

ка на 9,1 % ниже, чем у сверстников III (контрольной) группы.

В тушах потомков хряков с повышенной энергией роста содержалось больше мяса и меньше сала, костей и кожи, чем в тушах потомков хряков с более низкой энергией роста.

В мясе потомков хряков с повышенной энергией роста содержится на 1,7 % меньше жира ($P \leq 0,05$) и на 1,6 % больше протеина ($P \leq 0,001$), чем в мясе сверстников от хряков со средней энергией роста.

Таким образом, использование хряков, отличающихся повышенной энергией роста в период контрольного выращивания (1000 г в сутки и более), позволяет улучшить отдельные репродуктивные признаки свиноматок, к которым они подобраны, и откормочные качества потомства без ухудшения мясосальных качеств и физико-химических свойств мяса.

Литература

1. Лебедев, Ю. В. Улучшение пород свиней / Ю. В. Лебедев. – М. : Россельхозиздат, 1978. – 108 с.
2. Никитченко, И. Н. Некоторые итоги и проблемы гибридизации в свиноводстве / И. Н. Никитченко // Пути увеличения производства и улучшения качества свинины. – Жодино, 1981. – С. 22-24.
3. Почерняев, Ф. К. / Селекция и продуктивность свиней / Ф. К. Почерняев. – М. : Колос, 1979. – 224 с.
4. Ладан, П. Е. Генетические возможности селекции по собственной продуктивности в свиноводстве / П. Е. Ладан, Н. Н. Белкина, В. А. Коваленко // Оценка производителей по качеству потомства : сб. – М. : Колос, 1973. – С. 18-20.
5. Ухтвёров, А. М. Эффективность селекции свиней по скороспелости и толщине шпика при разной интенсивности отбора : автореф. дис. ... канд. с.- х. наук / Ухтвёров А. М. – Дубровицы, 1992. – 21 с.
6. Жабровский, Л. С. Селекционная работа в условиях интенсификации животноводства / Л. С. Жабровский. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 320 с.

УДК 636.2.034:612.02

Е. Д. РАКОВИЧ

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ СОЗРЕВАНИЯ ООЦИТОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ВНЕ ОРГАНИЗМА

РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук
Беларуси по животноводству»

Введение. Развитие биотехнологических методов размножения позволяет с большей эффективностью использовать репродуктивный и генетический потенциал высокоценных животных, что особенно актуально в скотоводстве в связи с его низкой плодовитостью и продолжи-

тельным интервалом между поколениями. В настоящее время в связи с интенсификацией ведения молочного скотоводства в хозяйствах республики резко снижается фертильность (оплодотворяемость) коров из-за их преждевременной выбраковки по разным технологическим причинам, главной из которых является нарушение репродуктивных качеств животных. Гормональное стимулирование полиовуляции не только не позволяет в полной мере использовать репродуктивный потенциал коров, но и вызывает физиологические нарушения, связанные с переизбыточным содержанием гормонов в крови животных. Решение данной проблемы возможно путём созревания и оплодотворения ооцитов вне организма и дальнейшего культивирования полученных таким образом зигот.

Известно, что созревание фолликулов и ооцитов в яичниках млекопитающих находится под контролем многочисленных факторов, поступающих в них из кровеносной системы или синтезируемых в яичниках [1]. Гормоны гипофиза и гипоталамуса (гонадотропин-релизинг гормон, фолликулостимулирующий и лютеинизирующий гормоны, прогестерон, эстрадиол 17 β) являются главными регуляторами овариальной функции [2].

В естественном половом цикле созревание ооцита приводит к взаимозависимым изменениям его ядра, цитоплазмы, плазматической мембраны и прозрачной оболочки. Однако эти процессы независимы, поэтому развитие ооцитов до метафазы II (стадии оплодотворения) не является достаточным показателем зрелости ооцита. Для возобновления мейоза в условиях *in vitro* достаточно извлечь ооциты, находящиеся в состоянии паузы развития на стадии диплотена мейоза. Однако одного лишь извлечения из фолликула не всегда достаточно, чтобы ооцит завершил созревание и приобрёл состояние способности к оплодотворению и дальнейшему развитию. Даже в случае оплодотворения таких клеток и их развития в искусственных условиях до преимплантационных стадий (морула, бластоциста) уровень приживляемости будет достаточно низким, а возможность получения полноценного потомства практически сводится к нулю [3].

