Література

1. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 237 с.
2. Береза И. Г. Сокращеные потерь и повышение качества мяса сельськохозяйственных животных. – К.: Урожай, 1991. – 272 с.
3. Вплив хелатних сполук мікроелементів на продуктивність великої рогатої худоби та біологічну і харчову цінність їх продукції // Кравців Р. Й., Осередчук Р. С., Біленчук Р. В., Ключковська М. В., Герич В. В., Сенечин В. В. / Сільський господар. – 2001. – № 11–12. – С. 1–3.
4. Кальницкий Б. Д. Минеральные вещества в кормлении животных. – Л.: Агропромиздат, 1985. – 207 с.
5. Кравців Р. Й. Біологічно активні речовини (БАР) в профілактиці хвороб та виробництві високоякісних продуктів тваринництва // Зб. матер. міжн. науково-практ. конф. – Харків, 1997. – С. 29.
6. Милованов М. Н., Милованов В. М. Влияние микроэлементов на рост, развитие и показатели крови при откорме бычков // Тр. Горьковского СХИ. – 1980. – Т. 149. – С. 30–37.
7. Остап'юк Ю. І. Деякі показники м'ясних якостей відгодівельних бичків під дією мікроелементів і вітаміну Е. // XIV з'їзд Українського фізіологічного товариства: Тези доповідей. – Київ, 1994. – С. 24.
8. Ойвин В. А. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований // Патфизиология и эксперим. терапия. – 1960. – № 4. – С. 20–25.

Стаття надійшла до редакції 5.10.2015

УДК 575.16:57.085:591.16:636.4

Остаповець Л. І., к. б. н. (E-mail: ostlara@online.ua) ©
Інститут розведення і генетики тварин імені М.В.Зубця НААН,
с. Чубинське, Бориспільський район, Київська обл.

ВПЛИВ БІОНАНОКОМПОЗИТУ НА ФОРМУВАННЯ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧНИХ ТА ЗИГОТИЧНИХ ЕМБРІОНІВ СВИНЕЙ IN VITRO

У статті представлені результати досліджень щодо можливості застосування високодисперсного кремнезему як добавки в середовище для культивування партеногенетичних та зиготичних ембріонів свиней in vitro. Встановлено, що культивування партеногенетичних та зиготичних ембріонів свиней в середовищі NCSU-23 *з додаванням 0,01% ВДК+БСА позитивно впливає на рівень формування ембріонів на 5–16-клітинній стадії розвитку in vitro.*

Ключові слова: *ооцит, сперматозоїд, in vitro, партеногенетична активація, запліднення, ембріон, високодисперсний кремнезем, свині*

УДК 575.16: 57.085: 591.16: 636.4

Остаповец Л. И., к. б. н.
Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубця НААН,
с. Чубинское, Бориспольский район, Киевская обл.

ВЛИЯНИЕ БИОНАНОКОМПОЗИТА НА ФОРМИРОВАНИЕ ПАРТЕНОГЕНЕТИЧЕСКИХ И ЗИГОТИЧНИХ ЭМБРИОНОВ СВИНЕЙ IN VITRO

В статье представлены результаты исследований о возможности применения высокодисперсного кремнезема в качестве добавки в среду для культивирования партеногенетических и зиготичних эмбрионов свиней in vitro. Установлено, что

© Остаповець Л. І., 2015

культивирование партеногенетических и зиготичних эмбрионов свиней в среде NCSU-23 с добавлением 0,01% БДК + БСА положительно влияет на уровень формирования эмбрионов на 5-16-клеточной стадии развития in vitro.

Ключевые слова: *ооцит, сперматозоид, in vitro, партеногенетическая активация, оплодотворение, эмбрион, высокодисперсный кремнезем, свиньи*

UDC 575.16:57.085:591.16:636.4

Ostapovetz L. I.
Institute of animals breeding and genetics nd. a. M. V. Zubets
v. Chubinsky, Boryspil District, Kyiv Region, Ukraine

EFFECT OF THE BIONANOCOMPOSITES ON THE DEVELOPMENT OF PARTHENOGENETIC AND ZYGOTIC EMBRYOS *IN VITRO*

The high-dispersive silica's were tested as additives into cultural media of parthenogenetic and zygotic embryos porcine in vitro are represented in the article. The cultivation of was established parthenogenetic and zygotic embryos porcine in vitro in media NCSU-23 with supplements of HDS+BSA positively influences produced of embryos on the 5-16-cellular stage of development.

