ENERGY PROVISION IN VARIOUS YOUNG BULLS BREEDS ORGANISM DURING DEVELOPMENTAL STAGE

Mikhalchenko S., institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on chronological age and breed-conditioned energy provision of the purebred young bull organism. The bulls belong to Simmental, Black-and-White, Red-steppe, Lebedin, Angler and Grey Ukrainian breeds. Energy provision was stipulated by carbohydrates-fat metabolites exchange in blood by intensive growing up to the top live weight (LW). Simmental young bulls proved to advantage the yearlings at the final growing stage. Intensive lipo-genesis process actuates 3-4-months-retarded in comparison with Red Steppe and other breeds.

Key words: breed, young bulls, developmental stage, growth rate, blood, metabolites.

УДК 636.2.082.453.5

КОНВЕКТОРНЫЙ СПОСОБ ЗАМОРАЖИВАНИЯ СПЕРМЫ В ОБЛИЦОВАННЫХ ГРАНУЛАХ

Б. М. Павленко
Институт животноводства НААН

Изложены результаты исследований по разаработке, изучению и практическому использованию портативного криоконвектора для замораживания спермодоз в облицованных гранулах. Показана высокая эффективность данной разработки в условиях производства при создании банка замороженной спермы быков в облицованных гранулах.

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

На сохранение морфоструктуры и физиологической полноценности половых клеток при замораживании влияет скорость снижения температуры объекта. Скорость охлаждения биологической системы «половая клетка – криозащитная среда» должна быть такой, чтобы можно было избежать резких осмотических градиентов, отрицательно влияющих на целостность тонких цитоструктур, создать условия для максимальной дегидратации клетки до начала фазового перехода «вода-лёд» и таким образом прекратить в ней внутриклеточное образование льда [1-9]. Эти условия можно создать для спермиев понижением температуры со скоростью 18-32 ^{0}С/мин под защитой углевод-глицерин-желточной криопротекторной среды [11, 12].

Анализ закономерностей теплообмена между объектом, который замораживают, и хладагентом показывает, что оптимальные условия для получения наиболее высоких структурно-функциональных показателей качества спермы после её деконсервирования создаются при равномерном взаимодействии хладагента заданной температуры со всей поверхностью каждой спермодозы, что может быть достигнуто внесением разбавленной спермы по 0,1 мл в лунки блока сухого льда, поддерживающего в зоне контакта со спермой постоянную температуру (- 79 ^{0}С) [10, 11]. Однако эти условия трудно выполнить при замораживании спермодоз, сосредоточенных в контейнерах крупными сериями, с использованием в качестве криоагента – жидкого азота, поскольку известные способы их замораживания базируются на принципе пассивной конвекции холода

[3, 5, 10, 12]. Это приводит к инерционности, дестабилизации режима охлаждения в отдельных спермодозах и ухудшению морфофункциональных свойств спермиев. Отклонение же от оптимальных показателей качества деконсервированной спермы в отдельных спермодозах является причиной выбраковки всей серии глубокозамороженной спермы из-за несоответствия её требованиям стандарта.

Цель работы – оптимизация условий криоконсервирования и разработка эффективного метода и криотехнических средств замораживания спермы быка в облицованных гранулах; повышение выживаемости и оплодотворяющей способности деконсервированной спермы.

Материалы и методы исследований. Исследования проводили на базе племстанции СК «Восток» Изюмского района Харьковской области. Для опытов использовали сперму клинически здоровых быков в количестве 8 голов, с подвижностью спермиев не ниже 8,0 баллов и концентрацией половых клеток не менее 0,8 млрд. в 1 мл эякулята. Сперму от быков получали асептическим способом по Харьковской технологии. Объём эякулята, концентрацию половых клеток, подвижность, выживаемость и оплодотворяющую способность спермиев определяли согласно действующим Госстандартам для нативной и замороженной спермы быков. В качестве криоконсерванта использовали концентрированную, стерильную, долгохранящуюся сахарозо-глицерин-желточную среду №1 (желток-25 мл, сахароза-8,0 г и глицерин-5,0 мл). Непосредственно перед использованием концентрированную среду растворяли дистиллированной водой до объёма 10 мл. Концентрированную желточную среду добавляли к сперме в соотношении 1:1. Спустя 3-5 мин экспозиции, повторно разбавляли сперму безжелточной сахарозо-глицерин-цитратной средой (сахароза-6,0 г, глицерин-5,0 мл, цитрат натрия-1,4 г, вода дистиллированная – до 100 мл). Конечная цель разбавления спермы указанными средами составила 1:10. Разбавленная сперма поступала в полимерную трубку по закрытой системе с последующим автоматическим разделением её на отдельные спермодозы, объёмом 0,25 мл с одновременной их герметизацией и последующей эквилибрацией по Харьковской технологии.

