

**Висновки та пропозиції.** Підсумовуючи результати обмінних досліджень, слід зазначити наступне: підсвинки червоної білопоясої породи відзначаються підвищеними коефіцієнтами перетравності клітковини та кращими засвоєннями кальцію; тварини великої білої породи характеризуються достатньо високими коефіцієнтами засвоєння азоту і фосфору, а свинки породи ландрас мали дещо нижчі показники коефіцієнтів перетравності клітковини та засвоєння азоту.

#### **СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:**

1. Акімов С. В., Матюшенко С. А. Ефективність використання поживних і мінеральних речовин корму свинями різних поєднань полтавської м'ясної породи // Свинарство – Полтава, фірма «Техсервіз». – 2008. – С.20 – 24.
2. Баньковський Б. В. Перетравність поживних речовин і використання азоту кормів у свиней різних порід // Свинарство. – К.: «Урожай».- 1970.- вип.12.- С. 44 – 47.
3. Дудка О. І., Луценко В. А., Маслюк А. М., Явіщенко В. Р. Засвоєння кормів у асканійських поросят // Тваринництво України. - 2007.- №8.- С. 31-33.
4. Рибалко В. П. Сучасний стан та напрямки розвитку вітчизняного свинарства // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв. -2010. – Вип. 1(52).- Т. 2.- С.21- 25.
5. Сердюк О. Е. Ефективність використання поживних речовин і енергії свинями червоної білопоясої спеціалізованої м'ясної лінії // Тваринництво України. - 2001.- №5.- С. 19-21.
6. Топиха В. С. Адаптаційні особливості свиней різних порід в умовах ВАТ «Племзавод «Степной» Запорізької області // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв. -2010. – Вип. 2(53). - С.21- 25.
7. Хохлов А. М., Барановский Д. И., Герасимов В. И., Пронь Е. В. Влияние генетического фактора на обмен веществ у молодняка свиней // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв. -2010. – Вип. 2(53). - С.237- 242.
8. Фесенко О. Г., Рак Т. М., Троцький М. Я. Засвоєння поживних речовин корму у свиней різних генотипів // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – Миколаїв. - 2006. – Вип. 3(35). – Т.2. - С.112- 115.

УДК 612.621:636.4.082.4

### **ДОСЛІДЖЕННЯ ЗДАТОСТІ СПЕРМАТОЗОЇДІВ ПРОНИКАТИ У БЛИСКУЧУ ОБОЛОНКУ ЯЙЦЕКЛІТИНИ СВИНІ ПОЗА ОРГАНІЗМОМ**

*Лобченко С.Ф. – м. н. с., Інститут свинарства і  
агропромислового виробництва НААН України*

**Постановка проблеми.** Запліднення яйцеклітини є одним з основних етапів утворення нового організму. У процесі еволюції утворився досить складний механізм, що забезпечує зустріч гамет та подальший розвиток зиготи.

Окремі ланки цього процесу досить детально вивчені на багатьох видах тварин, зокрема свині. Особливо ретельно вивчався вплив різних факторів на результативність запліднення поза організмом [1, 2, 3, 4]. Однак, залишається нез'ясованим, як сперматозоїд долає блискучу оболонку, досить міцну перешкоду на шляху до власне яйця. Ця проблема залишається однією з найважливіших серед інших, пов'язаних із біотехнологією репродукції у свавців.

**Стан вивчення проблеми.** У багатьох дослідженнях показана можливість запліднення яйцеклітини поза організмом унаслідок самостійного подолання сперматозоїдом оболонок яйця [5, 6, 7]. Проте, на практиці здебільшого використовується інший спосіб, який полягає в уведенні головки сперматозоїда безпосередньо в ооплазму яйця шляхом ін'єкції (ICSI).

Вважається, що сперматозоїди потребують спеціальної підготовки (капацитації), щоб набути здатності запліднювати яйце [8, 9]. Ця особливість виявилася у зв'язку з вивченням процесу запліднення поза організмом. Найбільш переконливим показником успішного запліднення вважається утворення ембріона та подальший його розвиток аж до народження повноцінного потомства.

