

Концентрація внутріклітинного (позаклітинного) кріопротектора була відповідно 25% Gl (50% Gl); 20% Gl (40% Gl); 15% (30%Gl); 10% Gl (20% Gl). Рівень збереження деконсервованого біооб'єкта дорівнював за групами відповідно 56,6% (17/30); 63,3% (19/30); 70% (21/30); 83,3 % (25/30).

Отримані дані підтверджують правильність нашого припущення відносно залежності мінімальної імовірності кристалоутворення внутріклітинного середовища від характеру позаклітинного кристалоутворення, який, у свою чергу, залежить від величини концентрації, складу та виду кріопротекторів, а також швидкостей заморожування-відтавання. Це дає змогу застосовувати запропоновану нами раніше аналітичну залежність вибору мінімальної концентрації еквілібруючого і вітрифікаційного розчинів для оптимізації технології кріоконсервації ооцитів та ембріонів ссавців у діапазоні високих і надвисоких швидкостей заморожування-відтавання (Л.В. Горбунов, І.А. Морозова, 1998).

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.4.082:57.08

Г.Г. ТРОХИМЕНКО, М.Д. БЕЗУГЛИЙ

ВИВЧЕННЯ ПРОНИКНОСТІ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНИХ МЕМБРАН ООЦІТІВ СВІНІ ДО КРІОПРОТЕКТОРІВ

Успішне заморожування біологічного матеріалу залежить від багатьох чинників, таких як співвідношення швидкостей заморожування-відтаяння (з урахуванням виду біооб'єкта), складу середовища, типу та концентрації захисної речовини. Незважаючи на те, що для ембріонів свині деяких стадій розвитку вже існують шляхи вирішення проблеми кріоконсервації (Dobrinsky J., 1993, 1997), для ооцитів свині це питання досі ще залишається відкритим.

© Г.Г. Трохименко, М.Д. Безуглий, 2001

Розведення і генетика тварин. 2001. Вип. 34

У даній роботі вивчали проникність цитоплазматичних мембрани до диметилсульфоксиду (ДМСО) та гліцерину, визначали коефіцієнти проникності та середній час осмотичної реакції в розчинах цих кріопротекторів. Дослідження проводили за допомогою напівавтоматичної установки для вивчення осмотичної реакції зародків ссавців. Ооцити отримували з яєчників забитих корів та проводили їхню морфологічну оцінку. Біооб'єкт занурювали спочатку в ізотонічний розчин середовища Дюльбекко, фіксували зображення на ПЕОМ, а потім переносили до 1,2 М розчину кріопротектора. Протягом осмотичної реакції фіксували зміни площини перетину зародка у відповідні проміжки часу. Потім за допомогою спеціально розробленого програмного забезпечення крізь масив експериментальних даних, використовуючи фізико-математичну модель Кедема-Качальського та модель М.Д. Безуглого осмотичної поведінки клітин у розчинах речовин, що проникають у клітини, проводили розраховану криву, яка найменшим чином відхиляється від експериментальних значень. Далі обчислювали параметри проникності цитоплазматичних мембрани до кріопротекторів, які характеризували цю криву.

Враховуючи різницю у часі осмотичної реакції та проникності до води та кріопротекторів, зміну відносного об'єму розбивали на два етапи. На першому етапі відбувалося швидке згинання клітин, зумовлене виходом води. На другому — повільне порівняно з першим етапом зрівноважування клітин за рахунок транспорту кріопротектора.

Об'єм клітин зменшувався до мінімального в розчині диметилсульфоксиду за 1,5 — 1,8 хв., а в розчині гліцерину — за 1,5 — 2 хв. Час зрівноважування об'єму клітини в 1,2 М розчинах ДМСО та гліцерину істотно відрізняється. Якщо ооцити свиней відновлюють свій об'єм за 20—30 хв., то в розчині гліцерину це значення коливається від 3 до 3,5 год. Різниця у часі відновлення об'єму пояснюється різницею в розмірі молекул використаних кріопротекторів та різними механізмами транспорту крізь цитоплазматичні мембрани ооцитів свині. Аналіз зміни клітинного об'єму ооцитів свині при занурюванні в 1,2 М роз-

чинах гліцерину та ДМСО вказує на досить високу проникність цитоплазматичних мембрани до ДМСО, яка може бути порівняна з водою. Гліцерин можна віднести до повільно проникаючих порівняно з водою речовин.

Удільна проникність до ДМСО в середньому становить $(0,66 \pm 0,08) \cdot 10^{-3}$, а до гліцерину — $(0,34 \pm 0,01) \cdot 10^{-5}$ см/хв. Характерний час транспорту для цих речовин коливається від декількох хвилин (для ДМСО) до годин (для гліцерину), що необхідно враховувати при розробці методів застосування кріопротекторів.

Харківський біотехнологічний центр

УДК 636.2.082.4:612.6.02

В.О. ДУДЧАК*

**ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН
НА ГІСТОМОРФОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ
РЕПРОДУКТИВНИХ ОРГАНІВ ТА ПРИЖИВЛЕННЯ
ДЕКОНСЕРВОВАНИХ ЕМБРІОНІВ У ТЕЛИЦЬ**

Одним із основних резервів збільшення виробництва продукції тваринництва є використання нових прогресивних біотехнологічних методів прискореного відтворення високо-продуктивних тварин.

Однак, незважаючи на значні досягнення в біотехнології відтворення тварин, досі окремі питання залишаються недостатньо вивченими і потребують додаткових досліджень, зокрема впливу різних чинників на приживлення трансплантованих ембріонів у телиць-реципієнтів. Тому метою наших досліджень було вивчення впливу комплексу біологічно активних речовин, введених внутрішньом'язово реципієнтам, на

*Науковий керівник — доктор сільськогосподарських наук С.Г. Шаловилю.

© В.О. Дудчак, 2001