

КУКУРУЗНО-СОЕВЫЙ СИЛОС КАК КОРМ, СПОСОБСТВУЮЩИЙ УЛУЧШЕНИЮ ФУНКЦИИ ВОСПРОИЗВОДСТВА У КОРОВ

И.В.Гноевой

Институт животноводства УААН

Н.Б.Бурд, У.В.Гавриш

Национальный фармацевтический университет

Исследована степень осеменения и отела коров в связи со скармливанием им кукурузно-соевого силоса. Установлено, что замена в их рационах в период раздоя кукурузного силоса на кукурузно-соевый способствовала уменьшению перегулов коров на 11,9%, сервис-периода – на 17 дней. Характер кормления не влиял негативно на количество новорожденных телят и состояние их здоровья.

CORN-SOYA SILAGE AS THE FODDER THAT URGES THE COWS REPRODUCTABILITY IMPROVEMENT

I.V.Gnoyeviy

The institute of animal science UAAS

N.B.Burd, U.V.Gavrish

The national pharmaceutical university

The cows calving and insemination rate was investigated in connection with corn-soya silage feeding. It was established that the substitution of corn silo for maize-soya mixture resulted in the sag of the cows mating rate by 11,9% & the dwindle of the service-period to 17 days. Such replacement in their diets was practiced in the yield spell. The feeding manner did not affect negatively the new-born calves quantity and their health condition.

УДК: 57.08:636.2:631.14

ПІДВИЩЕННЯ ЕФЕКТИВНОСТІ КРІОБІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ОПЕРАЦІЙ

Л.В.Горбунов

Інститут тваринництва УААН

Запропоновано спосіб оцінки технології кріоконсервації, що підвищує її ефективність у 2-10 разів. Представлено формули, на основі яких розроблено алгоритм і програми побудови профілів, що відбивають втрати життєздатності біооб'єкта на окремих етапах проведення кріоконсервації сперматозоїдів, ооцитів та ембріонів тварин.

кріоконсервація, біооб'єкт, виживаність, спосіб оцінки

У теперішній час емпіричний підхід до вирішення кріобіотехнологічних задач практично вичерпав свій потенціал. Використання методів математичного моделювання дає можливість проведення багатофакторного дослідження, що на порядок підвищує його ефективність [1]. При цьому, можливість вирішення поставленої задачі й оптимальні умови її реалізації визначаються у ході проведення пошукових дослідів. Побудова як аналітичної, так і регресивної залежності цільової функції від визначальних її параметрів значимо спрощується при зниженні випадкової - m і систематичної - Δ похибки встановлення стану біооб'єкта на різних етапах проведення технології кріоконсервації. Використання методу відеофіксації при

оцінці стану біооб'єкта сприяє зменшенню систематичної похибки до необхідного рівня ($\Delta < 0,8m$) [7].

Метою даної роботи є розробка способу підвищення ефективності проведення кріобіотехнологічного дослідження більш ніж у два рази за допомогою значимого зниження часу і матеріалу, що витрачається, необхідного для одержання достовірного результату.

Матеріали та методи дослідження. В експериментах використовували ембріони на стадіях розвитку від пізньої морули до розширеної бластоцисти. Оцінка життєздатності ембріонів проводилась морфологічно та за результатами короткострокового культивування *in vitro* до наступної стадії розвитку [5]. Заморожували завдяки пристрою, який пасивно охолоджувався у горловині посудини Дьюара Х-34Б [6]. Також об'єктом досліджень була свіжоотримана розведена сперма здорових тварин з рівнем збереженості біля 80%. Підготовка сперми до експериментів проводилась згідно з Харківською технологією асептичного взяття та кріоконсервації сперми бугаїв [4, 8]. Отримані результати статистично опрацьовувалися за загальноприйнятими методиками.

Результати та обговорення. Підвищити ефективність проведення дослідження у 2÷10 разів можливо при виконанні наступних завдань:

- встановлення ефективності реалізації окремих елементів біотехнологічного ланцюга за допомогою переходу до відносних показників - виживаності біооб'єкта, необхідного для виявлення його втрат $\Phi(1-5)$ [2];
- зменшення обсягу вибірки у 2÷5 разів за рахунок використання кількісних методів оцінки життєздатності біооб'єкта за умови одержання достовірного результату $\Phi(6,7)$ [3];
- зниження систематичної похибки оцінки життєздатності біооб'єкта у 2÷5 разів на основі застосування методів відеофіксації;
- визначення оптимальних умов рішення поставленої задачі на дослідження за допомогою моделювання експерименту в ході проведення пошукових дослідів [1];
- проведення багатофакторного дослідження за допомогою методу "крутого сходження" [1].