Для замораживания спермы использовали разработанный нами криоконвектор (рис. 1).

В рабочем режиме он автоматически создаёт поток холодного газообразного азота по внутреннему каналу каждого контейнера с облицованными гранулами, обеспечивая равнозначное дозированное отведение тепла от каждой спермодозы во время замораживания.

Устройство работает следующим образом. После погружения в жидкий азот (2) контейнера (3) с испарителем (8) и герметичного соединения его (как показано на рис. 1) с горловиной сосуда (1) в сосуде начинает бурно кипеть жидкий азот, создавая дополнительное давление над жидкостью. При этом единственным путём для выхода газообразного азота во внешнюю среду являются зазор между испарителем (8) и внешней стенкой контейнера (3), внутренняя ёмкость контейнера с герметизированными спермодозами (5) и калиброванное отверстие (7), которое регулирует скорость его потока. Газообразный азот под давлением перемещается между спермодозами, создавая соответствующие условия для активной конвекции и равномерного теплообмена внутри криоконвектора. Отработанные пары азота с более высокой температурой под давлением кипящего азота удаляются во внешнюю среду сквозь калиброванное отверстие. По мере уравновешивания температурного градиента интенсивность парообразования в ёмкости снижается почти до полного прекращения, при этом

обеспечивается рациональное использование жидкого азота и максимально повышается коэффициент полезного действия энергии холода.

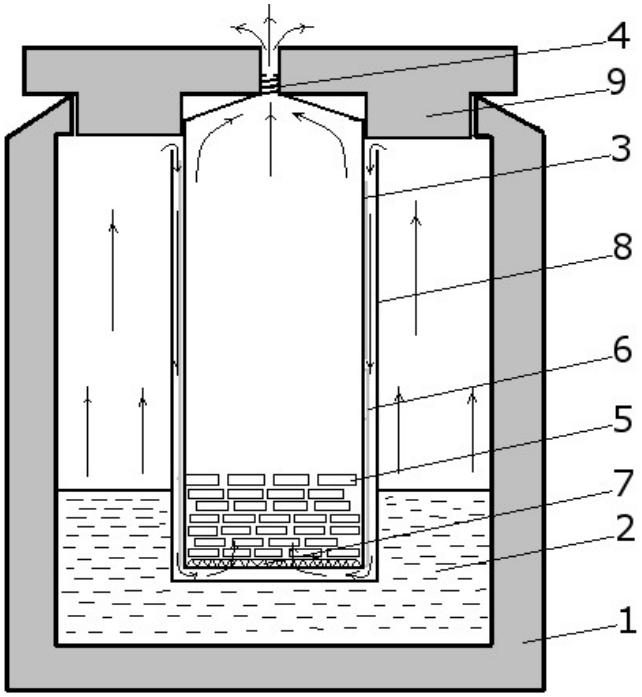


Рис. 1 Схема криоконвектора для замораживания спермы:
1 – сосуд Дюара; 2 – жидкий азот; 3 – контейнер; 4 – жиклёр; 5 – спермодозы; 6 – гофрированная прокладка; 7 – пористый держатель спермодоз; 8 – цельнометаллический испаритель; 9 – герметичная пробка.

