчини акридинового оранжевого готували на однопроцентному розчині хлористого натрію в розведеннях 1 : 1000 — 1 : 10 000.

Біопотенціали вимірювали скляними мікроелектродами за методом П. Г. Костюка (1960) разом із співробітниками лабораторії нейрофізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР на установці, що складається з мікроманіпулятора ММ-1, спеціальної термостатованої камери для об'єктів, електростимулятора ЕСУ-0,1, підсилювача постійного струму УПТ-2, осцилографа С-1-8 з фоторегістратором ФОР-2 і катодним повторювачем.

Для дослідження використали фолікулярні й трубні яйцеклітини, а також зародки на різних стадіях дроблення, вимиті з яйцеводів чи рогів матки забитих кролиць, свиноматок і корів. Вимивали, зберігали, культивували та оцінювали статеві клітини в середовищі 199. Досліджували свіжоодержані яйцеклітини та зародки і збережені при різних температурах (5, 22 і 38°). Контролем були яйцеклітини чи зародки, попередньо убиті багаторазовим заморожуванням у рідкому азоті та відтаюванням у водяній бані при температурі 38°. Всього використали 30 яйцеклітин і зародків кролів, 20 — свиней і 10 — великої рогатої худоби.

В розчині акридинового оранжевого (інші доступні нам барвники виявились гіршими) живі об'єкти люмінесціювали яскраво-зеленим кольором, мертві — різними відтінками червоного кольору. Оптимальним ступенем розведення акридинового оранжевого було розведення 1 : 3000 — 1 : 4000 при співвідношенні об'єму робочого розчину барвника до об'єму середовища з яйцеклітиною чи зародком 1 : 1.

При збільшенні концентрації барвника живі й мертві яйцеклітини та зародки люмінесціювали червоним кольором, і чим вища концентрація барвника, тим темніший був відтінок. При низькій концентрації барвника всі досліджувані об'єкти люмінесціювали різними відтінками зеленого кольору. В обох випадках неможливо було диференціювати живі та мертві клітини. Оптимальна експозиція ультрафіолетового збудження люмінесценції не перевищувала 2 *хв*, при подовженні експозиції змінювались яскравість і колір світіння, згладжувались відмінності в люмінесценції живих та мертвих об'єктів.

Таким чином, люмінесцентний аналіз дає змогу диференціювати живі і мертві яйцеклітини та зародки. Проте зазначені об'єкти можна досліджувати цим методом тільки один раз, оскільки барвник міцно з'єднується із структурними компонентами та протоплазмою клітин і, незважаючи на відмивання, при повторному дослідженні спотворює картину люмінесценції — всі яйцеклітини і зародки світяться червоним кольором. Крім того, акридиновий оранжевий в оптимальній концентрації, а також ультрафіолетові промені під час збудження люмінесценції значно прискорюють загибель яйцеклітин і зародків. Про це свідчить припинення дроблення бластомерів при наступному культивуванні таких зародків. Негативну дію цих факторів на біологічні об'єкти підтверджують додаткові досліди на спермі бугаїв та кнурів. Отже, люмінесцентний аналіз не може послужити основою для розробки методу оцінки якості яйцеклітини чи зародків з наступною їх трансплантацією тваринам-реципієнтам. Орієнтуватись при трансплантації на якість одного лише зародка із всієї групи зародків, одержаних від донора внаслідок поліовуляції, не можна тому, що всі вони надто різні (О. В. Квасницький, 1950).

Більш перспективним виявився метод визначення біопотенціалів. Для вивчення впливу на життєздатність клітин введення в протоплазму скляних мікроелектродів ми провели попередні досліди на 20 зародках кролів. Встановили, що п'ятикратне введення мікроелектродів з діаметром кінчика не більше 2,5 *мк* з інтервалом 10—15 *хв* не впливає на величину потенціалу спокою і на швидкість дроблення бластомерів при дальшому культивуванні. Використання товщих мікроелектродів, їх перебування всередині досліджуваного об'єкта більше 3—4 *хв*, а також введення їх більше п'яти разів знижує рівень потенціалу спокою і порушує ритм дроблення бластомерів до повної зупинки.

Встановлено, що мембранний потенціал спокою у живих свіжоодержаних яйцеклітинах дорівнює в середньому 15 мВ при температурі рідини, в якій перебуває яйцеклітина в камері 35°. В окремих клітинах цей показник змінювався від 10 до 25 мВ.

У зародків на різних стадіях дроблення (4—12 бластомері потенціал спокою дорівнював у середньому 30 мВ при зміні в 20 до 40 мВ. При цьому відмічена тенденція до підвищення п тенціалу спокою при збільшенні кількості бластомерів. У мертв яйцеклітин і зародків потенціал спокою був відсутній або перевищував 5 мВ.

Живі яйцеклітини і зародки на подразнення прямокутним і пульсом постійного струму тривалістю від 1 до 5 *мс* і силою н пруги 3—5.10⁻⁹А відповідали виникненням потенціалу дії різн тривалості і величини. В середньому у яйцеклітин він дорівнюв 30 мВ, у зародків — 40 мВ. Мертві об'єкти на електростимуляці не реагували.

