

Висновок. Таким чином, корови-рекордистки української чорно-рябої молочної породи характеризуються задовільною відтворною функцією. Більше 50% оцінених корів поєднують високі надої і мають сервіс-період до 90 днів.

Бібліографічний список

- 1.Бахнер Д. Может ли быть унаследована высокая плодовитость у крупного рогатого скота?//Сельское хозяйство за рубежом.– 1961.- №9.– С.8-9.
- 2.Білошицький В.М., Камінська Г.А. Селекція корів на плодючість // Молочно-м'ясне скотарство. – К.: Урожай, 1991. – Вип. 78. – С. 21-24.
- 3.Буркат В.П. Теорія, методологія і практика селекції. – К.: БМТ, 1999. – 376 с.
- 4.Васильев Р.П., Долгоброд Н.А. Выведение и племенное использование высокопродуктивных коров. – К.: Урожай, 1981. – 143 с.
- 5.Вінничук Д.Т. Інтенсивне відтворення молочного стада. – К.: Урожай, 1974. – С. 68-82.
- 6.Гавриленко Н.С., Шарапа Г.С. Повышение воспроизводительной способности коров // Зоотехния. – 1990. - №1. – С. 77-79.
- 7.Завертяев Б.П. Селекция коров на плодовитость.– Л.: Колос, 1979. – 207с.
- 8.Плохинский Н.А. Биометрия. – М.: 1974. – 320 с.

Изложены результаты исследований молочной продуктивности и воспроизводительной способности коров-рекордисток украинской черно-пестрой молочной породы.

Results of researches of dairy efficiency and reproductive ability of cows-champions Ukrainian black - motley dairy breeds are races.

УДК 636.2:578.083

ВПЛИВ ДОДАВАННЯ ФСТ ТА БСА НА РОЗВИТОК ЗАРОДКІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ ПОЗА ОРГАНІЗМОМ

С.І.Ковтун

Інститут розведення і генетики тварин УААН

Обговорюється ефективність використання фетальної сироватки теляти та бичачого сироваткового альбуміну в середовищі культивування in vitro для одержання зародків великої рогатої худоби поза організмом

**велика рогата худоба, ооцит, ембріон, ФСТ, БСА,
культивування in vitro**

Встановлено, що на ефективність культивування зародків ссавців поза організмом впливає час переходу від материнського до ембріонального контролю розвитку [1]. Доведено, що у мишей активація ембріонального геному відбувається на 2-клітинній стадії, у свиней - на 4-клітинній, у овець, кролів та великої рогатої худоби - на 8-16-клітинній стадії. З того

часу, як було показано, що доїмплантаційні ембріони овець здатні розвиватись до бластоцисти при співкультивуванні із епітеліальними клітинами яйцепроводів овець [2], співкультивування є найбільш поширеною системою для розвитку ембріонів великої рогатої худоби *in vitro*. Для отримання бластоцист великої рогатої худоби *in vitro* використовуються дві системи культивування – співкультивування із соматичними клітинами (або кондичійоване з цими клітинами середовище) і середовища з відомим або майже повністю відомим складом. Для подолання зародками блоку дроблення в культурі необхідна наявність в середовищі культивування біологічно активних (ембріотрофних) факторів.

До складу середовищ для культивування ранніх зародків великої рогатої худоби повинні входити енергетичні компоненти (піруват, лактат, глюкоза) і джерела білка. Як джерело білка для доїмплантаційних зародків частіше використовують сироватку (найчастіше фетальну сироватку теляти – ФСТ) і бичачий сироватковий альбумін (БСА). Сироватка містить гормони, фактори росту, вітаміни, хелатуючі сполучення (які зв'язують іони важких металів), пептиди, білки [3]. Виявлено, що ФСТ підтримує розвиток *in vitro* ембріонів не лише великої рогатої худоби, але й зародків гетерологічного виду, зокрема свиней та овець (до стадії пізньої морули) [4]. БСА також може містити пептиди, енергетичні субстрати і фактори росту і позитивно впливати на розвиток зародків внаслідок високої спроможності до зв'язування лігандів [5]. Хоча сироватка прискорює розвиток при її додаванні на початку компактизації і сприяє підвищенню частоти формування бластоцист, результатом її додання є бластоцисти гіршої якості із збільшеним діаметром і меншою кількістю клітин [6]; бластоцисти, отримані в безсироватковому середовищі, мають кращу морфологію, більш звичайні розміри і форму, ніж бластоцисти, отримані при культивуванні в присутності сироватки [7].