Технологія кріоконсервації сперматозоїдів, ооцитів та ембріонів людини і тварин складається з ряду етапів: розвиток в умовах *in vitro* нативного і деконсервованого біооб'єкта, насичення і виведення кріопротектора, заморожування і відтавання. Для оптимізації даних етапів з урахуванням виключення біологічної різноякісності біооб'єкта (виконання задачі 1 і 2) рекомендується використовувати наступні формули:

$$L_i = 100 - W_i \quad (1), \quad W_i = \left(\frac{V_i}{V_{i-1}} \right) \cdot 100 \quad (2), \quad v_i = \left(\frac{\sum_{j=1}^k S_j \cdot n_j}{\sum_{j=1}^k n_j} \right) \cdot 100 \quad (3), \quad S_j = \left(\frac{n_j}{n} \right) \cdot 100, \quad (4)$$

де: L_i - втрати життєздатності біооб'єкта на i -ому етапі операції кріоконсервації, W_i - виживаність біооб'єкта на i -ому етапі, V_i -

життєздатність біооб'єкта на i -ому етапі, S_j - схоронність нативного об'єкту j -тої якості в умовах *in vitro* (k - число різних якісних станів біооб'єкта, якщо $k=2$ - якісний метод оцінки, $k=2$ - кількісний), n_j - кількість біооб'єкта j -тої якості.

Побудова "профілю" досліджуваної технології проводиться по $7 \div 10$ показниками виживаності біооб'єкта на різних етапах. Застосування спеціально розроблених прикладних програм спрощує процедуру обчислення показників життєздатності і виживаності біооб'єкта, представляючи їх у графічному виді, що дає можливість знайти "слабкі ланки" технології, що розроблюється.

Використання методів відеофіксації біооб'єкта (реалізація задачі 3) дозволяє зменшити систематичну погрішність оцінки його життєздатності нижче випадкової ($\theta < 0,8m$). Відповідь на основне питання дослідження про розв'язність поставленої задачі (виконання задачі 4) можлива за допомогою визначення мінімальної кількості вимірів, що забезпечує достовірний результат як в одній окремо взятій вибірці (n_0), так і у двох порівнюваних (n_Δ):

$$n_0 = (t \cdot C_v / p)^2 \quad (6), \quad n_\Delta = (t \cdot C_v / \alpha)^2, \quad \alpha = \frac{\Delta M}{M} \cdot 100\% \quad (7)$$

де: t - критерій Стюдента для $n \geq 30$ {1,00; 1,66; 1,98; 2,63}, рівні надійності P {0,68; 0,90; 0,95; 0,99} при допущених величинах погрішності обчислення p {0,32; 0,10; 0,05; 0,01}, відповідно; C_v - коефіцієнт варіації вибірки(ок); α - відносний показник розходження середніх величин порівнюваних вибірок.

Значне зниження часу і матеріалу, що витрачається на одержання достовірного результату, забезпечується при використанні аналітичного чи графічного (векторного рішення) методу пошуку оптимуму багатопараметричної функції, реалізованого на кожному етапі проведення експерименту (виконання задачі 5).

Використання кількісного методу статистичної обробки оцінки життєздатності ембріонів ссавців, дає можливість знизити кількість вимірів більш ніж у десять разів порівняно з якісним методом, за рахунок зменшення величини помилки середньоквадратичного відхилення за умови одержання достовірного результату (табл.1).

Життєздатність свіжоотриманих ембріонів хорошої ($n=5$) і відмінної ($n=5$) якості становить $90 \pm 1,7\%$, тоді як при традиційному якісному способі оцінки збереженість приймається за сто відсотків ($100 \pm 0\%$).

Оскільки початкова життєздатність ембріонів, особливо хорошої, а тим більше задовільної якості, не може відповідати 100%, то запропонований метод оцінки в більшому ступені відповідає реальності.

Після кріоконсервації ембріонів їхня збереженість становила $90 \pm 9,5\%$, а життєздатність $88,5 \pm 1,8\%$, для 5 відмінної, 4 хорошої і 1 задовільної якості.