Для изучения эффективности устройства в действии, спермодозы облицованные плёночной оболочкой, загружали в контейнер с испарителем и замораживали. Скорость снижения температуры регистрировали самописцем с помощью медь-константановых термопар, датчики которых помещали в спермодозы. Размораживали сперму в водяной бане при температуре 40 ^{0}C через 24 часа после криоконсервирования. При этом изучали зависимость скорости охлаждения спермодоз от места их расположения в контейнере, влияние замораживания на качественные показатели спермы после деконсервирования при разных условиях загрузки контейнера спермодозами и определяли эффективность устройства по сравнению с замораживанием спермодоз в контейнерах без дополнительной вентиляции холодом.

Все сравнительные исследования спермы проводили на разделённых эякулятах. Оплодотворяющую способность изучали на отобранных группах животных. Деконсервированную сперму вводили интрацервикально мано- или ректоцервикальным методами. Полученные результаты статистически обрабатывали по методу Стъюдента.

Результаты исследований. Изучали влияние интенсивности потоков газообразного азота через контейнер со спермодозами на морфо-физиологические показатели качества спермы после её замораживания-оттаивания, используя жиклёры разных диаметров (0.1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 мм). Установлено, что наиболее высокие качественные показатели спермы получены при использовании контейнера с жиклёром диаметром 1 мм, результаты указаны в таблице 1.

Таблица 1

Влияние диаметра жиклеров в контейнерах на биологические показатели спермы быков (M±m) при её замораживании-оттаивании (n=10)

Диаметр жиклеров, мм	Активность спермы перед замораживанием, балы	Активность спермы после замораживания – оттаивания, баллы	Выживаемость спермы при 38 ^{0}C, часы	Абсолютная выживаемость спермы (Sa), усл. ед.
0,1	6,1±0,01	3,5±0,05	5,0±0,5	10±1,1
0,5	6,1±0,01	3,8±0,02	5,0±0,05	12±1,2
1,0	6,1±0,01	4,2±0,01***	6,5±0,2***	14±2,0***
1,5	6,1±0,01	4,0±0,01	6.0±0,5	13,5±1,1
2,0	6,1±0,01	3,0±0,01	5,0±0,3	13±1,3
Контроль	6,1+0,01	3,3+0,05	5,0+0,25	12,2+1,1

*Примечание. p<0,001; *** - показатели спермы, замороженной в криоконвекторе с диаметром жиклера 1 мм, достоверно лучше в сравнении с жиклерами иных диаметров.*

В данном случае после замораживания-оттаивания активность спермы составляла 4,2 балла, выживаемость при 38 ^{0}C – 6,5 часов и показатель абсолютной выживаемости – 14 единиц, в то время, как в контроле (прямое погружение контейнера со спермодозами в жидкий азот) эти показатели составляли 3,3 балла, 5.0 часов т 12,2 единицы соответственно, что достоверно было ниже (p<0,001) в сравнении с замораживанием спермы в контейнере с жиклёром диаметром 1 мм.

При изучении эффективности криоконвекторного способа определяли зависимость скорости охлаждения спермодоз и качественных показателей спермы от их местоположения в контейнере, влияние разных уровней загрузки контейнера спермодозами на выживаемость деконсервированной спермы и её оплодотворяющую способность.

На рис. 2 показано изменение во времени температуры в отдельных спермодозах, расположенных вдоль оси симметрии контейнера среди остальных спермодоз в его нижней, центральной и верхней зонах.

Анализ графиков снижения температуры в спермодозах, размещённых в разных частях контейнера показал, что падение температуры не зависело от их расположения и протекало со скоростью 18-20 ^{0}с за первую минуту; 20-25 ^{0}C – за вторую; 28-32 ^{0}C – за третью, а в целом температура в спермодозах, размещённых в нижней, центральной, верхней и боковых зонах контейнера снижалась от 0 до -79 ^{0}C на протяжении 3-3,5 мин. При этом показатели качества спермы в исследуемых спермодозах не имели отклонений и составляли: по активности – 5,1 балла, по выживаемости половых клеток при 38 ^{0}C – 8,5 ч и по показателю абсолютной выживаемости – 28,8 усл. единиц в среднем (n=10). Изучаемые показатели активности, выживаемости и абсолютной выживаемости спермиев во всех исследуемых пробах не зависели от количества спермодоз, размещённых в контейнерах для замораживания (50, 100, 150, 200).

