

признаки. Даны рекомендации по усовершенствованию и эффективному использованию их в системах скрещивания и гибридизации. Обращается внимание на уменьшение удельного веса отечественных генеалогических структур в породах крупной белой и ландрас на фоне возрастающей численности импортных генотипов. Указаны пути дальнейшей работы в процессе пороодообразования.

Ключевые слова: свиньи, порода, тип, линия, семья, многоплодие, масса гнезда поросят, воспроизводство, откормочные качества

GENETIC RESOURCES OF PIGS IN UKRAINE

V. Medvedev, A. Khvatov, A. Tishchenko, M. Khvatova, L. Rossoha, T. Strizak, The institute of animal science, UAAS

This article highlights the investigation results on the genetic resources of pigs in Ukraine based on the accountancy data. The formation of the various breeds was formulated. Qualitative & quantitative characters of the livestock were estimated. Growth index & production traits have been defined. The recommendations for directed breeding by crossing & hybridization have been presented. The attention has been focused on percentage decrease of the native breeds, compared with the imported ones. The large white & Landras breed quantity impaired greatly at present. The new methods have been invented to restore the native breed population & genetic improvement techniques were elaborated for implementation on the bred livestock farms.

Key words: pigs, breed, type, line, family, multiple fertilization, pig litter size, reproduction, fattening qualities.

УДК 636.2.082.453.5:639.3.041.2

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ЗАМОРАЖИВАНИЯ КЛЕТОК ЖИВОТНОГО И РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

А.Г. Мищенко, Л.В. Горбунов
Институт животноводства УААН

При помощи математической модели теплообмена определены параметры устройства для замораживания клеток животного и растительного происхождения, которое позволит реализовывать скорости и ускорения процесса охлаждения в диапазоне от 0,01 до 100 °C/мин и $\pm 2 \cdot 10^3$ °C/мин² как в полевых, так и в лабораторных условиях. Проведена апробация устройства при замораживании 10 эякулятов спермы быков и 5 эякулятов молока карпов по 5÷7 проб из каждого. Получена подвижность (абсолютная выживаемость) деконсервированных спермиев быка 50±5 % (235 %час). Показатели подвижности (абсолютной выживаемости) деконсервированной молока карпа составили 50÷60±5 % (55÷65 %час).

Ключевые слова: криоконсервация, устройство для замораживания, спермии быка, молока карпа

Существующие устройства, основанные на пассивном остывании термоблока в горловине сосуда Дьюара, для замораживания эмбрионов [1], а также растений и спермиев сельскохозяйственных животных [2], позволяют реализовывать скорости и ускорения процесса охлаждения биоматериала в диапазоне от 0,1 до 30 °C/мин и от -174 до 0 °C/мин² за счёт изменения параметров термоблоков и предварительного их охлаждения. Основными недостатками этих устройств являются малый диапазон скоростей охлаждения и невозможность реализации ускоренных режимов замораживания с

положительным знаком с целью проведения исследований по влиянию разных режимов замораживания на процессы кристаллизации и сохранность биообъекта при низкотемпературном консервировании.

Цель работы – создание устройства для замораживания клеток животного и растительного происхождения, при помощи которого реализуются скорости и ускорения процесса замораживания в диапазоне от 0,01 до 100 °С/мин и $\pm 2 \cdot 10^3$ °С/мин², соответственно как в полевых, так и в лабораторных условиях.

Материалы и методы исследований. Расчет параметров устройства для замораживания клеток животного и растительного происхождения проводили при помощи математической модели теплообмена [4]:

$$T = T_2 \left[\frac{x}{l} + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin\left(\frac{n\pi x}{L}\right)}{n} \cdot \exp\left(-\frac{n^2 \pi^2 \alpha^2 t}{L^2}\right) \right] \quad (3),$$

где T - текущая температура, T_2 - температура в начальный момент времени, x - расстояние до местоположения биообъекта, L - длина термоблока, α - коэффициент температуропроводности, t - время остывания.