Комерційне застосування методу IVF обмежується тим, що після пересадки отриманих поза організмом бластоцист спостерігається більш висока частота абортів і важких отелень, продовжується тривалість тільності. Крім того, показано, що отримані телята менш життєздатні, незважаючи на їхню більш високу вагу, у них спостерігаються серцеві порушення, проблеми з кінцівками і суглобами, внутрішні органи великого розміру, дисплазія мозочка, що є показником незбалансованого розвитку, який проходив за 9 місяців тільності [8].

Матеріал і методика досліджень. Незрілі ооцити корів, одержані з яєчників забитих тварин на м'ясокомбінаті, дозрівали *in vitro* на протязі 24 годин при 38,8⁰C і 4% CO₂ в повітрі у середовищі 199 з 20% еструсної сироватки крові корів і 3-5 x 10⁶/мл клітин гранульози. Запліднення проводили в краплях середовища TALP-IVF капацитованими сперматозоїдами бугаїв на протязі 18 год. Ми вивчали ефективність культивування ембріонів великої рогатої худоби *in vitro* на моношарі епітеліальних клітин яйцепроводів корів у середовищі 199 з 10% виготовленої нами ФСТ (І група), з

БСА (3 мг/мл) (II група) або без ФСТ та БСА (III група).

Результати досліджень. Нами встановлено відсутність вірогідної різниці за частотою дроблення – 52,3% (45/86) проти 53,8% (49/82), розвитку до стадії 12-16 клітин – 16,3% (14/86) проти 20,7% (17/82) і до морули-бластоцисти – 11,6% (10/86) проти 10,9% (9/82) при використанні середовища 199 з БСА порівняно із середовищем без добавок (рис.1).

Використання ФСТ при культивуванні ембріонів дало можливість одержати вірогідно вищий рівень дроблення зигот порівняно із додаванням БСА (72,0% (59/82) проти 52,3% відповідно, $P < 0,05$). Хоча показник дроблення зигот був значно вищий при використанні ФСТ порівняно із середовищем 199 без добавок (72,0% проти 53,8% відповідно), вірогідною ця різниця не була. Розвиток ембріонів великої рогатої худоби *in vitro* до стадії 12-16-клітин та морули-бластоцисти також був вищим при використанні ФСТ (24,4 та 13,4% відповідно), але суттєво не відрізнявся від цих показників, коли зародки культивували в середовищі 199 з БСА або без ФСТ та БСА.