1. Способи оцінки технології кріоконсервації ембріонів великої рогатої худоби за допомогою різних методів статистичного аналізу

Показники біооб'єкта	Якісний		Кількісний			
	Збереженість		Життєздатність		Вживаність	
	n_0	$M \pm m$ для $n=10$	n_0	$M \pm m$ для $n=10$	n_0	$M \pm m$ для $n=10$
Свіжоотриманого	1	100 ± 0	4	$90 \pm 1,7$	–	–
Відталого	178	$90 \pm 9,5$	5	$88,5 \pm 1,8$	6	$98,3 \pm 1,5$
Культивованого	400	$80 \pm 12,7$	5	$86 \pm 1,8$	7	$96,6 \pm 1,6$

Примітка. n_0 – кількість вимірів необхідна для одержання достовірного середнього значення; n – кількість ембріонів у даному досліді, M – середня величина показника; m – помилка середньої величини.

Зниження помилки середньоквадратичного відхилення - m майже у п'ять разів, дає змогу більш ніж у десять разів знизити кількість використовуваних ембріонів для одержання достовірного результату у порівнянні з загальноприйнятими - якісними методами оцінки життєздатності і статистичної обробки її усередненої величини [3].

Оцінка ефективності технології кріоконсервації за загальноприйнятим методом відповідає величині збереженості $90 \pm 9,5\%$, що у свою чергу не залежить від початкової життєздатності біооб'єкта, тобто співвідношення числа ембріонів, що мають відмінну і хорошу якість. Перехід до відносних показників – виживаності, визначеної як співвідношення рівня життєздатності біооб'єкта після проведення визначеної біотехнологічної операції до величини життєздатності до її виконання, дає можливість виключити вплив різноякісності біооб'єкта на оцінку ефективності обраної технології. Виживаність даної групи ембріонів становила $98,3 \pm 2,5\%$.

Після культивування деконсервованих ембріонів збереженість становила $80 \pm 12,7\%$, а життєздатність - $86 \pm 1,8\%$ і виживаність - $96,6 \pm 2,6\%$, для 4 ембріонів відмінної якості, 4 хорошої і 3 задовільної. Близькі значення величин виживаності деконсервованих $98,3 \pm 2,5\%$ і культивованих $96,6 \pm 2,6\%$ ембріонів свідчить про відносно однаковий рівень технологій кріоконсервації і культивування.

При кріоконсервації сперматозоїдів тварин спостерігається подібна закономірність. Для одержання вірогідності середнього значення окремої вибірки необхідно провести від кількох сотень до декількох тисяч вимірів відповідно до загальноприйнятого способу визначення виживаності і проведення наступної статистичної обробки, де за одиницю оцінки узят окрема спермодоза [8] (табл. 2). Якщо ж за одиницю оцінки статистичного показника життєздатності взяти спермії, а їхня кількість у спермодозі становить від 10 до 20 мільйонів, і застосувати формули якісного статистичного аналізу, то досить усього однієї спермодози для одержання достовірного результату.

Точність оцінки життєздатності сперміїв, при однократному вимірі лімітується точністю оцінки їхньої рухливості, що складає 0,5 бала (5%).

2. Способи оцінки технології кріоконсервації спермійів бугаїв

Показники біоб'єкта	Кількісний, %		Якісний, %			
	збереженість		життєздатність		виживаність	
	n_o	$M \pm m$ для $n=10$	n_o	$M \pm m$ для $n=10$	n_o	$M \pm m$ для $n=10$
Свіжоотриманого	400	$80 \pm 0,5$	1	$80 \pm 0,01$	—	—
Відталого	1067	$40 \pm 0,5$	1	$40 \pm 0,01$	1	$50 \pm 0,01$

Примітка: n_o - кількість спермодоз необхідних для одержання достовірного середнього значення; n - кількість спермодоз у даному досліді, M - середня величина показника рухливості спермійів; m - помилка середньої величини.

Для підвищення точності визначення до $1 \div 2\%$ нами використовується відеозапис оцінюваної проби, за допомогою якого можна в будь-який час аналізувати необхідну кількість спермодоз і якщо це необхідно з затримкою динаміки руху спермійів у часі. Подібна реєстрація відеозображень спермійів і ембріонів дає можливість не тільки підвищити точність оцінки досліджуваних біотехнологічних параметрів, але й зберегти їх у пам'яті ЕОМ, попередньо відцифрувавши відеозображення за допомогою спеціальних прикладних програм.