Температуру образца измеряли хромель-копелевой термопарой (ХК - d=0,2 мм.). Режим снижения температуры регистрировали графопостроителем Н-307. Как контейнеры для содержания биоматериала применяли микротюбы объемом 0,5 и насадки от микропипетки объемом 0,25 мл. Инициацию роста внеклеточных кристаллов при замораживании исследуемого образца проводили по методике [5].

В качестве объекта исследования, на котором шла апробация предложенного устройства, служили спермии быка и карпа. Взятие, оценку и разбавление спермы быков проводили по Харьковской технологии [6]. Подготовку и разбавление спермы карпа криозащитной средой осуществляли по инструкции Е.И. Копейки (1986 г.) [7].

Полученные результаты статистически обрабатывали при помощи общепринятых методов [8].

Результаты исследований. Разработанное в ходе исследования устройство для замораживания клеток животного и растительного происхождения состоит из сосуда Дьюара (Х-34Б, Х-34А или Х-5), в котором установлен термоблок, изготовленный из нержавеющей стали, высотой 12 см с двойными стенками. При помощи держателя с фиксатором и ручки задается определенная глубина погружения термоблока в горловину сосуда Дьюара, вплоть до поверхности жидкого азота.

Изменение давления воздуха между стенками термоблока дает возможность задавать различную скорость замораживания биологического материала. Необходимое давление (разреженность) воздуха задается и фиксируется рабочим объемом шприца с вакуумной трубкой и фиксатором. За счет изменения давления воздуха, посредством его откачки или закачки, изменяется плотность и температуропроводность основы термоблока, что влияет на режим его охлаждения (рис. 1). Варьирование давления воздуха в процессе замораживания от 0,01 до 3 атм приводит к изменению средней скорости остывания термоблока от 0,01 до 4 °С/мин соответственно (рис. 2).

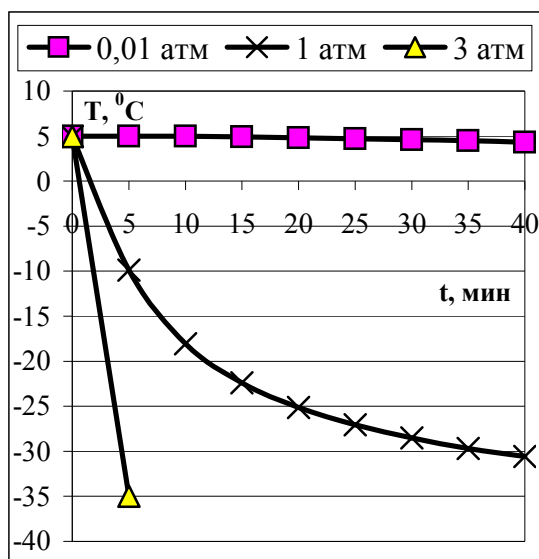


Рис. 2. Режимы охлаждения термоблока, в основании которого находится воздух, при давлении от 0,01 до 3 атм.

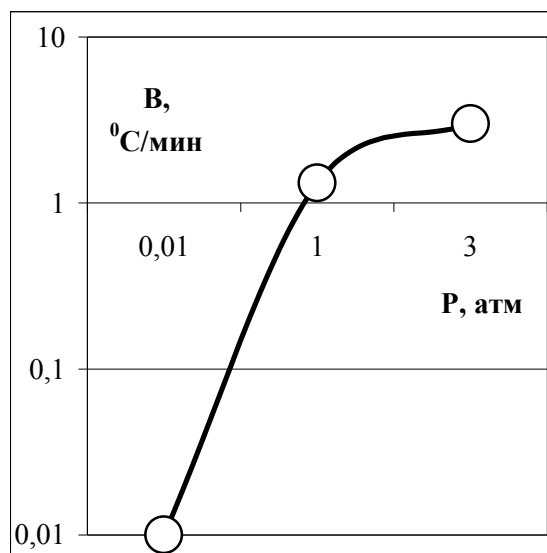


Рис. 3. Зависимость скорости охлаждения цилиндрического термоблока от давления воздуха

Устройство также возможно применять для замораживания клеток животного происхождения. Благодаря изменению степени открытости внешней и внутренней стенок и глубины погружения термоблока реализуются скорости и ускорения процесса замораживания до $100\text{ }^{\circ}\text{C/мин}$ и $\pm 2 \cdot 10^3\text{ }^{\circ}\text{C/мин}^2$. Для этого используются специально разработанные контейнеры для размещения биоматериала объемом 0,5 мл.