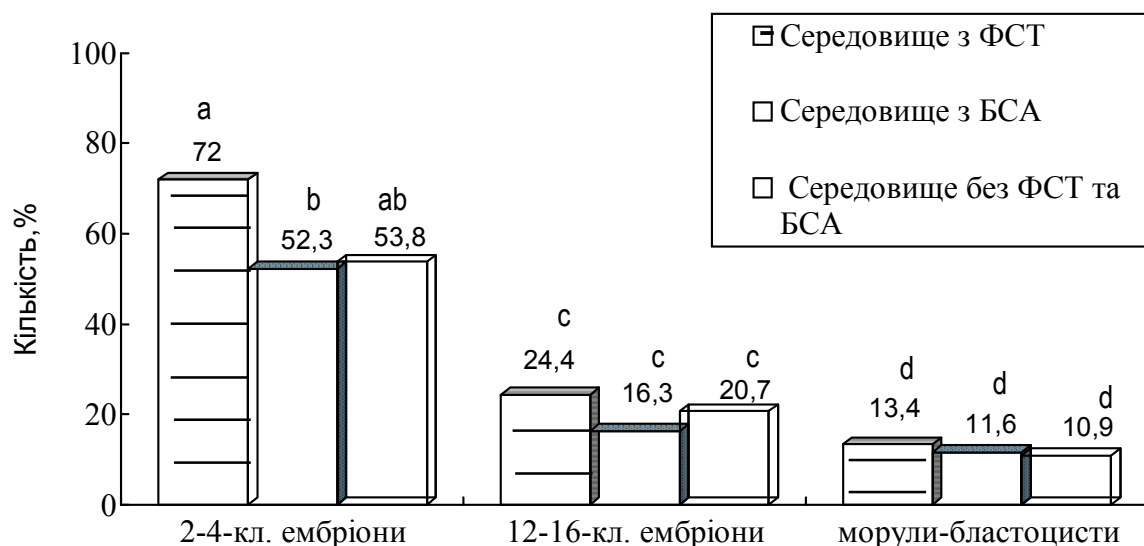


Рис.1. Порівняльний розвиток зародків великої рогатої худоби *in vitro* в середовищі з ФСТ, з БСА або без ФСТ та БСА. a:b - $P < 0,05$, критерій χ^2

Результати наших експериментів показали, що хоча сироватка крові та БСА містять необхідні речовини для розвитку зародків поза організмом (гормони, фактори росту, білки, пептиди, хелатуючі речовини), а також проявляють захисну дію проти токсичних речовин, культивування ембріонів великої рогатої худоби поза організмом на моношарі епітеліальних клітин яйцепроводів можна успішно проводити в середовищі 199 без ФСТ та БСА.

Одержання нами морул-бластоцист великої рогатої худоби *in vitro* в середовищі без ФСТ та БСА свідчить про те, що моношар ЕКЯК забезпечує необхідні умови для успішного розвитку ембріонів поза організмом і він є ефективною системою співкультивування. Поряд з цим, використання виготовленої нами ФСТ дало можливість одержати найвищий рівень дроб-

лення зигот та розвитку їх до стадії морули-бластоцисти *in vitro*, однак ці дані не узгоджуються із дослідженнями Дж.Лім та ін. [9], згідно з якими сироватка сприяє формуванню бластоцист, при цьому вона пригнічує початкові ділення дроблення.

Аналіз цитогенетичних препаратів зародків великої рогатої худоби, одержаних *in vitro*, на різних стадіях розвитку (від стадії двох бластомерів до стадії бластоцисти) показав, що ембріони, які прижиттєво були оцінені як морфологічно нормальні (n=380, перша група), містили лише морфологічно нормальні ядра із ядерцями, кількість яких відповідала кількості клітин в ембріонах, при цьому структура хроматину ядер відповідала стадії розвитку зародка (ранні чи пізні).

У зародків (n=82, друга група), які були оцінені візуально як дегенеровані (лізис та руйнування бластомерів, виражене нерівномірне дроблення бластомерів, порушення зв'язків між бластомерами, відсутність вираженого бластоцелю та диференціювання клітин трофектодерми та внутрішньої клітинної маси) всі ядра або переважна їх частина були пікнотичними. Такі ядра характеризувалися ущільненим хроматином, який зливався в темну гомогенну масу з різким зменшенням розміру, а також відсутністю ядерця. Зародки (n=14, третя група), які за прижиттєвими морфологічними характеристиками мали незначні ознаки дегенерації, тобто відставання у розвитку одного бластомера, лізис окремих бластомерів, поряд із морфологічно нормальними ядрами мали пікнотичні ядра, хоча кількість останніх була менше 50%. У середньому наявність пікнотичних ядер у таких зародків у наших дослідах була на рівні 30,7% (73/238), при цьому спостерігалось значне відхилення кількості пікнотичних (дегенерованих) ядер в окремих зародках від умовного середнього показника (від 6,7% до 40% ядер).

На нашу думку, наявність у зародків третьої групи частини пікнотичних ядер (певне значення має їх кількість) не є достатнім показником для висновків щодо життєздатності ембріонів (розвиток таких зародків може припинитися після трансплантації реципієнтам або продовжуватись внаслідок розвитку інтактних бластомерів).

