

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 використовуваного 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

їхнього дозрівання поза організмом, високим рівнем поліспермного запліднення (Daen F.P. et al., 1994; Coy P. E. , 1999), а також підвищеною чутливістю еякульованих сперматозоїдів до заморожування. Виходячи із одержаних даних з використання епідидимальних сперматозоїдів бугаїв при одержанні зародків великої рогатої худоби *in vitro* (Кузнецова И.Б. и др., 1999), розробка, застосування та удосконалення цієї методики для свиней дало б змогу використовувати сперматозоїди із придатків сім'яників та поліпшити результати щодо одержання зародків свиней поза організмом.

У дослідженнях К. Кікуші та ін. (1998) з отримання ембріонів свиней *in vitro* при використанні сперматозоїдів кнурів, кріоконсервованих відразу після отримання (контроль) та зберігання епідидимісів протягом 1, 2, та 4 діб при +4 °С (експеримент), рівень моноспермної penetрації яйцеклітин становив 64—90%, формування чоловічого пронуклеусу — 67—71%. Але частота запліднення ооцитів свиней була значно нижчою в експерименті порівняно із контролем (12, 13 і 2% проти 40% відповідно, $P < 0,05$).

Таким чином, використання сперматозоїдів із хвоста придатків сім'яників при одержанні зародків сільськогосподарських тварин поза організмом дає змогу додатково використовувати цінний генетичний матеріал від вибракуваних з ряду причин плідників.

Інститут розведення і генетики тварин УААН