Однак, найпершим свідченням успішного початку процесу запліднення можна вважати присутність сперматозоїдів у блискучій оболонці яйця. Цей показник завжди може гарантувати факт запліднення в природному процесі. Утім, виявлення сперматозоїдів у блискучій оболонці, як свідчення успішності початкового етапу запліднення, не набуло поширення, хоча блискуча оболонка пропонувалась як тест на капацированість сперматозоїдів [10]. Перевагу було надано тестуванню за допомогою позбавлених блискучої оболонки яйцеклітин хом'ячка [11]. Відповідний тест був розроблений і для сперматозоїдів кнурів [12, 13]. Однак, відомо, що блискуча оболонка відіграє свою важливу роль у процесі запліднення, викликаючи акросомну реакцію в спермії [14]. Це спонукало нас до вивчення проникнення сперматозоїда у блискучу оболонку.

**Завдання та методика досліджень.** Завданням досліджень було вивчення здатності еякульованих сперматозоїдів, що попередньо були підготовлені з використанням різних прийомів та способів, проникати у блискучу оболонку ооцитів свині в умовах поза організмом.

У досліді використовували свіжоодержану сперму кнурів. Використовували тільки ті зразки, що мали прямолінійно-поступальний рух сперміїв на рівні не менше ніж 80 %. Відразу після надходження в лабораторію відбирали окремі порції еякуляту та готували для осіменіння яйцеклітин. Підготовка полягала у тому, що сперму двічі-тричі відмивали від плазми шляхом центрифугування зі швидкістю 3000 об/хв., замінюючи її на штучне середовище, що сприяє капацитації. Після цього проводили інкубування цих зразків упродовж від 1 до 2 годин у термостаті за температури 38 °С.

Ооцити виділяли з яєчників свині з фолікулів різного ступеня зрілості. Для осіменіння їх очищали від клітин кумулюсної маси, а у випадку, коли кумулюс був муцинізованим, використовували без видалення кумулюсу – в нативному стані.

Спільне інкубування ооцитів і сперматозоїдів проводили впродовж не менше ніж трьох годин за температури 38 °С. Після цього з ооцитів готували нативні препарати та визначали під мікроскопом наявність сперматозоїдів у блискучій оболонці (*zona pellucida*) та на її поверхні.

Для остаточного визначення наявності сперматозоїдів у блискучій оболонці ооцитів їх ретельно піпетували в трьох послідовних порціях середовища.

**Результати досліджень.** У результаті досліджень встановлено, що сперматозоїди в умовах поза організмом досить активно атакують ооцити. У випадку використання в експерименті ооцит-кумулясних комплексів з муцинізованою кумулюсною масою сперматозоїди досить швидко руйнують її. Це може бути наслідком дії ферментів акросоми сперматозоїдів. Однак таке спостерігалось не у всіх випадках. Коли досліджували оголені ооцити, кумулюсна маса яких була видалена перед осіменінням, виявилось, що практично в усіх випадках можна було спостерігати сперматозоїди, які прикріпилися до блискучої оболонки. Також мали місце випадки масового прикріплення сперматозоїдів до поверхні блискучої оболонки. Вони розташовувалися майже перпендикулярно та були зорієнтовані головною частиною до поверхні оболонки яйця, утворюючи суцільний покрив.

Наступним етапом було вивчення яйцеклітин після механічного видалення сперматозоїдів із поверхні блискучої оболонки. Для цього використовували їх піпетування у краплині ізотонічного середовища. Така процедура призводила до змивання прикріплених ззовні сперматозоїдів.

Це може бути свідченням того, що такий контакт статевих клітин був тільки початковим і не спричинив ніяких помітних морфологічних чи цитологічних змін. Детальне вивчення блискучої оболонки на предмет присутності в ній сперматозоїдів довело їх відсутність. У декількох випадках створювалося враження перебування головки сперматозоїда саме в оболонці. Однак, шляхом зміни просторової орієнтації яйця з'ясувалося, що сперматозоїд знаходиться на поверхні, а не в самій блискучій оболонці.

