УДК 636.2.082.453.5

ВЛИЯНИЕ КОНВЕКТОРНОГО СПОСОБА ЗАМОРАЖИВАНИЯ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ОПЛОДОТВОРЯЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ СПЕРМЫ БЫКОВ

Б. М. Павленко
Институт животноводства НААН

Изложены результаты исследований по оптимизации режима замораживания спермы в герметических упаковках и разработке эффективных криотехнических средств, на основании которых усовершенствована технология криоконсервации спермы быка, которая испытана в научном и широком производственном опытах с положительными результатами.

Ключевые слова: **сперма быка, криоконсервирование, криоконвектор.**

В реализации крупномасштабной селекции скота одно из ведущих мест занимает внедрение в практику животноводства метода искусственного осеменения, основанного на использовании замороженной спермы быков–улучшателей, оцененных по качеству потомства.

Наибольшее распространение получили Харьковская (Ф. И. Осташко, М. П. Павленко, 1978) [1], французская (R. Cassou, 1972), [6], немецкая (L. Simmet, 1972) [9] и японская (H. Nagase, T. Niwa, 1963) [7, 8] технологии, которые обеспечивают сохранность половых клеток после деконсервации на уровне 30-50 % и оплодотворяемость самок после первого осеменения в пределах 50-60 %, что свидетельствуют о неполном использовании потенциальных возможностей этого прогрессивного биотехнологического метода. Поэтому исследования по усовершенствованию приёмов консервирования спермы в направлении оптимизации условий сохранения жизнеспособности и физиологической полноценности половых клеток являются актуальными.

Наши исследования посвящены разработке ресурсосберегающей технологии замораживания герметизированных спермодоз [3, 4, 5].

Актуальность вопроса состоит в повышении технологичности и ресурсосберегаемости процесса криоконсервирования и использования спермы быков, при одновременном обеспечении высокой сохранности, выживаемости и оплодотворяющей способности половых клеток, и таким образом повышения эффективности и конкурентоспособности Харьковской технологии.

Цель работы – создание условий сохранения высокой выживаемости и санитарного качества спермы при её криоконсервировании, путём оптимизации процесса замораживания и использования спермы быков в герметичных упаковках.

Задачи исследований:

– разработать криоконвекторный способ замораживания спермы в герметизированных спермодозах.

– испытать усовершенствованную технологию криоконсервации спермы быка в широком производственном опыте.

Материалы и методы исследований. Объектами исследований были нативная, замороженная и деконсервированная сперма быков, жидкий азот, оборудование для замораживания спермы и осеменения коров и телок.

Для опытов использовали сперму клинически здоровых быков в возрасте 2-7 лет. Кормление и содержание животных отвечало зоогигиеническим нормам.

Сперму от самцов получали асептическим способом на механическое чучело с использованием вагин, оборудованных одноразовыми полимерными спермоприёмниками. Объём эякулята, концентрацию половых клеток, их подвижность, определяли согласно действующему ГОСТу на нативную и замороженную сперму (ДСТУ 3535-97). Разбавление спермы проводили долгохранящейся криопротективной средой исходя из расчёта получения в одной спермодозе 30 млн. активных спермиев. Сперму расфасовывали в тонкостенную полимерную трубку диаметром 3,8 мм, которую разделяли на отдельные спермодозы с одновременной их термоимпульсной герметизацией с помощью специального устройства ПРЖ [1].

Для замораживания спермы использовали разработанный нами криоконвектор [2, 3, 4, 5], обеспечивающий дозированное высокоскоростное охлаждение герметизированных спермодоз. Для изучения эффективности криоустройства использовали герметизированные в плёночную оболочку спермодозы, объёмом 0,25 мл, которые загружали в специальный контейнер с жиклёром и замораживали сперму прямым погружением контейнера в жидкий азот. При этом изучали зависимость скорости охлаждения спермодоз от места их размещения в контейнере, влияние замораживания на качественные показатели спермы после деконсервации при разных степенях загрузки контейнера спермодозами и устанавливали эффективность применения криоконвектора в сравнении с базовым вариантом [1]. Скорость снижения температуры измеряли медь-константановой термопарой с рабочим спаем диаметром 0,3 мм, который монтировали внутрь исследуемых спермодоз. Размораживали сперму на водяной бане при температуре 40 °С, через 24 часа после криоконсервирования. Все сравнительные исследования спермы проводили на разделённых эякулятах. При изучении оплодотворяющей способности сравниваемые группы животных подбирали по принципу пар-аналогов. Осеменение самок в охоте проводили асептическим способом. Деконсервированную сперму вводили интрацервикально мано-, или ректо-цервикальным методами. Полученные результаты обрабатывали статистически по методу Стьюдента. Разность считалась достоверной при $P<0,05$.