Моделирование систем дозревания ооцита – одна из важнейших задач в области клеточной репродуктивной технологии. Усовершенствование условий созревания и оплодотворения ооцитов *in vitro* с целью максимального приближения к условиям *in vivo* позволит обеспечить высокий выход способных к оплодотворению и дальнейшему развитию в эмбрионы до стадии морула-бластоциста яйцеклеток за счёт сочетания биологически активных веществ в культуральных средах, соблюдения газового и температурного режимов. Известно, что в поддержании роста и питания клеток важную роль играет сыворотка за

счёт находящихся в ней белков, аминокислот, предшественников нуклеиновых кислот, и витаминов. В настоящее время широко используются фетальная сыворотка телёнка и эстральная сыворотка коров. По данным многих авторов, введение в среду для созревания фетальной сыворотки телёнка ускоряет выделение первого полярного тельца. Другие авторы показали, что введение в среду для созревания фетальной сыворотки не повышает процент ядерного созревания ооцитов, в то же время эстральная сыворотка значительно повышает этот показатель. Ряд авторов утверждают, что тип сыворотки практически не сказывался на проценте ядерного созревания [4, 5, 6].

Кроме того, в естественном половом цикле при созревании ооцитов до стадии оплодотворения решающую роль играют гонадотропин-релизинг-гормоны, способствующие выделению гормонов, в том числе фолликулостимулирующего и лютеинизирующего. При стимулировании множественной овуляции для трансплантации эмбрионов эти препараты применяются с целью вызывания дружной овуляции фолликулов.

В последние годы в сельском хозяйстве, как нашей страны, так и за рубежом, широко применяются фитогормоны и их синтетические аналоги в качестве ростовых стимуляторов, которые обладают достаточно большей биологической активностью при низких концентрациях.

В связи с вышесказанным представляется актуальным выполнение исследований, направленных на поиск наиболее эффективных систем созревания и оплодотворения яйцеклеток крупного рогатого скота вне организма, основанных на введении в среду сывороток различных типов и гонадотропин-релизинг гормона, а также в качестве ростового стимулятора синтетический стероидный фитогормон – эпибрассинолид.

Цель работы – усовершенствовать условия созревания ооцитов крупного рогатого скота вне организма.

Материал и методика исследований. Исследования проведены в лаборатории генетики сельскохозяйственных животных РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Объектом исследований служили ооциты крупного рогатого скота и эмбрионы на ранних преимплантационных стадиях развития, полученные вне организма.

Яичники получали на мясокOMBинате после убоя животного и доставляли в лабораторию в стерильных солевых растворах (Хенкса, Дюльбекко) с добавлением антибиотиков в течение 1,5-3 ч при температуре 28-38°C. Ооцит-кумуляные комплексы (ОКК) выделяли расщеплением ткани яичников. Поиск и морфологическую оценку качества полученных ооцит-кумуляных комплексов проводили микроскопи-

ческим исследованием с использованием микроскопа МБС-10 при увеличении 32-56 крат. Для исследований отбирались ооциты, оцененные не ниже 4-5 баллов по пятибалльной шкале. Затем клетки помещали в среду для созревания ТС-199 с добавлением эстральной сыворотки суперовулировавших коров, фетальной сыворотки крупного рогатого скота, бычьей сыворотки, 25мМ/л буфера Нерес, 10ед./мл гентамицина, сурфагона и эпибрассинолида в различных концентрациях. В своих исследованиях мы использовали сыворотку крови быков в возрасте 18 мес., изготовленную в условиях лаборатории, а также фетальную и эстральную сыворотку коров. Сыворотку добавляли в количестве 10-15% к среде ТС-199. С целью преодоления блока дробления на стадии 8-16 клеток на третьи сутки культивирования в среду, содержащую бычью сыворотку, вводили 5 % эстральной или фетальной сыворотки. Сурфагон добавляли в дозе 0,02 нг/мл к среде для созревания. В качестве контроля служила среда без добавления Гн-РГ. Эпибрассинолид добавляли к культуральной среде в количестве 2×10^{-4} ; 2×10^{-6} ; 2×10^{-7} ; 2×10^{-8} ; 2×10^{-9} моль/л. Контролем служила разработанная нами среда для созревания ооцитов. Созревание ооцитов проводили при температуре 39°C, содержании 5 % CO₂ в воздухе, максимальной влажности под минеральным маслом в течение 24 ч. Затем ооциты оплодотворяли замороженно-оттаянной спермой, прошедшей капацитацию, в среде для оплодотворения эмбрионов. Эффективность оогенеза при получении преимплантационных зародышей вне организма определялась по уровню дробления и выходу жизнеспособных зародышей. Всего культивирована 821 клетка.