Після 2—3-годинного зберігання яйцеклітин та зародків п кімнатній температурі порівняно із свіжоодержаними об'єкта мембранний потенціал спокою і дії після повторного введен мікроелектродів та застосування електростимуляції знижуваєт не більш, як на 5—10 *мВ*.

Таким чином, вимірювання мембранних біопотенціалів споко і дії може стати основою для дальшої розробки об'єктивного м тоду оцінки якості і життєздатності яйцеклітин та зародків п трансплантації їх у сільськогосподарських тварин.

ЛІТЕРАТУРА

Квасницкий В. В. Новое в физиологии размножения животных. К., Го сельхозиздат, 1950.

Костюк П. Г. Микроэлектродная техника. К., Изд-во АН УССР, 1960.

Мартиненко Н. А. Метод визначення живих та мертвих яйцеклітин. «Фізіологічний журнал», 1965, т. 11, № 4.

Moor N. W., Bilton R. L. The storage of fertilized sheep ova at 5° «Austral J. Biol. Sci», 1973, 26, № 6.

ВІДТВОРЮВАЛЬНА ЗДАТНІСТЬ ПРИ ВІТАМІНІЗАЦІЇ КОРІВ У СУХОСТІЙНИЙ ПЕРІОД

Г. С. ШАРАПА, О. І. ПАНТЮХОВА, кандидати біологічних наук

Д. Б. ФЕДОРОВА, науковий співробітник

Л. З. ДРОЗДОВА, ветлікар

Український науково-дослідний інститут розведення і штучного осіменіння великої рогатої худоби

Нестача вітаміну А в раціонах корів негативно впливає н процеси післяродового оновлення маточних структур і навіть н імунні зв'язки організму (В. К. Милованов і І. І. Соколовська 1975). В зимово-весняний період потреба тварин у таких вітамі нах, як А, D, Е, тільки спожитим кормом не задовольняється Найбільш відчутна нестача каротину, оскільки внаслідок трива

го, а нерідко й поганого зберігання кормів його втрати станов ть 70—80%.

За даними К. Д. Валюшкіна (1969), В. С. Шипілова (1970— 72), В. В. Жаркіна і А. Ф. Трофимова (1973) та ін., а також за ними наших практичних спостережень і результатами аналізу и недоодержанні необхідної кількості вітамінів в умовах статнього загального рівня годівлі тварин порушуються відтво овальні функції, хоча вгодованість і продуктивність корів май е не змінюються. Через це часто утруднюються роди, затри ується послід, настає ембріональна смертність, знижується плідненість та порушується статевий цикл корів.

Наукових та виробничих дослідів щодо впливу вітамінізації рів у сухостійний період на їх відтворювальну здатність після лення проведено дуже мало, особливо із застосуванням комп ексного вітамінного препарату тривітаміну (тривіт).

Ми вивчали вплив вітамінізації корів у сухостійний період на відтворювальну здатність.

Методика досліджень. У зимово-весняний період 1974/75 р. до іди провели на 420 коровах симентальської і чорно-рябої порід слідного господарства «Терезине» в основному 3—8-річного ку при живій масі 500—600 *кг*. Середній надій на корову за по ередню лактацію становив 4700 *кг*. Годували тварин за норма ми ВІТ. Для проведення дослідів у 1974 р. за принципом анало в виділили контрольну (110 голів) і дослідні (II, III і IV — 42 голови) групи корів.

Тваринам II групи тривітамін вводили по 1 *мл* на 100 *кг* живої аси з таким розрахунком, щоб корова в сухостійний період одер ала 200—400 тис. од. вітаміну А, як передбачено інструкцією. варини III групи одержували по 500—700, а IV — по 800 тис.— млн. од. вітаміну А в комплексі з вітамінами D і Е, введених айже в рівних дозах всім піддослідним коровам з урахуванням їх ивої маси. Препарат вводили внутрішньом'язово за 1—1,5 міся я до отелення тричі через 5—7 днів.

Перед початком і під час дослідів вибірково від корів брали ров для дослідження на вміст каротину, кальцію, фосфору та езервну лужність.

У 1975 р. провели аналогічний дослід на 168 коровах з вико истанням комплексного вітамінного препарату тривіту. Тварина ми I (85 голів) і II (36 голів) груп тривіт вводили двічі по 5 *мл*, III (47 голів) тричі через 5—7 днів. Отже, корови II групи в су остійний період одержували додатково по 300 тис. од. вітамі ну А, 400 тис. од. вітаміну D_3 і по 200 *мг* вітаміну Е, а корови III групи — відповідно по 450, 600 тис. од. і 300 *мг*.

При проведенні дослідів враховували перебіг родів, тривалість післяродового періоду, стан телят при народженні та протягом місяців після народження, тривалість сервіс-періоду, заплідне ість корів тощо.

Результати досліджень. Слід зазначити, що в господарських мовах під кінець зимового періоду в організмі сухостійних корів