Предложенное устройство для замораживания биологического материала апробировано на спермиях быка и молок карпа. Для криоконсервирования спермиев быка со скоростью охлаждения $30\text{ }^{\circ}\text{C/мин}$ и характером ее изменения термоблок необходимо размещать на глубине 34 см в горловине сосуда Дьюара. При замораживании молок карпа со скоростью $20\text{ }^{\circ}\text{C/мин}$ в интервале температур от $+5$ до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ термоблок необходимо размещать на глубине 30 см в горловине сосуда Дьюара. В табл. 1 представлены показатели подвижности и абсолютной выживаемости спермиев быка и молок карпа, замороженные на данном устройстве.

1. Показатели качества биоматериала при замораживании

Величины подвижности и абсолютной выживаемости спермиев быка и молок карпа	Вид биообъекта		
	спермии быка	молоки карпа	
Начальная подвижность, %	80 ± 5	80 ± 5	90 ± 5
Количество эякулятов (проб)	10 (5÷7)	4 (5)	1 (6)
Подвижность, %	50 ± 5	50 ± 5	60 ± 5
Абсолютная выживаемость, %час	235	55	65

При замораживании растительных клеток со скоростью охлаждения $0,01\text{ }^{\circ}\text{C/мин}$ в интервале температур от -5 до $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ переходник соединяется со шприцом с целью установления требуемого давления воздуха (0,01 атм) между стенками. При установлении давления воздуха 0,1 атм на глубине погружения

термоблока 15 см устанавливается скорость теплообмена $0,2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$, необходимая для замораживания меристем, обработанных раствором криопротектора [9].

В настоящий момент ведется работа по криоконсервации меристемальных клеток культурных растений на данном устройстве. К этому времени заморожено черенки винограда (11 штук с предполагаемой влажностью 23 %, 10 штук – 32 %, 13 штук – 39 %), абрикоса (5 штук – 24 %), сливы (5 штук – 26 %) и яблони (5 шт – 31 %). Замораживание проводилось при охлаждении со скоростью $0,01\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ с выдержкой 2-х суток при заданной температуре ($-25\div-40\text{ }^{\circ}\text{C}$) и без. Вариация сохранности деконсервированного материала лежала в пределах от 0 до 20 %. Неповторяемость полученных результатов по нашему мнению является следствием того, что степень обезвоживания стеблей, которые имеют разные параметры (диаметр - $0,3\div0,7\text{ см}$, длина – $5\div10\text{ см}$), и самих почек отличается.

Выводы:

1. Разработано устройство для замораживания биологического материала, в основании которого лежит воздух при разном давлении. Данное устройство позволяет реализовывать скорости и ускорения процесса замораживания в диапазоне от $0,01$ до $100\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ и $\pm 2\cdot 10^3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}^2$ как в полевых, так и в лабораторных условиях.

2. При замораживании спермиев быка на предложенном устройстве со скоростью охлаждения $30\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ в интервале температур от 0 до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ получена подвижность (абсолютная выживаемость) деконсервированного материала $50\pm 0,5$ баллов (235 %час). При замораживании молока карпа со скоростью охлаждения $20\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ в интервале температур от $+5$ до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ получена подвижность (абсолютная выживаемость) деконсервированного материала $50\pm 5\text{ \%}$ (55 %час) и $60\pm 5\text{ \%}$ (65 %час).

Библиографический список

1. Пат. 60161А Україна, МКВ F 25 D 3/10. Установка для заморожування біологічних об'єктів та спосіб ініціації кристалоутворення в кріозахисному середовищі: Пат. 60161А Україна, МКВ F 25 D 3/10 /Л.В. Горбунов, В.І. Кабачний, Т.С. Антоненко, Н.І. Горбунова, Т.О. Томаровська (Україна); Національна фармацевтична академія України. - №2003021337; Заявл. 14.02.2003; Опубл. 15.09.2003; Бюл. №9.- 2 с.

