

11.Aguilera H.D.N., Gouzalez E.A., Pelaez C.V. Determinacion de las necesidades de lisina en gallinas Leghorn en produccion. Veterinaria // Mexico. – 1990. – Vol. 21, №3. – P.214-283.

12.Ahn D.U.H.H., Sunwoo E.W., Walfe J.S. Effects of α -linoleic acid and stain of hen on the fatty acid composition, storage, stability, and flavor characteristics of chicken eggs // Poultry Science. – 1995. – Vol.74, №5. – P.1540-1542.

Изучено аминокислотный состав грудных мышц перепелов при различных уровнях обменной энергии и сырого протеина в комбикорме. Установлено, что увеличение уровней кормления птицы положительно влияет на биологическую ценность мяса.

It is investigated aminoacid structure of pectoral muscles quails at various levels of exchange energy and a crude protein in mixed fodder. It is established, that the increase of feeding levels of a bird positively influences biological value of meat.

УДК 636.4:591.391.2

КУЛЬТИВУВАННЯ ПОЗА ОРГАНІЗМОМ ООЦИТ-КУМУЛЮСНИХ КОМПЛЕКСІВ СВИНОМАТОК У ГЕТЕРОЛОГІЧНІЙ ФОЛІКУЛЯРНІЙ РІДИНІ

Ю.М.Собко

Інститут розведення і генетики тварин УААН

Проведено порівняльний аналіз використання рідин із фолікулів яєчників вівцематок, корів та кобил для дозрівання in vitro ооцитів свиноматок.

біотехнологія, яєчники, ооцити, фолікулярна рідина, дозрівання поза організмом

Забезпечення населення достатньою кількістю повноцінних продуктів харчування, особливо тваринного походження, залишається однією з найважливіших проблем. Збільшення виробництва м'яса значною мірою залежить від інтенсивного розвитку свинарства, як однієї з найшвидше розвиваючихся, економічно вигідних галузей тваринництва [1]. На сучасному етапі подальший розвиток тваринництва, в тому числі й свинарства, неможливий без інтенсивного відтворення генетично цінних тварин на основі останніх досягнень біотехнології. Необхідною умовою для застосування сучасних біотехнологічних методів у свинарстві є наявність в достатній кількості ооцитів, зигот і ембріонів. Розробка і вирішення проблеми дозрівання ооцит-кумулусних комплексів, запліднення *in vitro* яйцеклітин та раннього ембріонального розвитку дасть змогу отримувати необхідну кількість зародків свиней на різних стадіях їх розвитку та в більш повній мірі використовувати потенційний запас гамет, що закладений в яєчниках [2-5]. І хоча в свинарстві вже одержано тварин, початок розвитку яких відбувався у пробірці [6-7], багато наукових і методичних питань цього біотехнологічного методу залишається невизначеними.

Метою досліджень було вивчення можливості і порівняння використання гетерологічної фолікулярної рідини (з рідини фолікулів овець, корів, кобил) для дозрівання поза організмом ооцитів свиноматок. Гомологічна фолікулярна рідина – природне середовище мешкання ооцита, її широко використовують як базове поживне середовище для культивування гамет самиць сільськогосподарських тварин [8-12]. Застосування гетерологічної замість гомологічної фолікулярної рідини при культивуванні ооцит-кумулюсних комплексів свиноматок було передбачено такими чинниками: по-перше, об'єм рідини з фолікулів інших видів сільськогосподарських тварин, наприклад, корів та кобил, значно більший ніж об'єм рідини з антральних фолікулів свиноматок, що дає змогу досліднику приготувати для свої маніпуляцій більшу кількість культурального середовища; по-друге, не виключено, що гетерологічна фолікулярна рідина порівняно з гомологічною має менший мейозінгібуючий ефект, що, безумовно, буде впливати на результати культивування.