Результаты исследований и их обсуждение. Введение в среду ТС-199 фетальной, эмбриональной и бычьей сывороток позволило получить уровень созревания от 81,9 до 84,1 %, уровень дробления – 32,8-44,9 % и выход эмбрионов на преимплантационных стадиях – 14,7-17,4 % (табл. 1).

Исследования показывают, что при применении бычьей сыворотки до метафазы II созрело 81,9 % ооцитов, поставленных на культивирование. При этом уровень дробления составил 32,8 %, а выход морул-бластоцист – 14,7 %. При применении фетальной или эстральной сыворотки через 24 ч созрело до метафазы II 82,1 и 84,1 % ооцитов, что незначительно превысило данный показатель в предыдущей группе – на 0,6 и 2,2 %, соответственно. В то же время уровень дробления при применении фетальной сыворотки был выше по сравнению с бычьей на 2,1 %, а при применении эстральной – на 12,1 %. Показатели выхода преимплантационных эмбрионов находились в аналогичной зависимости: использование фетальной сыворотки увеличивало их выход на 1,2 %, а эстральной – на 2,7 %. Дополнительное введение в среду

культивирования зародышей, содержащую бычью сыворотку, эстральной или фетальной сыворотки на 3-й день культивирования позволяет увеличить количество созревших до метафазы II яйцеклеток на 0,4-0,9%, уровень дробления – на 2,7-12,0 %, а выход морул-бластоцист – на 1,4-2,5 % по сравнению с группой, культивирующейся с применением только бычьей сыворотки.

Таблица 1
Влияние типа сыворотки на оогенез ооцитов крупного рогатого скота

Используемая сыворотка	Кол-во ооцитов, n	Созрело до метафазы 2, n-%	Уровень дробления n-%	Морул-бластоцист n-%
Бычья сыворотка (БС)10%	61	50-81,9	20-32,8	9-14,7
Фетальная сыворотка (ФС)15%	63	52-82,5	22-34,9	10-15,9
Эстральная сыворотка (ЭС)15%	69	58-84,1	31-44,9	12-17,4
БС+ФС5%	62	51-82,3	22-35,5	10-16,1
БС+ЭС5%	58	48-82,8	26-44,8	10-17,2

Примечание: последние две графы – фетальная и эстральная сыворотка добавлены на 3-й день культивирования

Таким образом, применение бычьей сыворотки в комплексе с эмбриональной или фетальной сыворотками позволило получить уровень дробления 35,5-44,8 %, а выход эмбрионов на стадии морул-бластоциста составил 16,1-17,2 % при культивировании ооцитов вне организма, что соответствует показателям культивирования в средах с эмбриональной и фетальной сыворотками.

Влияние гонадотропин-релизинг гормона (сурфагона) на эффективность созревания ооцитов при культивировании вне организма показано в табл. 2. Исследования показали, что применение сурфагона в среде для созревания ооцитов способствовало повышению уровня созревания на 6,6 %, а выход дробящихся зародышей после оплодотворения увеличился на 2,5 % по сравнению с контрольной группой. При этом выход морул-бластоцист увеличился на 3,2 % и составил 17,9 % от числа выделенных ооцитов.

Таблица 2
Результаты созревания ооцитов при включении в среду релизинг-гормона

Среда	Кол-во ооцитов, n	Созрело до метафазы 2, n-%	Уровень дробления, n-%	Выход морул-бластоцист, n-%
Контроль	75	62-82,7	32-42,7	11-14,7
Опыт (сурфагон)	84	75-89,3	38-45,2	15-17,9

Таким образом, применение гонадотропин-релизинг гормона в средах для созревания ооцитов способствует повышению выхода созревших до стадии метафаза II яйцеклеток. По всей видимости, добавление в культуральную среду вышеназванного гормона способствует регуляции процессов роста и развития ооцит-кумулюсных комплексов и их дружному созреванию до стадии метафаза II.

В своих исследованиях мы изучали влияние эпибрассинолида (синтетического стероидного фитогормона) на созревание ооцит-кумулюсных комплексов коров вне организма (табл. 3).

Таблица 3

Влияние эпибрассинолида на эффективность созревания ооцитов крупного рогатого скота вне организма.

