

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КОНЦЕНТРАЦІЇ СПЕРМИ НА ЗАПЛІДНЮВАНІСТЬ *IN VITRO* ООЦИТІВ КОРІВ ІЗ ЧАСТКОВО РОЗСІЧЕНОЮ ПРОЗОРОЮ ОБОЛОНКОЮ*

Одним з найбільш перспективних напрямів у біотехнології репродукції є використання методів мікрomanipуляцій з гаметами людини та тварин як при розв'язанні проблем безпліддя у людини, так і при підвищенні ефективності запліднення *in vitro* у сільськогосподарських тварин.

Серед методів мікрохірургічного запліднення найбільш розповсюдженим є ін'єкція сперматозоїда в ооплазму (ICSI). Цей метод використовується для подолання безпліддя людини, спричиненого чоловічим фактором (D. Payne, 1995; J.W. Catt e.a., 1995). Однак використання даного методу для одержання ембріонів великої рогатої худоби (ВРХ) *in vitro* обмежено тим, що ядро ооцита корови не візуалізується у світловому мікроскопі через наявність у цитоплазмі великої кількості ліпідних гранул, і при ін'єкції воно може бути пошкодженим. Тому при мікрохірургічному заплідненні ооцитів корів разом з ICSI широко використовуються й інші методи (М.В. Зубец, В.Е. Кузнецов, И.Б. Елизарова, 1993; K. Pavasuthipaisit e.a., 1994). Усі ці методи, як правило, потребують використання мікрomanipуляторів. Нами було модифіковано метод розсічення прозорої оболонки ооцита (partial zona dissection — PZD), який дав змогу здійснювати PZD без використання мікрomanipуляторів, що значно знижує вартість даної технології та робить її доступнішою (Д.М. Басовський, 1997).

Метою нашої роботи було дослідження впливу PZD на ефективність запліднення ооцитів корів *in vitro* спермою з нормальною та пониженою концентрацією сперматозоїдів та вивчення здатності таких яйцеклітин до раннього ембріонального розвитку.

Дозрілі *in vitro* ооцити корів поміщали в 0,3%-й розчин гіалуронідази і звільняли від клітин кумулюсу за допомогою піпету-

* Науковий керівник — канд. біол. наук В.Є. Кузнецов

вання. Прозору оболонку (zona pellucida — ZP) яйцеклітин розсікали в 0,5 М розчині сахарози без використання мікроманіпуляторів за допомогою скляної мікроголки, виготовленої з пастерівської піпетки на вогні спиртівки. Як контроль, були використані інтактні ооцити. Усі яйцеклітини інкубували з капацитованими *in vitro* сперматозоїдами бугаїв протягом 18 годин. Частину передбачуваних зигот культивували разом з епітеліальними клітинами яйцепровода корів у середовищі 199, що містило 6 мг/мл БСА і 0,075 мг/мл канаміцину, протягом 24 годин, а інші фіксували за Тарковським.

Нами було встановлено, що PZD не впливає на рівень запліднення яйцеклітин ($P > 0,05$) та їх дрібнення ($P > 0,05$) при використанні сперми з нормальною концентрацією ($1-2 \cdot 10^6$ Сп/мл) (таблиця). Однак М.В. Зубець та ін. (М.В. Зубець, В.Е. Кузнецов, І.Б. Елизарова, 1993) показали достовірне підвищення частоти запліднення ооцитів після PZD при використанні нормальної сперми. Розбіжність одержаних даних можна пояснити тим, що в наших дослідах використовували метод розсічення ZP без застосування мікроманіпуляторів. Крім того, цими дослідниками також не встановлено достовірного підвищення відсотка дрібнення. При зниженні концентрації сперми на порядок у наших дослідах спостерігалася вірогідна різниця між заплідненням інтактних та PZD-ооцитів. Крім того, формування 2-4-клітинних ембріонів спостерігалася тільки після запліднення PZD-ооцитів (20,5%) (таблиця). Цитогенетичний аналіз сухоповітряних препаратів показав наявність морфологічно нормальних непікнотичних ядер в ембріонів контрольної та дослідної груп.

Вплив концентрації сперми на запліднення *in vitro* PZD-ооцитів корів

Групи дослідю	Усього досліджено ооцитів	Кількість зигот	Кількість зигот із трьома пронуклеусами	% дрібнення
інтактні ооцити	60	35 ^A	-	26/50 ^A
($1-2 \cdot 10^6$ Сп/мл)		(58,3%)		(52%)
PZD-ооцити	58	37 ^A	3	20/48 ^A
($1-2 \cdot 10^6$ Сп/мл)		(63,8%)	(5%)	(41,6%)
інтактні ооцити	40	3 ^B	-	-
($1-2 \cdot 10^5$ Сп/мл)		(7,5%)		
PZD-ооцити	44	14 ^C	1	7/34
($1-2 \cdot 10^5$ Сп/мл)		(31,8%)	(2%)	(20,5%)

В:С — $P < 0,01$. Критерій χ^2

Таким чином, результати наших досліджень показують, що при використанні сперми від цінних бугаїв, еякуляти яких характеризуються низькою концентрацією життєздатних сперматозоїдів, доцільно використовувати запропонований нами метод PZD.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.22/28.034.061

М.І. БАЩЕНКО, Л.М. ХМЕЛЬНИЧИЙ

НОВА МЕТОДИКА ЛІНІЙНОЇ ОЦІНКИ ЕКСТЕР'ЄРУ МОЛОЧНОЇ ХУДОБИ

Сучасне ведення галузі молочного скотарства передбачає застосування передових методів генетичної оцінки тварин, які відповідали б рівню світових стандартів. Досить важливе місце у визначенні племінної цінності корів займає їх оцінка за екстер'єрно-конституціональними особливостями. Це зумовлено встановленим тісним взаємозв'язком між екстер'єром, продуктивністю та життєздатністю тварин. Крім того, як показує практика країн з розвинутим молочним скотарством, важливість екстер'єрної оцінки худоби полягає у застосуванні показників, що характеризують будову тіла та вим'я, при визначенні індексів комплексної оцінки бугаїв-плідників за якістю нащадків.

Черкаським інститутом агропромислового виробництва разом із співробітниками німецької фірми ADT-Проект розроблено «Інструкцію лінійної оцінки екстер'єру корів молочних порід» (1997). Методика розроблена з урахуванням досвіду німецьких селекціонерів і удосконаленням елементів оцінки корів за типом, викладених у вітчизняній інструкції.

Нова методика складається із двох систем оцінки відповідно до інтернаціональних вимог: 1) 100-бальної і 2) лінійного опису екстер'єру.

1) 100-бальна система — це суб'єктивна оцінка; дає змогу класифікувати окремих тварин у межах стада або популяції; одночасно використовується із системою лінійного описування екстер'єру дочірніх нащадків бугаїв при визначенні їх племінної цінності. Оцінка за цією системою враховує велику кількість (бли-

© М.І. Башченко, Л.М. Хмельничий, 1999
Розведення і генетика тварин. 1999. Вип. 31 – 32