Матеріал і методика. Досліди проводили на фолікулярних ооцитах, одержаних з яєчників свиноматок порід велика біла, ландрас, українська степова біла. Яєчники привозили з м'ясокомбінату в лабораторію протягом 1,5-2 годин після забою тварин у термосі з фізіологічним розчином (0,9% NaCl) та антибіотиками при температурі +31– +37°C. Ооцит-кумулюсні комплекси видобували з яєчників шляхом надрізу лезом видимих антральних фолікулів.

Фолікулярну рідину отримували пункцією антральних фолікулів (d=9-12 мм), двічі центрифугували (3000 об./хв., 10 хв.) та фільтрували через фільтри "Millipore" з діаметром пор 0,45 і 0,22 мкм.

Перед постановкою на культивування ооцит-кумулюсні комплекси візуально оцінювали за морфологічними ознаками. Процедuru дозрівання яйцеклітин проводили у накритих вазеліновим маслом краплях об'ємом 200 мкл на 10 клітин при температурі +38,5°C та 5% CO₂ у повітрі.

З метою оцінки стадій мейотичного дозрівання поза організмом ооцитів свиноматок та виявлення у них хромосомних порушень, гамети, що були поставлені на культивування, підлягали цитогенетичному аналізу за методом Tarowski A.K., їх забарвлювали 10% розчином Гімза та аналізували під мікроскопом.

Результати досліджень. В експериментальних дослідженнях з культивування поза організмом гамет свиноматок використовували фолікулярну рідину з яєчників вівцематок, корів і кобил (таблиця).

Через 45 годин культивування гамет свиноматок у рідині з фолікулів вівцематок показник дозрівання поза організмом до метафази-2 в дослідній (Д1) і контрольній (К1) групах (контролем було культивування ооцит-кумулюсних комплексів свиноматок у гомологічній фолікулярній рідині) відповідно становив 36,7 і 52,9%. Кількість клітин з дегенерацією (порушенням) хромосомного матеріалу в дослідній групі була на рівні контрольної (22,4% проти 20,6%). Слід надати увагу і тому факту, що показник загальної кількості гамет свиноматок у дослідній групі (40,9%), що не досягли стадії метафази-2 мейозу (хоча їх хромосомний апарат був без ушкоджень), переважав аналогічний показник у клітин з контрольної групи (26,5%), мабуть

за рахунок більш сильного мейозінгібуючого ефекту гетерологічної фолікулярної рідини (вівцематок) порівняно з гомологічною.

Дозрівання ооцитів свиноматок у рідині з фолікулів вівцематок, корів, кобил

Варіанти дослідів	Кількість прокультивованих клітин	Термін культивування, год.	Кількість клітин:									
			на дипло-тені		на діакі-незі + метафазі-1		на ана-фазі + телофазі		на метафазі-2		з дегенерацією хромосом	
			n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Д1	49	45	1	2,1	12	24,5	7	14,3	18	36,7 ^a	11	22,4
К1	34	45	-	-	4	11,8	5	14,7	18	52,9 ^b	7	20,6
Д2	157	45	-	-	38	24,2	21	13,4	65	41,4 ^a	33	21,0
К2	72	45	-	-	7	9,7	9	12,5	42	58,3 ^{bc}	14	19,5
Д3	68	45	1	1,5	9	13,2	5	7,4	41	60,3 ^{bc}	12	17,6
К3	42	45	-	-	5	11,9	3	7,2	26	61,9 ^{bc}	8	19,0

Примітка. a : b – P < 0,05; a : c – P < 0,01.

Подібний ефект спостерігали і в експериментах з використанням рідини з фолікулів корів, при дозріванні поза організмом ооцитів свиноматок. Вихід метафаз-2 після 45-годинного культивування гамет свиноматок був вищий у контрольній групі (К2) – 58,3% порівняно з дослідною (Д2) – 41,4%, і в свою чергу в дослідній групі (Д2) спостерігали більшу кількість (37,6%) клітин без хромосомних порушень, але які ще знаходяться на шляху до мейотичного дозрівання (22,2%). Рівень хромосомних порушень клітин в групах К2; Д2, в яких використовували гомологічну і гетерологічну фолікулярну рідину корів, становив відповідно 19,5 і 21,0%.