Количество э- брассинолида, моль/л	Поставлено на культивирование ооцитов, п	Результаты созревания		
		Неоплодотво- ренных яйце- клеток, п- %	Дробящихся, п- %	Морул- бластоцист, п- %
2×10^{-4}	45	26-57,8	19-42,2	2-4,4
2×10^{-6}	37	19-51,4	18-48,6	4-10,8
2×10^{-7}	56	30-53,6	26-46,4	8-14,2
2×10^{-8}	80	36-45,0	44-55,0	13-16,2
2×10^{-9}	71	34-47,9	37-52,1	11-15,5
Контроль	60	28-46,7	32-53,3	9-15,0

В результате исследований установлено, что высокая концентрация эпибрассинолида (2×10^{-4} моль/л) позволила получить 42,2 % дробящихся зародышей и лишь 4,4 % зародышей пригодных для трансплантации, 57,8 % клеток оказались неоплодотворенными. Снижение содержания фитогормона до 2×10^{-6} и 2×10^{-7} моль/л в культуральной среде положительно повлияло на уровень дробления – 48,6 и 46,4 %, выход морул-бластоцист увеличился на 6,4 и 9,8 %, соответственно. Дальнейшее снижение концентрации гормона до 2×10^{-8} моль/л позволило получить 55,0 % дробящихся клеток и 16,2 % зародышей на стадии морула-бластоциста, что оказалось выше на 1,7 и 1,2 % по сравнению с контролем, соответственно. При содержании эпибрассинолида 2×10^{-9} моль/л намечилось незначительное снижение показателей.

Таким образом, синтетический фитогормон эпибрассинолид может быть использован в качестве биологически активного фактора при получении ранних зародышей вне организма в концентрациях 2×10^{-7} - 2×10^{-9} моль/л, что позволит получать 46,4-55,0 % дробящихся клеток и 14,2-16,2 % преимплантационных эмбрионов.

Заключение. 1. Применение бычьей сыворотки в комплексе с эмбриональной или фетальной сыворотками при культивировании ооцитов вне организма позволило получить 35,5-44,8 % дробящихся клеток

и 16,1-17,2 % эмбрионов на стадии морула-бластоциста.

2. Добавление 0,02 нг/мл гонадотропин-релизинг гормона (сурфагона) в среду для созревания ооцитов за счёт регуляции процессов роста и развития ооцит-кумулюсных комплексов способствует повышению выхода созревших до стадии метафаза II яйцеклеток до 89,3 %. При этом выход дробящихся зародышей после оплодотворения увеличился на 2,5 % по сравнению с контролем и составил 45,2 %.

3. Синтетический фитогормон эпибрассинолид может быть использован в качестве биологически активного фактора при получении ранних зародышей вне организма в концентрациях 2×10^{-7} - 2×10^{-9} моль/л, что позволит получать 46,4-55,0 % дробящихся клеток и 14,2-16,2 % преимплантационных эмбрионов.

Литература

1. Лебедева, И. Ю. Участие клеток гранулезы в опосредовании действия пролактина и соматотропина на ооцит-кумулюсные комплексы коров *in vitro* / И. Ю. Лебедева, Т. В. Кабардина, Т. И. Кузьмина // Цитология. – 2005. – № 10. – С. 882-887.

2. Молекулярная биология клетки. В 5-ти т. Т. 1 / Б. Алберте [и др.]. – М. : Мир, 1987. – 231 с.

3. Колесникова, А. А. Стимуляция развития ооцитов млекопитающих *in vitro* / А. А. Колесникова, В. А. Шагимова // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных : материалы 6-ой Международ. конф., 19-20 дек. 2006 г. / ВИЖ. – 2006, Дубровицы. – С. 85-87.

4. Генетика, селекция и биотехнология в скотоводстве / под ред. М. В. Зубец, В. П. Буркат. – К., 1997. – 720 с.

5. Завертяев, Б. П. Биотехнология в воспроизводстве и селекции крупного рогатого скота / Б. П. Завертяев. – Л. : Агропромиздат, 1989. – 255 с.

6. Сметанина, И. Г. Влияние некоторых экзогенных факторов на созревание ооцитов крупного рогатого скота *in vitro* : автореф. дис. ... канд. биол. наук / Сметанина И.Г. – Боровск, 2001. – 27 с.

УДК 636.4.082.2

В.С. СМИРНОВ

О СВЯЗИ КОНСТИТУЦИИ С ПРОДУКТИВНОСТЬЮ СВИНОК ПРИ ХОЗЯЙСТВЕННОМ ИСПОЛЬЗОВАНИИ

Воронежский Государственный аграрный университет

Введение. Интенсивность селекции свиней на высокую мясную и откормочную продуктивность, проводимая во всем мире, в последние 50 лет дала хорошие результаты. Это обусловлено тем, что эти признаки продуктивности растущих свиней генетически детерминированы и в определённой степени связаны между собой. Оказалось, что размеры