Результаты исследований. В основу разработки положен принцип дозированного вентилирования герметизированных спермодоз холодным паром азота, непосредственно в контейнере. При определении параметров охлаждения изучали влияние скоростей потоков холодного газообразного азота через контейнер со спермодозами на биологические показатели спермы после её замораживания-оттаивания, которое достигалось оснащением контейнеров жиклерами разных диаметров (0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мм) и понижением в них во время замораживания спермы атмосферного давления. Установлено, что наиболее высокие качественные показатели спермы были получены при использовании контейнера с жиклером диаметром 1 мм. При этом после замораживания-оттаивания активность спермы составляла 4,2 балла, выживаемость при 38 °С – 6,5 часов и показатель абсолютной выживаемости – 14 единиц, что было выше показателей качества спермы, полученных в контейнерах с другими диаметрами жиклеров.

С целью реализации проверенного в эксперименте принципа замораживания, нами было создано специальное устройство – криоконвектор, функциональной особенностью которого является то, что в рабочем режиме он автоматически создает поток холодного газообразного азота по внутреннему каналу контейнера с герметизированными спермодозами. Это обеспечивает равнозначное дозированное обдувание холодом каждой спермодозы во время замораживания. При изучении эффективности криоконвекторного способа определяли зависимость скорости охлаждения спермодоз и качественных показателей спермы от местоположения

их в контейнере, влияние разных уровней загрузки контейнера спермодозами на выживаемость деконсервированной спермы и проводили сравнительное изучение способов замораживания спермы и ее оплодотворяющей способности.

Анализ снижения температуры в спермодозах, размещенных в разных частях контейнера показал, что падение температуры во всех контролируемых зонах протекало со скоростью 18-20 °С за первую минуту; 20-25 °С – за вторую минуту; 28-32 °С – за третью минуту, а в целом температура в спермодозах, размещенных в нижней, средней, верхней и боковых зонах контейнера снижалась от 0 °С до -79 °С на протяжение 3-3,5 минут. При этом биологические показатели спермы в исследуемых спермодозах не имели отклонений и по 10 разделенным эякулятам составляли по активности – 5,1 балла, по выживаемости половых клеток при 38 °С – 8,5 часов и показателем абсолютной выживаемости – 28,8 единиц в среднем.

Влияние разных уровней загрузки контейнеров спермодозами на результативность замораживания спермы определяли при условиях размещения в контейнере 50, 100, 150 и 200 спермодоз. Установленные показатели активности, выживаемости и абсолютной выживаемости половых клеток во всех исследуемых пробах не зависели от количества размещенных для замораживания в контейнерах спермодоз и находились на одном уровне, в пределах 4,5 баллов; 6,5 часов и 16,5 условных единиц, соответственно.

Эффективность предложенного криоконвекторного способа замораживания герметизированных спермодоз изучали в сравнении с базовой технологией замораживания спермы в облицованных гранулах [1]. Сравнительные результаты этих исследований приведены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние криоконвекторного метода замораживания герметизированных спермодоз на выживаемость половых клеток после деконсервации (n=12)

Показатели качества спермы	Активность спермы, баллы (а)			Выживаемость спермы при 38 °С, (t)	Показатель абсолютной выживаемости (Sa)
	при получении	до замораживания	после замораживания		
Опыт	8,0±0,001	7,2±0,001	5,1±0,001	12,0±1,1	22,1±1,2
Контроль	8,0±0,001	7,2±0,001	4,5±0,001	8,1±1,0	16,8±1,8

Результаты свидетельствуют, что использование предложенной модели устройства обеспечивает получение более высоких показателей спермы в сравнении с контролем по активности после размораживания на 0,6 баллов, выживаемости при 38 °С на 3,9 часа и по показателю абсолютной выживаемости на 5,3 единицы.

Необходимо отметить, что при использовании криоконвекторного метода достигается равномерное охлаждение каждой спермодозы, чем предотвращаются расхождения в показателях качества деконсервированой спермы в пределах одного эякулята. Таким образом, на основе разработки нового варианта долгохранящейся криопротективной среды и способа её изготовления, а также разработки криоконвекторного способа замораживания герметизированных спермодоз, нами была усовершенствованна Харьковская технология криоконсервации спермы быков-производителей в герметизированных спермодозах в направлении повышения её технологичности и улучшения санитарных и биологических качеств спермы.