2. Пат. 6417 Україна, МКВ 7 F25 D 3/10. Пристрій для кріоконсервації біологічних об'єктів тваринного та рослинного походження: Пат. 6417 Україна, МКВ 7 F25D3/10 /Л.В. Горбунов, В.І. Кабачний, Н.І. Горбунова, М.В. Гринжевський (Україна); Національний фармацевтичний університет. - №20040706332; Заявл. 29.07.2004; Опубл. 16.05.2005; Бюл. №5.- 10 с.

3. Towill L.E., Forsline P.L. Cryopreservation sour cherry (*Prunus cerasus* L.) using a dormant vegetative bud method // Cryo-letters. – 1999. - № 20.-Р. 215-222.

4. Джеффрис Г., Свирлс Б. Методы математической физики. – Москва: Мир, 1970. - 270 с.

5. Міщенко А. Г., Горбунов Л. В. Спосіб ініціації кристалів при заморожуванні спермій бугаїв // Науково-технічний бюлетень ІТ УААН - 2006.- №93.-Х.- С. 51-57.

6. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей: Методические рекомендации; Под ред. проф. Ф.И. Осташко.-Х.-1990. - 47с.

7.Копейка Е.Ф. Инструкция по низкотемпературной консервации спермы карпа: Инструкция рассмотрена и одобрена Ученым Советом ИПКиК АН УССР (протокол №8 от 18.07.86.) и Ученым Советом ВНИИПРХ (протокол №13 от 21.07.86.), инструкция утверждена заместителем министра рыбного хозяйства СССР Б.Д. Монаковым 05.08.86. – Москва, 1986. – 9 с.

8.Лакин Г.Ф. Биометрия. - Москва: Высшая школа, 1990. - 310 с.

9.Zhao Y., Wu Y., Engelmann F., Zhou M. Cryopreservation of axillary buds of grape (*Vitis vinifera*) in vitro plantlets // Cryo-letters. – 2001. - № 22. P. 321-328.

ПРИСТРІЙ ДЛЯ ЗАМОРОЖУВАННЯ КЛІТИН ТВАРИННОГО І РОСЛИННОГО ПОХОДЖЕННЯ

А.Г. Міщенко, Л.В. Горбунов, Інститут тваринництва УААН. За допомогою математичного моделювання визначено параметри пристрою для заморожування клітин тваринного і рослинного походження, що дає змогу реалізовувати швидкості і прискорення процесу охолодження у діапазоні від 0,01 до 100 °C/хв і $\pm 2 \cdot 10^3$ °C/хв² як у польових, так і у лабораторних умовах. Проведено апробацію пристрою при заморожуванні 10 еякулятів сперми бугаїв і 5 еякулятів молока коропів по 5÷7 проб з кожного. Отримано рухливість (абсолютну виживаність) деконсервованих спермій бугая 50±5 % (235 %-год). Показники рухливості (абсолютної виживаності) деконсервованої молока коропу становлять 50÷60±5 % (55÷65 %-год).

Ключові слова: кріоконсервація, пристрій для заморожування, спермії бугая, молока коропу

THE DEVICE FOR FREEZING CELLS OF THE ANIMAL AND VEGETABLE ORIGIN

A. Mishchenko, L. Gorbunov, The institute of animal science, UAAS

This article highlights the investigation results on mathematic modeling of the device for freezing animal & vegetable cells. The device permits to accelerate the speed of freezing within the range from 0,01 to 100 °C $\pm 2 \cdot 10^3$ °C per minute. The device can be applied both for the field tests & laboratory examinations. The device has been tested by freezing 10 ejaculates of the bull semen & 5 ejaculates of carp milt. 5-7 samples were extracted from each animal. Motility rate of deconserved bull semen amounted 50±5% or 235% per hour. Motility rate of deconserved carp milt constituted 50-60±5% or 55-65% per hour.

Key words: cryopreservation, freezing device, bull semen, carp milt