Key words: *oocyte, spermatozoid, in vitro, parthenogenetic activation, fertilization, embryo, high-dispersive silica's, porcine*

Вступ. На теперішній час питання розробки та використання нанотехнологій в науці, медицині, практичній діяльності людини є вельми актуальними та широко обговорюються в науковій спільноті. Використання досягень нанотехнологій в биотехнології призвело появу нового напрямку – нанобіотехнології.

Нанобіотехнологія вивчає вплив наночасток на живі системи, а також розробку способів моделювання та практичного застосування біологічних наноструктур, наноявищ та нанопроцесів в експериментальній біології, медицині, екології, сільському господарстві та інших галузях економіки. Наноструктури – це обєкти, розміри яких знаходяться в діапазоні від 1 до 100 нанометрів. Нанобіотехнологія як напрямок нанотехнології базується на закономірностях будови та механізмах функціонування живих систем молекулярного, субклітинного та клітинного рівнів організації. Одним із напрямків нанобіотехнології є застосування нанотехнологічних прийомів, спрямованих на розвиток та удосконалення біотехнологічних методів.

Одним із різновидів наноматеріалів є високодисперсний кремнезем (ВДК), який являє собою оброблений у спеціальному термічному режимі двоокису кремнію. Велика питома поверхня високо дисперсного кремнезему ($S_{пит.}$ = 300 $м^2$ /г) обумовлена малим розміром її первинних часток (4–40 нм). Ця властивість обумовлює високу адсорбційну здатність ВДК, що дозволяє використовувати його в якості неорганічного носія для іммобілізації багатьох синтетичних та природніх сполук. За фізико-хімічними властивостями високодисперсний кремнезем є не токсичним та біологічно сумісним з живими об'єктами [1]. Завдяки таким властивостям ВДК стає можливим створювати на його основі біологічно активні нанокомпозити для біотехнології. Встановлено, що додавання високодисперсного кремнезему до суспензії клітин (спермії, дріжджі, еритроцити) в достатньо низьких концентраціях сприяло підвищенню їх життєздатності. Проведення іммобілізації на його поверхні деяких біомолекул (вуглеводи, білки та ін.) дозволило створити біологічно активні нанокомпозити, які здатні посилювати цей ефект [1, 3, 6].

Метою роботи було вивчення впливу різних концентрацій біологічно активного нанокомпозиту (ВДК+альбумін сироватки крові великої рогатої худоби) на формування партеногенетичних ембріонів свиней поза організмом та порівняти розвиток партеногенетичних і зиготичних ембріонів *in vitro* за умови додавання нанокомпозиту в середовище для культивування.

Матеріали і методи. Ооцит-кумулюсні комплекси одержували із яєчників забитих свиней великої білої породи. Ооцити дозрівали in vitro в середовищі ТС 199 з додаванням 20% еструсної сироватки крові корів і 3–5x10^6 клітин гранульози/мл (клітини гранульози одержували із фолікулів діаметром 3–4 мм без атретичних змін та з морфологічно нормальним ооцитом). Культивували ооцит-кумулюсні комплекси свиней протягом 45 годин при +38,8°С і 4% CO_2 у повітрі.

Для отримання партеногенетичних ембріонів свиней, дозрілі *in vitro* ооцити свиней підлягали партеногенетичній активації 7%-м розчином етанолу протягом 7 хвилин у середовищі Дюльбеко з додаванням 10% сироватки крові корів. Після проведення активації ооцити свиней культивували в середовищі NCSU-23. Культивування партеногенетично активованих ооцитів свиней та корів проводили при температурі +38,8°С і 4% CO_2 [4].

Для запліднення in vitro використовували еякульовані сперматозоїди кнурів великої білої породи Рухливі сперматозоїди відбирали методом спливання (swim-up) в середовищі TALP без іонів кальцію [5]. Спільну інкубацію дозрілих in vitro ооцитів та відібраних методом swim-up сперматозоїдів проводили протягом 20 годин у модифікованому середовищі Тіроде (TALP) з додаванням 10 μг/мл гепарину, 20 μМ пеніциламіну, 10 μМ гіпотаурину та 1 μМ епінефрину. Відмиті від сперматозоїдів передбачувані зиготи культивували *in vitro* в середовищі NCSU-23.