**Висновки та пропозиції.** Одержані результати засвідчили, що процедура підготовки сперматозоїдів до запліднення поза організмом, яка була застосована в цих дослідженнях, не приводила до появи в них здатності пенетрувати блискучу оболонку чи накопичуватися в ній, як це має місце при спонтанному процесові взаємодії гамет у свині.

Це може пояснюватися відсутністю відповідних природних факторів, які регулюють процес взаємодії гамет чи навіть існування особливого процесу, який сприяє проникненню сперматозоїда через блискучу оболонку аж до поверхні власне яйця, який пов'язаний з остаточним дозріванням яйцеклітини. Через те, що в дослідженні використовували незрілі ооцити, цей процес не міг бути задіяним.

**Перспективи подальших досліджень.** Для з'ясування механізму проникнення сперматозоїдів через блискучу оболонку яйцеклітини необхідні додаткові поглиблені дослідження.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ:

1. Coy P., Martinez E., Ruiz S., Vazquez J.M., Roca J., Matas C. Sperm concentration influences fertilization and male pronuclear formation in vitro in pigs // *Theriogenology* – 1993 – V. 40 – P. 539 – 546.
2. Coy P., Martinez E., Ruiz S., Vazquez J.M., Roca J., Matas C., Gadea J. Environment and medium volume influence in vitro fertilization of pig oocytes // *Zygote* – 1993 – V. 1 – P. 209 – 213.

3. Kikuchi K., Nagai T., Motlik J., Shioya Y., Izaike Y. Effect of follicle cells on in vitro fertilization of pig follicular oocytes // *Theriogenology* – 1993 – V. 39 – P. 593 – 599.
  4. Mattioli M., Galeati G., Seren E. Effect of follicle somatic cells during pig oocyte maturation on egg penetrability and male pronucleus formation // *Gamete Res.* – 1988 – V. 20 – P. 177 – 183.
  5. Wang W-H., Abeydeera L.R., Okuda K., Niwa K. Penetration of porcine oocytes during maturation in vitro by cryopreserved ejaculated spermatozoa // *Biol. Reprod.* – 1994 – V. 50 – P. 510 – 515.
  6. Behalova E., Pavlok A., Motlik J., Fulka J. In vitro fertilization of pig ova: Effects of various factors on penetration, polyspermy and male pronuclear formation // *Anim. Reprod. Sci.* – 1993 – V. 32 – P. 127 – 133.
  7. Yoshida M., Ishizaki Y., Kawagishi H. Blastocyst formation by pig embryos resulting from in-vitro fertilization of oocytes matured *in vitro* // *J. Reprod. Fert.* – 1990 – V. 88 – P. 1 – 8.
  8. Austin C.R. Observations on the penetration of the sperm into the mammalian egg // *Aust. J. Sci. Res.* – 1951 – B. 4 – P. 581 – 596.
  9. Chang M.C. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes // *Nature, Lond.* – 1951 – V. 168 – P. 697 – 698.
  10. Yanagimachi, R., Lopata, A., Odom, C.B., Bronson, R.A., Mahi, C.A., Nicolson, G.L. Retention of biologic characteristics of zona pellucida in highly concentrated salt solution: the use of salt-stored eggs for assessing the fertilizing capacity of spermatozoa // *Fertil. and Steril.* – 1979 – V. 31 – P. 562 – 574.
  11. Yanagimachi, R., Yanagimachi, H., Rogers, B.J. The use of zona-free animal ova as a test system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa // *Biol. Reprod.* – 1976 – V. 15 – P. 471 – 476.
  12. Berger T., Horton M.B. Evaluation of assay conditions for the zona-free hamster ova bioassay of boar sperm fertility // *Gamete Res.* – 1988 – V. 19 – P. 101 – 111.
  13. Berger T., Parker K. Modification of the zona-free hamster ova bioassay of boar sperm fertility and correlation with in vivo fertility // *Gamete Res.* – 1989 – V. 4 – P. 385 – 397.
  14. Berger T., Turner K.O., Meizel S., Hedrick J.L. Zona pellucida-induced acrosome reaction in boar sperm // *Biol. Reprod.* – 1989 – V. 40 – P. 525 – 530.
-