

**ВПЛИВ ВИДАЛЕННЯ СІМ'ЯНОЇ ПЛАЗМИ ПЕРЕД
ЗАМОРОЖУВАННЯМ ЕЯКУЛЬОВАНИХ
СПЕРМАТОЗОЇДІВ БУГАЯ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ
ОТРИМАННЯ ЗАРОДКІВ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ
*IN VITRO***

Встановлено, що видалення білків сім'яної плазми є необхідною умовою для успішної капацитації сперматозоїдів *in vitro* тому, що плазма сперми, яка є сумішшю придаткових статевих залоз, містить у собі фактори (глікопротеїни), що перешкоджають капацитації сперматозоїдів та проходженню акросомної реакції внаслідок стабілізації їх мембран (Katska L., Rynska B., Smorag Z., 1996). У дослідженнях вивчали вплив видалення сім'яної плазми із еякульованої сперми бугая перед заморожуванням на одержання зародків великої рогатої худоби *in vitro*. Нами встановлено, що ефективнішим було використання сперматозоїдів, які відмиті від плазми центрифугуванням перед заморожуванням (у дослідній та контрольній групах використовували сперму одного і того самого бугая). Використання таких заморожено-відталених сперматозоїдів дало змогу одержати значно вищий відсоток дроблення зигот великої рогатої худоби *in vitro*, а також вищий рівень формування пізніх морул-бластоцист порівняно із сперматозоїдами, які були кріоконсервовані без попереднього центрифугування (контроль) (61,0%, 155/254 проти 49,6%, 128/258, $P < 0,05$ та 16,1%, проти 13,6% відповідно). Не виявлено різниці за здатністю 2—6-клітинних зародків у розвитку до морули-бластоцисти у дослідній та контрольній групах, тобто центрифугування сперматозоїдів до кріоконсервування не впливало на ефективність розвитку зародків великої рогатої худоби *in vitro* (26,5 та 28,1 % відповідно).

© С.І. Ковтун, 2001

Хоча відсоток формування пізніх морул-бластоцист вірогідно не відрізнявся в обох групах, істотно вищий рівень дроблення зигот при використанні центрифугованих заморожено-відталих сперматозоїдів дав змогу одержати більшу абсолютну кількість морул-бластоцист від осіменених ооцитів.

Слід відзначити, що незважаючи на застосування капацитуючих агентів, у тому числі використововуваного нами гепарину, котрі знижують рухливість та життєздатність сперматозоїдів, а також додаткове центрифугування сперми, що також може негативно впливати на життєздатність сперматозоїдів, у наших дослідженнях з одержання ембріонів великої рогатої худоби поза організмом більш ефективним виявилось використання сперматозоїдів бугая, позбавлених сім'яної плазми перед заморожуванням. Навіть при застосуванні високоефективного методу розподілу чоловічих гамет у градієнтах перколу, що дає змогу не лише відібрати високорухливі чоловічі гамети із нормальною морфологією та знизити ризик бактеріального забруднення, а також добре відмити сперматозоїди від залишків сім'яної плазми і розріджувача, у контролі спостерігалася нижча частота запліднення яйцеклітин корів *in vitro*.

Інститут розведення і генетики тварин УААН

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ЕПІДИДИМАЛЬНИХ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРИ ОТРИМАННІ ЗАРОДКІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ ТВАРИН ПОЗА ОРГАНІЗМОМ

Одним із основних напрямів клітинної інженерії є методика отримання ембріонів сільськогосподарських тварин поза організмом. Встановлено, що сперматозоїди, отримані із хвостових частин придатків сім'яників забитих плідників (епідидимальні), краще капацитуються поза організмом порівняно з еякульованими, можливо внаслідок відсутності контакту їх із секретами придаткових статевих залоз. Останнім часом особлива увага приділяється дослідженню фізіологічних показників сперміїв, отриманих із придатків сім'яників таких сільськогосподарських тварин, як бугаї, кнури та жеребці, а також отриманню зародків цих тварин *in vitro* (Katska L. et al., 1996; Kolbe T., Holtz W., 1999; Kikuchi K. et al., 1998; Braun J. et al., 1993). Так, у роботі Л. Контської та ін. (1996) досліджено ефективність використання заморожено-розморожених епідидимальних сперматозоїдів від семи бугаїв при заплідненні ооцитів корів *in vitro* та отримані наступні результати: рівень запліднення — $83,7 \pm 10,3\%$, дроблення — $80,2 \pm 11,8\%$, формування бластоцист — $30,6 \pm 5,0\%$. Нами показано, що зародки великої рогатої худоби, отримані після запліднення дозрілих поза організмом ооцитів корів епідидимальними сперматозоїдами (свіжоодержаними, короткочасно-збереженими та заморожено-розмороженими), розвивалися до стадії морули-бластоцисти (26,8%, 34/127; 17,2%, 17/99; 10,2%, 5/49 відповідно) (Кузнецова И.Б. и др., 1999).

Відомо, що отримання зародків свиней *in vitro* на даний час знаходиться на невисокому рівні у зв'язку із тривалим часом

© В.С. Кузнецов, Н.Я. Мелешко, 2001