Заключительным этапом работы было определение в широком производственном опыте эффективности усовершенствованной Харьковской технологии

асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей. Результаты исследований приведены в таблице 2.

Таблица 2

Эффективность применения усовершенствованной Харьковской технологии асептического получения, криоконсервирования и использования спермы быков в широком опыте в период 2001–2010 гг.

Годы	Использовано быков, голов в среднем за год	Получено эякулятов, штук	Объём эякулята, мл (М)	Заморожено спермодоз, штук	Осеменено коров и тёлок, голов	Оплодотворилось коров и тёлок на конец года, %	Родилось телят, голов	Выход живых телят на 100 коров (%)
Общепринятая технология (контроль)								
2001	8	1152	4,0	22087	2772	93	2036	73,4
Усовершенствованная технология (опыт)								
2002	6	864	4,0	16250	2603	96	1982	76,1
2003	9	1296	4,5	42363	2409	95	1959	81,3
2004	9	1296	5,0	49234	2200	97	2072	94,1
2005	8	1152	4,8	42765	2377	97	2216	93,2
2006	12	1728	5,0	45154	2639	96	2265	87,0
2007	8	1440	4,5	26300	2760	94	2369	85,8
2008	7	1008	5,0	21400	2845	93	2369	83,2
2009	6	864	5,0	52701	2893	94	2354	81,3
2010	9	1296	5,0	46708	2634	96	2383	90,5
Итого	7,4	4896	4,75	355311	23360	95,3	19969	85,4

Из приведенных данных видно, что за период широкого испытания усовершенствованной технологии с 2002 по 2010 год, на внутрихозяйственном племпредприятии СК «Восток» заготовлено от собственных быков-производителей 355311 высококачественных спермодоз. При этом качество законсервированной спермы колебалось по активности в пределах 4-6 баллов при нижней допустимой норме 4 балла, а по выживаемости при температуре 38 °С в пределах 8-12 часов при норме не ниже 5 часов. Благодаря чему в хозяйстве создан собственный банк глубокозамороженной спермы высокоценных быков-производителей Датской селекции и организованно селекционно-племенную работу в направлении повышения молочной продуктивности коров в хозяйстве и за его пределами.

За указанный период проведено осеменение 23360 коров и телок, оплодотворяемость от первого осеменения колебалась в пределах от 62 до 68 % и в среднем составила 65 %, что было на 12 % выше в сравнении с соответствующими данными, полученными в контроле. При этом оплодотворяемость на конец года составляла в среднем 95,3 %, а выход телят на 100 коров и телок в среднем 85,4 голов, который подтверждает высокую эффективность конвекторного способа замораживания спермы.

Выводы:

1. Конвекторный способ замораживания спермы быков внедрен и испытан на базе племрепродуктора «Восток» Изюмского района Харьковской области, где от быков заготовлено 355311 спермодоз и проведено 23360 осеменений коров

и телок. При этом оплодотворяемость самок на конец года составляла 95,3 %, а выход телят на 100 коров и телок в среднем за 10 лет достиг 85,4 %**,** что свидетельствует о высокой эффективности предложенной разработки.

2. С целью оптимизации режима охлаждения герметизированных спермодоз и повышения технологичности процесса криоконсервации спермы, предотвращения разнокачественности спермы в отдельных спермодозах в пределах одного контейнера и снижения ее качества при замораживании крупными партиями, племенным предприятиям и центрам по искусственному осеменению крупного рогатого скота предлагается криоконвекторный способ замораживания спермы быков и криоконвектор, которые широко апробированы в производстве с положительными результатами.

Библиографический список

1. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков–производителей. Методические рекомендации / [Осташко Ф. И., Павленко М. П., Кузнецов Г. Н. и др.]. – Х., 1990. – 47 с.

2. Павленко Б. М. Оптимизация режима замораживания спермы быков–производителей / Павленко Б. М. // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини: зб. наук. праць ХЗВІ. – Вип. 5 (29), Ч. 2. – Х., 1999 – С. 87–89.

3. Павленко Б. М. Кріоконвектор для заморожування сперми і його вплив на стабілізацію режиму охолодження і виживаність статевих клітин бугая при кріоконсервації : зб. наук. праць присвячений 80–річчю зооінженерного факультету / Павленко Б. М. // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини, ветеринарні науки. – Вип. 6 (30), Ч. 2. – Х., 2000. – С. 55–59.

4. Павленко Б. М. Результати вивчення кріоконвекторного способу заморожування спермии : Міжвідомчий тематич. наук. зб. / Павленко Б. М. // Розведення і генетика тварин, Інститут розведення і генетики тварин. – Вип. 36. – К., 2002. – С. 132–133.