В дослідженнях був використаний високодисперсний кремнезем вітчизняного виробництва (м. Калуш Івано-Франківської обл.) з іммобілізованим на поверхні альбуміном сироватки крові великої рогатої худоби (БСА) (Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України). Після проведення партеногенетичної активації яйцеклітини свиней ділили на три групи: 1 група – середовище для культивування ембріонів з 0,1 % ВДК+ БСА; 2 група – середовище для культивування ембріонів з 0,01 % ВДК+ БСА; 3 група – середовище для культивування ембріонів (контроль). Після проведення запліднення дозрілих *in vitro* ооцитів свиней ділили на дві групи: 1 група – середовище для культивування ембріонів з 0,01 % ВДК+ БСА; 2 група – середовище для культивування ембріонів (контроль).

Цитогенетичні препарати ооцитів та ядер ембріонів готували за модифікованим нами методом А. К. Тарковського [7]. Препарати фарбували з використанням 2%-го розчину барвника Гімза та аналізували їх під світловим мікроскопом при збільшенні ок.10×, об.100.

Статистичну обробку отриманих даних здійснювали стандартними методами [2] із використанням комп`ютерної програми «Microsoft Excel».

Результати досліджень. З метою удосконалення технології формування ембріонів свиней *in vitro* в системі репродукції сільськогосподарських тварин вивчено вплив різних концентрацій біонанокомпозиту ВДК+БСА на ефективність розвитку партеногенетично активованих ооцитів свиней поза організмом. Аналіз результатів досліджень показує, що в разі додавання ВДК+БСА в 0,01 % та 0,1 % концентрації до середовища культивування партеногенетично активованих яйцеклітин свиней не спостерігали вірогідної різниці за рівнем формування ембріонів та їх розвитку в умовах *in vitro* порівняно з контролем. Вищий рівень

дроблення партеногенетичних ембріонів (42,2 %) спостерігався в разі культивування з 0,01 % ВДК+БСА (табл. 1).

При порівнянні кількості партеногенетичних ембріонів, які залишились на 2-4-клітинній стадії, спостерігалась тенденція до збільшення цього показника у групі в разі використання 0,01 % ВДК+БСА. Проте, рівень подальшого розвитку партеногенетичних ембріонів, був суттєво вищим і становив 21,7 %, порівняно з групою, де проводили культивування таких ембріонів із додаванням 0,1 % ВДК+БСА (9,1 %). Таким чином, більш ефективною в даних дослідженнях виявилась 0,01%-ва концентрація ВДК+БСА – рівень дроблення та розвитку партеногенетично активованих ембріонів був вище на 6,1 % та 6,0 %, порівняно з контролем. В разі додавання 0,1%-ої концентрації ВДК+БСА спостерігали зниження рівня дроблення та розвитку партеногенетично активованих ембріонів на 1,0 % та 11,9 %, порівняно з 0,01%-ою концентрацією.

Таблиця 1

Вплив ВДК+БСА на ефективність формування партеногенетичних ембріонів свиней *in vitro*

Концентрація нанокомпозиту у середовищі, %	Всього ооцитів	Кількість ембріонів на стадії		
		всього, n (%)	2 – 4-клітинній, n (%)	5 – 16-клітинній, n (%)
-	83	25 (30,1)	12 (14,4)	13 (15,7)
0,1	82	24 (29,3)	16 (19,5)	8^a (9,8)
0,01	83	35 (42,2)	17 (20,5)	18^b (21,7)

a:b – $p < 0,05$, критерій χ^2

На основі отриманих результатів із вивчення впливу ВДК+БСА на розвиток партеногенетично активованих дозрілих *in vitro* ооцитів свиней та визначення найбільш оптимальної концентрації біонанокомпозиту було досліджено ефективність розвитку партеногенетичних та зиготичних ембріонів свиней за умови їх культивування із додаванням ВДК+БСА. Після порівняння результатів досліджень 2-х експериментальних варіантів (партеногенетична активація та запліднення *in vitro*) спостерігали тенденцію збільшення загальної кількості сформованих партеногенетичних та зиготичних ембріонів, які культивували з додаванням цього біонанокомпозиту на 8,0 % та 8,3 % (табл. 2). При порівнянні кількості партеногенетичних та зиготичних ембріонів, які залишились на 2-4-клітинній стадії, спостерігалась тенденція до збільшення цього показника у досліді, де проводили партеногенетичну активацію дозрілих поза організмом ооцитів свиней. Проте, рівень подальшого розвитку партеногенетичних та зиготичних ембріонів, був вищим у групах, де проводили культивування таких ембріонів із додаванням нанокомпозиту.