График 1 (опыт)

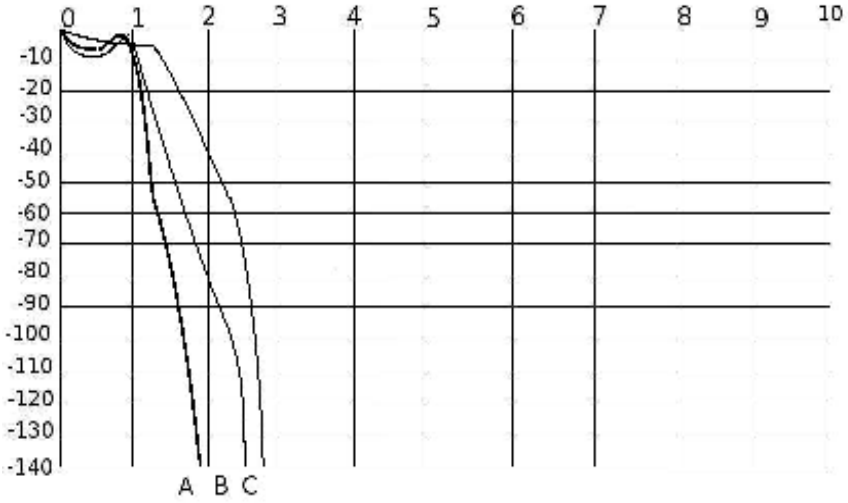


График 2 (контроль)

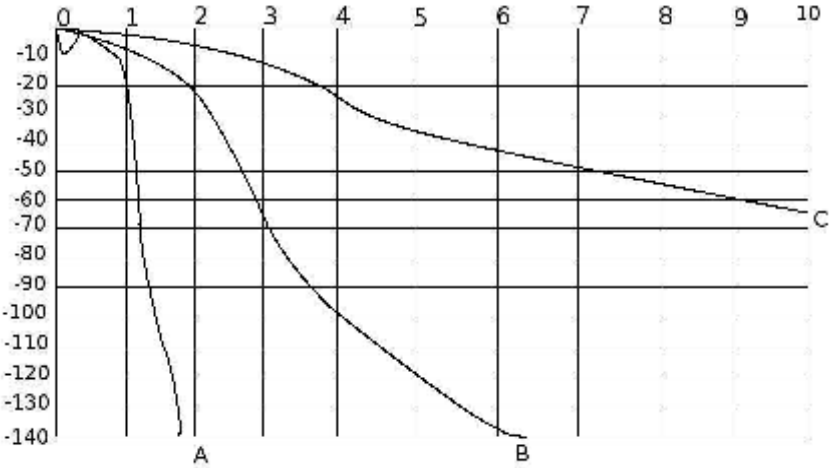


Рис. 2 Зависимость скорости охлаждения спермодоз от их расположения в контейнере: *А – верхнее; В – ценральное; С – нижнее.*

Эффективность предложенного кориоконвекторного способа сравнивали с методом замораживания спермы прямым погружением её непосредственно в жидкий азот цельнометаллического контейнера, заполненного облицованными гранулами без их дополнительной вентиляции охлаждённым газообразным азотом. Сравнительные результаты этих исследований приведены в табл. 2.

Таблица 2

Влияние криоконвекторного метода замораживания герметизированных спермодоз на выживаемость спермиев после деконсервирования (n=12)

Варианты исследований	Активность спермы, балы			Выживаемость спермиев при 38 ^{0}С, ч	Абсолютная выживаемость, усл. ед.
	При получении нативной спермы	До замораживания, разбавленная	После размораживания		
Опыт	8,0±0,1	7,0±0,1	5,1±0,1	12±1,1	22,1±1,2
Контроль	8,0±0,1	7,0±0,1	4,5±0,1	8,1±1,0	16,8±1,8

Результаты свидетельствуют, что использование предложенной модели устройства позволяет получить более высокие показатели качества спермы в сравнении с контролем: по активности после размораживания увеличивается на 0,6 баллов, выживаемость при 38 ^{0}С – на 3,9 ч и по показателю абсолютной выживаемости – на 5,3 усл. единицы.