5. Павленко Б. М. Кріоконвектор для заморожування спермодоз / Павленко Б. М., Соловйов С. Т. // Аграрна наука виробництву. Науково–інформаційний бюлетень завершених наукових розробок УААН. – Вип. 2 (32). – К., 2005. – С. 26.

6. Cassou R. La methode des Paillettes en plastique adoptee a la generalization de la coagulation. – 5 Congr. Internat.Reprod. Anim. Et Fecond. Artif., Trento, Italia, 1964, Vol. 6. – P. 450–456.

7. Nagase N., Niwa T. Studies on deep freezing technique for bull semen. Deep freezing of bull semen in tablet form – Jap. J. Anim. Reprod, – 1963. – P. 162–168.

8. Nagase N., Niwa T., Yamashita S., Irie S. Deep freezing of bull semen in concentrated pelleted form. III Fertility / V Congr. Internat. De / a Reprod. Anim. Et Fecond. Artif., Trento (Italia), 1964. – P. 503–506.

9. Simmit L. Konfektionierung von Bullensperma in Kunststoffrohren nach der Landshuter Methode / Tierartzl. Uaschau. 7 Intern. Congr., Munchen, 1972. – P. 207–209.

ВПЛИВ КОНВЕКТОРНОГО СПОСОБУ ЗАМОРОЖУВАННЯ НА ВИЖИВАНІСТЬ І ЗАПЛІДНЮЮЧУ ЗДАТНІСТЬ СПЕРМИ БУГАЇВ

Павленко Б. М., Інститут тваринництва НААН

Викладені результати досліджень щодо оптимізації режиму заморожування сперми в герметичних гранулах і розробки ефективних кріотехнічних засобів, на підставі яких вдосконалена технологія кріоконсервування сперми бугая, що

досліджена в науковому і широкому виробничому дослідах із позитивними результатами.

Ключові слова: сперма бугая, кріоконсервування, кріоконвектор.

CONVECTOR TECHNIQUE APPLICATION IMPACT ON FREEZING SEMEN PRESERVATION, SURVIVAL RATE AND FERTILIZING CAPACITY OF THE SERVICING BULL SEMEN

Pavlenko B.; Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on optimization procedure implementation for freezing semen preservation in the coated pellets. The efficient freezing semen preservation method was elaborated. Freezing preservation technique of servicing bull semen was improved on the basis of the above-mentioned optimization procedures. The high efficiency of the method implementation was validated under factory conditions. Farm scale trail and laboratory examination were executed. Positive results were obtained.

Key words: bull semen, freezing preservation, freezing convector.

УДК 636.4.082:575

СПЕЦИФІКА ГЕНОФОНДУ ВЕЛИКОЇ ЧОРНОЇ ПОРОДИ В ПОРІВНЯННІ З АЛЕЛОФОНДОМ ЛОКАЛЬНИХ ТА ЗНИКАЮЧИХ ПОРІД СВИНЕЙ УКРАЇНИ

І. Ф. Парасочка
Інститут тваринництва НААН

У статті розглянуті особливості імуногенетичної структури локальних та зникаючих порід свиней (великої чорної, миргородської, уельської, української степової рябої та української степової білої) за еритроцитарними антигенами груп крові. Представлено об'єктивну оцінку ступеня їх генетичної мінливості та визначено диференціацію алелофонду популяцій за лінійними дистанціями та їх імуногенетичну схожість. Попарне порівняння алелофонду великої чорної породи з локальними та зникаючими породами, що розводяться в Україні, виявило найменшу схожість з уельською породою (S=0,65).

Ключові слова: **генофонд, свині, локальна порода, зникаюча порода, алель, маркер, імуногенетична схожість, лінійна дистанція.**

Сучасні системи розведення тварин під впливом чинників економічного характеру і у зв'язку з недостатньою реалізацією програм інтенсифікації галузі, призводять до загрожуючої уніфікації, втрати генетичного різноманіття і багатьох, в першу чергу, локальних порід [1, 2]. Широке коло питань розв'язується імуногенетичними методами, особливо відносно генофонду локальних, аборигенних та зникаючих порід. Проблемі збереження цих порід надається велике значення, у зв'язку з тим, що вони мають високу резистентність, міцність конституції, високу тривалість продуктивної життєдіяльності, адаптованість до умов утримання та існування. Того ж часу інвентаризація генетичних ресурсів зумовлює необхідність всебічного вивчення генофонду малочисельних порід.

Головне завдання селекційної роботи, яка спрямована на збереження гено-