При порівнянні результатів дослідження розвитку партеногенетичних та зиготичних ембріонів свиней отриманих в умовах *in vitro* спостерігалась тенденція до збільшення кількості ембріонів, що зупинили розвиток на 2-4-клітинній стадії, у групі, де проводили партеногенетичну активацію дозрілих поза організмом ооцитів свиней. Проте, рівень подальшого дроблення партеногенетичних та зиготичних ембріонів, був вищим у групах, де проводили культивування таких ембріонів з додаванням нанокомпозиту ВДК+БСА, порівняно із контролем, відповідно 15,65 % проти 10,0 % та 19,3% проти 10,35 %.

Таблиця 2

Вплив біонанокомпозиту ВДК+БСА на ефективність формування партеногенетичних та зиготичних ембріонів свиней *in vitro*

Варіанти досліду	Концентрація ВДК+БСА у середовищі, %	Всього ооцитів	Всього ембріонів, n (%)	Кількість ембріонів на стадії	
				2 – 4-клітинній, n (%)	5 – 16-клітинній, n (%)
Партеногенетична активація	-	30	7 (23,3)	4 (13,3)	3 (10,0)
	0,01	32	10 (31,3)	5 (15,7)	5 (15,7)
Запліднення	-	29	6 (20,7)	3 (10,3)	3 (10,3)
	0,01	31	9 (29,0)	3 (9,7)	6 (19,3)

Висновки. Таким чином, додавання ВДК+БСА в 0,01%-ій концентрації в середовище культивування *in vitro* партеногенетичних та зиготичних ембріонів забезпечувало збільшення загальної кількості сформованих партеногенетичних та зиготичних ембріонів. Доведена перспективність застосування наноматеріалів, які синтезовано на основі високодисперсного кремнезему, для оптимізації середовищ для отримання *in vitro* партеногенетичних та зиготичних ембріонів з метою розробки біотехнологічної системи використання генетичних ресурсів тварин.

Література

1. Биофункциональные наноматериалы на основе высокодисперсного кремнозема, белка и аминоуглеводов / Н. П. Галаган, Н. Ю. Клименко, И. Л. Орел и [др.] // Биополимеры и клетка. – 2010. – Т. 26, № 3. – С. 205–213.

2. Меркурьева Е. К. Генетика с основами биометрии / Е. К. Меркурьева, Г. Н. Шангин-Березовский. – М.: Колос. – 1983. – 400 с.

3. Об использовании высокодисперсных кремноземов в средах для замораживания спермы баранов / Недава В. Е., Смирнова О. И., Журавель М. П. и [др.] // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – № 4. – С. 220–225.

4. Остаповець Л. І. Методичні рекомендації з отримання партеногенетичних ембріонів свиней та корів *in vitro* / Остаповець Л. І., Ковтун С. І. – Чубинське, 2011. – 20 с.

5. Katska L. Instrukcja wdrozeniowa nr 2/93. Produkcja zarodkow bydlecych metodami in vitro / L. Katska, Z. Smorag, B. Rynska. – Krakow, 1993. – 18 s.

6. Medical chemistry and clinical application of dioxide of silicon / Ed. A. A. Chuiko. – Kyiv: Naukova dumka. – 2003. – 415 p.

7. Tarkowski A. K. An air-drying method for chromosome preparation from mouse eggs / A. K. Tarkowski // Cytogenetics. – 1966. – Vol. 5, № 3. – P. 394–400.

Стаття надійшла до редакції 10.09.2015

УДК 637.07

Палій А. П., к. с.-г. н. (E-mail: Andreydk81@mail.ru)©

Харківський національний технічний університет сільського господарства імені Петра Василенка, м. Харків, Україна

ВИЗНАЧЕННЯ КРИТИЧНИХ КОНТРОЛЬНИХ ТОЧОК ПРИ ВИРОБНИЦТВІ ВИСОКОЯКІСНОГО МОЛОКА

Безпека і якість молочної сировини та виготовленої з неї продукції є в даний час важливою і невирішеною проблемою. Традиційно низька якість молока, виробленого в господарствах країни, пов'язана з відсутністю системи забезпечення його якості.

Вітчизняні вчені, узагальнюючи закордонний досвід і результати власних досліджень, дійшли наступних висновків: якість молока, насамперед, залежить від санітарно-гігієнічних чинників його одержання.

© Палій А. П., 2015