Необходимо отметить, что при использовании криоконвекторного метода замораживания спермы достигается равномерное охлаждение каждой спермодозы, чем предотвращаются расхождения в показателях качества деконсервированной спермы в пределах одного эякулята. Таким образом, криоконвекторный способ замораживания спермы позволил усовершенствовать Харьковскую технологию криоконсервирования спермиев быков-производителей в облицованных гранулах, повысить её технологичность и улучшить морфо-функциональные качества спермы. Данная технология была апробирована и внедрена в практику работы внутрихозяйственного племпредприятия СК «Восток» Изюмского района Харьковской области начиная с 2001 года. Результаты научно-производственного опыта внедрения технологии за период с 2001 по 2010 год приведены в таблице 3.

Таблица 3

Эффективность применения усовершенствованной Харьковской технологии асептического получения, криоконсервирования и использования спермы быков

Годы	Количество быков, голов	Количество эякулятов, шт	Средний объем эякулята, мл	Количество замороженных спермодоз, шт	Количество осемененных коров, голов	Количество оплодотворённых коров, %	Количество родившихся телят, голов	Выход телят на 100 коров, %
2001	8	1152	4,0	22087	2772	93	2036	73,4
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	9	1296	5,0	45154	2030	96	2216	86
2007	9	1296	5,0	26300	2290	95	2265	86
2008	7	1008	4,0	21400	2265	97	2369	79
2009	6	864	5,0	36501	2893	96	2354	81
2010	9	1296	5,5	46208	2279	98	2383	89
Итого	8,0	11520	4,6	348262	24118	96 %	19636	83,9 %

Данные таблицы свидетельствуют о том, что при использовании нового способа и устройства для замораживания спермы в СК «Восток» Изюмского района Харьковской области было получено 11520 эякулятов средним объёмом 4,6 мл, из которых заморожено и передано на хранение 348262 спермодозы. Средняя активность спермы после размораживания составляла 5,2 балла. Из осеменённых 24118 коров и тёлок оплодотворилось 96 % самок и получено 83,9 % телят на 100 коров, что было выше на 15,6 % по сравнению с результатами,

полученными до применения предложенного способа. Это свидетельствует о высокой эффективности криоконвекторного способа замораживания спермы.

Выводы:

1. Установлено, что биологические показатели качества спермы при её криоконсервировании не зависят от количесва спермодоз и места их расположения в контейнере. Активность спермиев после оттаивания составляла 5,1±0,1 баллов.
2. Применение криоконвекторного способа замораживания герметизированных спермодоз дало возможность стандартизировать скорость охлаждения спермиев при замораживании, обеспечило высокую технологичность и результативность криоконсервирования спермы быков за счёт повышения биологических показателей спермы.
3. Внедрение данной разработки в широкую производственную практику дало такие положительные результаты: улучшило показатели выхода телят от 100 коров на 15,6 %.