Встановлено, що результати дозрівання поза організмом ооцитів свиноматок у рідині фолікулів кобил суттєво відрізняються від результатів досліджень, в яких на етапі дозрівання використовували рідину з фолікулів корів або вівцематок. Показники дозрівання поза організмом гамет свиноматок до метафазі-2 мейозу (60,3%), та кількості клітин з дегенерацією хромосомного матеріалу (17,6%) не поступаються аналогічним показникам (відповідно 61,9; 19,0%) при культивуванні ооцит-кумулясних комплексів свиноматок у гомологічній (К3) фолікулярній рідині.

Висновок. Встановлена принципова можливість використання гетерологічної фолікулярної рідини (вівцематок, корів, кобил) як базового культурального середовища для дозрівання поза організмом ооцитів свиноматок. Порівняльний аналіз трьох видів гетерологічної фолікулярної рідини свідчить, що рідина з фолікулів кобил більш придатна як базове культуральне середовище для дозрівання поза організмом в ній протягом 45 годин гамет свиноматок порівняно з рідиною з фолікулів корів та вівцематок.

Бібліографічний список

1. Рыбалко В. Пути возрождения отрасли свиноводства на Украине //Свиноводство.- 1999.- № 1.- С.2-5.

2. Current status of IVM/IVF and embryo culture in humans and farm animals /A.Trounson, D.Pushett, L.J.McLellan et all. Theriogenology,1994, V.41, N 5, p.57-67.

3.Мельничук Д.О., Гузеватий О.Є. Перспективи біотехнології у тваринництві //Вісник аграрної науки. – 2002. – № 12. – С. 5-11.

4. Abeydeera L.R. In vitro production of embryos in swine. Theriogenology, 2002, V. 57, I.1, p. 257–273.

5. Effect of the volume of medium and number of oocytes during in vitro fertilization embryo development in pigs / Gil M.A., Abeydeera L.R, Day B.N. et all. Theriogenology, 2003, V. 60, I.4, p. 767–776.

6. Birth of piglet derived from in vitro fertilization of pig oocytes matured in vitro/ M.Yoshida, Y.Mizoguchi, K.Ishigaki et all. Theriogenology, 1993, V.39, p.1309-1311.

7. Presense of epidermal growth factor during in vitro maturation of pig oocytes and embryo culture can modulate blastocyst development after in vitro fertilization /L.R.Abeydeera, W.H.Wang, T.C.Cantley et all. Mol. Reprod. and Dev, 1998, V.51, N 4, p.395-401.

8. Origin of the follicular fluid added to the media during bovine IVM influences embrionic development / Sirard M.A., Roy F., Patrick B. et all. Theriogenology, 1995, V. 44, I.1, P. 85–94.

9. Гузеватий О.Є., Собко Ю.М., Гончарук О.П. Некоторые особенности созревания и оплодотворения in vitro ооцит-кумусных комплексов свиноматок //Актуальные проблемы биологии в животноводстве.– Боровск, 2000.– С.392 – 394.

10. Pure preovulatory follicular fluid promotes in vitro maturation of in vivo aspirated equine oocytes / Bogh I.B., Bezard J., Duchamp G. et all. // Theriogenology. – 2002. – V. 57. – I.7. – p. 1765 –1779.

11. Гузеватий О.Є., Ткаченко С.В. Застосування фолікулярної рідини для in vitro отримання зародків великої рогатої худоби // Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. –2001.–Вип. 1.-С. 78–80.

12. In vitro maturation of bovine cumulus-oocyte complexes in undiluted follicular fluid: effect on nuclear maturation, pronucleus formation and embryo development / Avery B., Strobech L., Jacobsen T. et all. Theriogenology, 2003, V. 59, I.3-4, p. 987 –999.

Проведен сравнительный анализ использования жидкости из фолликулов яичников овцематок, коров и кобыл для созревания in vitro ооцитов свиноматок

Comporative analysis of maturation in vitro porcine oocyte for use fluid from follicles ovaries of ovine, bovine and mares.