Висновок. Підвищення ефективності проведення кріобіотехнологічного дослідження у 2-10 разів можливе за допомогою розробленого алгоритму, що відображає втрати життєздатності біоб'єкта на окремих етапах проведення кріоконсервації сперматозоїдів, ооцитів та ембріонів тварин.

Бібліографічний список

1. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Е.В. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий. - М.: Наука, 1976.- 279 с.
2. Горбунов Л.В. Кількісний спосіб оцінки життєздатності ембріонів ссавців //Вісник Білоцерківського державного аграрного університету. - Біла Церква.- 2001.- №17.- С. 30-34
3. Горбунов Л.В. Определение минимального количества измерений, обеспечивающего достоверный научный результат // Агроэкологический журнал. – Київ. – 2002. – Вип. 1. – С. 69-71.
4. Осташко Ф.И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота. - К.: Аграрна наука, 1995. – 182 с.
5. Оценка качества эмбрионов крупного рогатого скота: Руководство для работы по пересадке эмбрионов / Кауффольд П., Тамм И., Шихов И.Я. и др. – М.: Агропромиздат, 1990. – 56 с.
6. Пат. 60161А Україна, МКВ F 25 D 3/10. Установка для заморозування біологічних об'єктів та спосіб ініціації кристалоутворення в кріозахисному середовищі: Пат. 60161А Україна, МКВ F 25 D 3/10/ Горбунов Л.В., Кабачний В.І., Антоненко Т.С., Горбунова Н.І., Томаровська Т.О. (Україна); Національна фармацевтична академія України. - №2003021337; Заявл. 14.02.2003; Опубл. 15.09.2003; Бюл. №9.- 2 с.
7. Прикладная статистика. Правила определения оценки и доверительных границ для параметров нормального распределения. ГОСТ 8.207-76.

8. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей: Методические рекомендации /под ред. проф. Ф.И. Осташко.- Х.-1990. 47с.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ КРИОБИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ОПЕРАЦИЙ

Л.В.Горбунов

Институт животноводства УААН

Предложен способ оценки технологии криоконсервации, повышающий ее эффективность в 2-10 раз. Представлены формулы на основе которых разработан алгоритм и программы построения профилей, отражающих потери жизнеспособности биообъекта на отдельных этапах проведения криоконсервации сперматозоидов, ооцитов и эмбрионов животных.

CRYOBIOLOGICAL TECHNIQUES EFFICIENCY PERFECTION.

L.V. Gorbunov

The institute of animal science UAAS

Cryopreservation technology evaluation method was elaborated. Cryo-conservation efficiency increases by 2-10 times via this technique application. The formulae were presented and on this basis algorithm was derived and the profiles formation programs were developed. These formulae define the biological subject viability losses at separate animal embryos, oocytes and semen cryoconservation stages.

УДК 636.082.12:211

МІСЦЕ БІОТЕХНОЛОГІЇ В ЄВРОПЕЙСЬКІЙ НАУЦІ ТА СВІТОВОМУ ТВАРИННИЦТВІ

В.Д.Гуменний, М.В.Козловська*, В.О.Волівач

Інститут тваринництва центральних районів УААН

За пріоритетами Шостої Рамкової програми Європейського Союзу з науково-технологічних досліджень, питання біотехнології займають провідне місце. Розвиток цієї науки в значній мірі зумовлює стрімкий генетичний прогрес у м'ясних породах північноамериканської селекції та провідній молочній породі світу – голштинській. При аналізі національної бази даних з походження плідників, виявлена перевага голштинів з абсолютною більшістю ембріотрансплантатів.

біотехнологія, порода, бугай-плідник, ембріотрансплантат

*Багато людей кажуть, що вони
скоріше помруть, ніж зміняться...
і переважно-таки помирають.*

Марк Твен

Європейська Комісія спільних досліджень (ECCR) прийняла у 2002 р. Шосту Рамкову Програму (ЕС's Sixth Framework Programme – FP6) науково-технологічних розробок та їх демонстрації протягом періоду 2002-2006 рр., затверджену постановою 2321/2002. Методологія проекту передбачає такий розподіл основних наукових напрямків (Scientific Panel): хімія, суспільні науки, економічні, інженерні науки, зовнішнє середовище та гео-

* Науковий керівник – доктор с.-г. наук В.І. Барабаш