Библиографический список

1. Гордиенко Е. А. Физические основы низкотемпературного консервирования клеточных суспензий / Е. А. Гордиенко, Н. С. Пушкарь. – К. : Наук. думка, 1994. – 144 с.
2. Осташко Ф. И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей / Ф. И. Осташко. – К., 1978. – 256 с.
3. Харьковская технология асептического взятия и криоконсервации спермы быков-производителей: метод. рекомендации / [Осташко Ф. И., Павленко М. П., Кузнецов Г. Н. и др.]. – Х., 1990. – 47 с.
4. Осташко Ф. И. Биотехнология воспроизведения крупного рогатого скота / Ф. И. Осташко. – К. : Аграрна наука, 1995. – 238 с.
5. Осташко Ф. І. Температурні градієнти і термодинамічні процеси в біологічних системах / Ф. І. Осташко, В. Ф. Осташко. – Х., 2004. – 40 с.
6. Павленко Б. М. Новітні методи и техніка підвищення ефективності штучного осіменіння великої рогатої худоби: рукопис дисертаційної роботи на здобуття вченого ступеню канд.. біол.. наук / Богдан Михайлович Павленко. – Х., 2008. – 157 с.
7. Смирнов И. В. К теории глубокого замораживания спермы // Животноводство. – 1974. - № 11. – С. 65-70.
8. Luyet B.J. On the possible biological significance of some physical changes encountered in the cooling and rewarming of aqueous solutions // Cellular Injury and Resistance in Freezing Organisms: Proceedings. – 1967. – vol.2 – P. 1-20.
9. Mazur P. Fundaments aspects of freezing cells with emphasis on mammalian ova and embryos // Proceedings of the mammalian ova and embryos // Proceedings of the 9th International Congress on Animal on Reproduction and Artificial Insemination. – Madrid, 1980. – Vol. 2. – P. 420.
10. Cassou R. La methode des paillettes en plastique adoptee a la generalization de la coagulation // V Congresso Internazionale per la Riproduzione Animale e la Fecondazione Artificale. – Trento, 1964. – Vol. 6. – P. 450-456.
11. Nagase N., Niwa T. Studies on deep freezing technique for bull semen in tablet form // Jap. J. Anim. Reprod. – 1963. – Vol. 6. P. 162-168.
12. Simmit L. Ein vollautomatishes Verfahren zur Konfektionierung von Bullensperma in Kunststoffrohren nach der Landshuter Methode // Proceedings of the

7th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination. – Munich, 1972. – P. 207-209.

КОНВЕКТОРНИЙ СПОСІБ ЗАМОРОЖУВАННЯ СПЕРМИ В ОБЛИЦЬОВАНИХ ГРАНУЛАХ

Павленко Б. М., Інститут тваринництва НААН

Викладено результати досліджень із розроблення, вивчення та практичного застосування портативного кріоконвектору для заморожування герметизованих спермодоз. Показано високу ефективність даної розробки в умовах виробництва при створенні банка замороженої сперми бугаїв в облицьованих гранулах.

Ключові слова: сперма бугая, кріоконсервування, кріоконвектор.

CONVECTOR TECHNIQUE APPLICATION FOR FREEZING SEMEN PRESERVATION IN THE COATED PELLETS

Pavlenko B.; Institute of animal science, NAASU

This article highlights the experimental research results on portable convector for freezing semen preservation in the coated pellets. The method was elaborated, investigated and laboratory examination was fulfilled. The high efficiency of the method implementation was validated under factory conditions during frozen bull semen bank formation in the coated pellets.

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

УДК 636.08.31:636.4.082.35

ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ ІЗОЛЯЦІЇ З ПІНОПОЛІУРЕТАНУ ДЛЯ ПІДТРИМАННЯ ОПТИМАЛЬНОГО МИКРОКЛІМАТУ У ПРИМІЩЕННЯХ ДЛЯ ВИРОЩУВАННЯ ВІДЛУЧЕНИХ ПОРОСЯТ

А. В. Палагута, О. С. Мірошнікова
Інститут тваринництва НААН

Викладено результати вивчення ефективності забезпечення оптимального мікроклімату у приміщеннях для вирощування відлучених поросят шляхом використання ізоляції з пінополіуретану. Застосування запропонованої нами експериментальної ізоляції дверей, стін та перекриття стелі з пінополіуретану для свиней на вирощуванні є перспективним технологічним прийомом, оскільки забезпечує значне підвищення збереження поросят-сисунів (на 8 %) та їх продуктивності (живої маси на 6,4 %, валового приросту на 12,8 %, середньодобового приросту на 12,9 %) у порівнянні з експлуатацією типового приміщення з традиційним способом ізоляції.

Ключові слова: **свині, підсвинки, ізоляційний матеріал, мікроклімат, відгодівля.**

Успішне вирішення м'ясної проблеми в Україні значною мірою опирається на становлення і подальший розвиток галузі свинарства, де вирішальним чинником виробництва конкурентоспроможної продукції та покращення її якості є забезпечення добробуту тварин [6].