Висновки. Культивування зародків великої рогатої худоби *in vitro* на моношарі клітин яйцепроводу корови можна здійснювати у середовищі 199 без фетальної сироватки теляти та бичачого сироваткового альбуміну. Між прижиттєвими цитоморфологічними характеристиками зародків, отриманих *in vitro*, та станом хроматину ядер існує чітко виражений взаємозв'язок.

Бібліографічний список

1. Конюхов Б.В. Клонирование позвоночных: успехи и проблемы // Генетика. - 1997. - Т.33, N 12. - С.1605-1620.
2. Gandolfi F., Moor R.M. Stimulation of early embryonic development in sheep by co-culture with oviduct epithelial cells // J.Reprod.Fertil.-1987.-81.- P.23.28.
3. Katska L. Hodowla zarodkow ssakow *in vitro* // Med.Wet. - 1996. - 11. - P.6
4. Лобачева И.В. Использование эстральной сыворотки крови для культивирования *in vitro* ооцитов животных гетерологических видов // Міжнарод.

ук.-вироб.конф. "Використання трансплантації ембріонів в селекції і відтворенні сільськогосподарських тварин" - К., Асканія-Нова, 1997. - С.40-41.

5.Takahashi Y., First N. L. *In vitro* development of bovine one-cell embryos: influence of glucose, lactate, pyruvate, amino acids and vitamin //Theriogenology. - 1992. - 37. - P. 963-978.

6.Shamsuddin M., Larsson B., Gustafsson H., Rodriguez-Martinez H. A serum-free, cell-free culture system for development of bovine one-cell embryos up to blastocyst stage with improved viability //Theriogenology.-1994.- 41.- P. 1033-1043

7.Mermillod P., Vansteenbrugge A., Wils C., Mourmeaux J.-L., Massip A., Dessy F. Characterisation of the embryotrophic activity of exogenous protein-free oviduct-conditioned medium used in culture of cattle embryos //Biol.Reprod. - 1993. - 49. - P.582-587.

8.Kruij T. A. M., Daas J. H. G. *In vitro* produced and cloned embryos: effects on pregnancy, parturition and offspring //Theriogenology. - 1997. - 47, 1. - P. 43-52.

9.Lim J.M., Okitsu O., Okuda K., Niwa K. Effects of fetal calf serum in culture medium on development of bovine oocytes matured and fertilised *in vitro* //Theriogenology. - 1994. - 41. - P.1091-1098.

Обсуждается эффективность использования фетальной сыворотки теленка и бычьего сывороточного альбумина в среде культивирования in vitro для получения зародышей крупного рогатого скота вне организма.

Efficiency of use fetal bovine serum and bovine serum albumin in culture medium in vitro for bovine embryos in vitro production have being discussed.

УДК 636.2.084:591.134

КРИТЕРІЙ КОМПЕНСАТОРНОГО РОСТУ ТВАРИН І ЙОГО АПРОБАЦІЯ

Є.С.Кутіков

Інститут тваринництва УААН

С.Б.Ковтун

Харківське головне управління сільського господарства і продовольства

Розроблено критерій компенсаторного росту. Ріст тлумачиться як компенсаторний лише у тому випадку, коли у відповідь на підвищення рівня годівлі виконується наступна умова: ефективність перетворення в чисту енергію продуктивності доступної для обміну енергії корму, що йде на продуктивний обмін, виявляється більшою, ніж у тварин, які постійно знаходяться на підвищеному рівні живлення.

компенсаторний ріст, ефективність використання доступної для обміну енергії, критерій, годівля, велика рогата худоба

Онтофізіологічний підхід до вирішення суцього виробничих завдань тваринництва, з урахуванням реальних умов ведення галузі, зумовив появу в зоотехнічній науці специфічного терміну компенсаторний ріст (*compensatory growth*). Під компенсаторним ростом прийнято розуміти таке збіль-