

УДК 619:636.082.453.53

**ОПЫТ ВНЕДРЕНИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ ТЕХНОЛОГИИ АСЕПТИЧЕСКОГО ВЗЯТИЯ, КРИОКОНСЕРВАЦИИ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ В СК «ВОСТОК» ИЗЮМСКОГО РАЙОНА ХАРЬКОВСКОЙ ОБЛАСТИ***Павленко М.П., Стегний Б.Т., Павленко Л.Н.**Национальный научный центр «Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины», г. Харьков**Павленко Б.М.**Институт животноводства НААН, г. Харьков**Ровчак А.Я., Широкояд В.Ф.**СК «Восток», Изюмский р-н, Харьковская обл.*

Перспективным направлением научно – технического прогресса в молочном скотоводстве является ускорение селекционного процесса и создание на этой основе высокопродуктивных молочных стад, что должно базироваться на применении технологий, обеспечивающих биобезопасность при воспроизводстве крупного рогатого скота. Многими исследователями доказано, что сперма здоровых самцов свободна от микробных агентов, а её контаминация происходит главным образом при взятии и технологической обработке из препуциального мешка, шерстного и кожного покровов быка, посуды, приборов, желтоксодержащих криоконсервантов, жидкого азота, инструментов, а также нестерильного воздуха. С целью профилактики микробной контаминации спермы разработаны и внедряются Харьковская [1], Французская [14] и Немецкая [15] технологии, которые рекомендованы для промышленного использования. Среди них наиболее конкурентноспособной по обеспечению санитарного качества спермы признана Харьковская технология. Главной отличительной особенностью её является то, что все процессы, начиная от получения спермы от производителя и заканчивая введением ее в половые пути самок при искусственном осеменении осуществляются по закрытой системе без контакта с внешней средой. Генетический материал выпускается в виде покрытых пленкой гранул, что позволяет исключить микробный фактор при осеменении животных и предотвратить распространение гинекологических заболеваний животных.

Целью нашей работы являлось создание на базе крупной молочной фермы новой модели внутрихозяйственной мини-станции и внедрение на ней технологии асептического взятия, консервирования и использования спермы быков для надлежащего ветеринарно-санитарного обеспечения процесса воспроизводства стада и повышения эффективности селекционно-племенной работы в хозяйстве.

**Материалы и методы исследований.** Работу проводили в сельскохозяйственном кооперативе «Восток» Изюмского района Харьковской области. Для производственного опыта использовали 14 быков, полученных от нетелей, завезенных в хозяйство из Дании с продуктивностью матерей 6800-9000 кг молока за лактацию.

При проведении широкого производственного опыта использовали специальные вагины для асептического взятия спермы. Смазку внутренних камер вагин проводили стерильной средой. Садку быков проводили на фантом с гидроневматической амортизацией, подушку которого предварительно обрабатывали антисептиком. Эякулят герметизировали непосредственно в спермоприёмнике прибором «Молния». Массу эякулята определяли взвешиванием. Отбор проб спермы для оценки активности и концентрации половых клеток проводили из асептически отделяемой от спермоприёмника пробирки. Для разбавления спермы использовали стерильные криопротективные среды, изготовленные по нашему способу [7-9].

Разбавляли сперму непосредственно в спермоприёмнике двукратно по закрытой системе. Для этого использовали специальные устройства УАР-1 и УАР-2, которые обеспечивают асептическое введение желточной и безжелточной сред в сперму через муфту спермоприёмника. Первое разбавление проводили в соотношении 1:1 средой № 1 при температуре 35 °С, а второе – средой № 2 при температуре 18 °С, через 5-7 минут после первого.

После разбавления муфту спермоприёмника со спермой герметически соединяли с тонкостенной полимерной трубкой, расположенной в специальном аппарате (ПРЖ), и перефасовывали в неё сперму без контакта с внешней средой. После чего трубку разделяли автоматически на отдельные спермодозы объемом 0,25 мл. с одновременной их термоимпульсной герметизацией.

Спермодозы размещали в специальные контейнеры, которые закрепляли на дисках устройства для эквilibрации и замораживания спермы. Эквilibрацию осуществляли при температуре +2...+4 °С на протяжении 2-4 часов при постоянном медленном вращении дисков с контейнерами. Замораживание спермы осуществляли криоконвекторным способом по нашей методике [2, 3, 5, 10].

Размораживание спермы проводили переносом герметизированной спермодозы из жидкого азота в микротермостат с водой, подогретой до температуры 40 °С. Одновременно с этим отбирали пробы из отдельных серий замороженной спермы и подвергали её бактериологическим исследованиям на общую микробную загрязнённость. Для определения общего числа микробных клеток в одной спермодозе использовали мясо-пептонный агар (МПА) с добавлением 1 % глюкозы. Материал из разведений 1:10 и 1:100 высевали по 1 мл в чашки Петри с МПА, которые инкубировали при температуре 37 °С в течение 3-х суток.

Осеменение коров и телок проводили в местах их содержания асептическим способом с использованием предложенного нами оборудования [4, 6, 11].

Эффективность новой технологии учитывали по результатам работы внутрихозяйственной мини-станции в период 2001-2010 гг., а в качестве контроля использовали данные по воспроизводству крупного рогатого скота в хозяйстве за 1999-2000 гг. При этом учитывали: среднее количество использованных быков-производителей, количество полученных от них эякулятов, средние объёмы эякулятов, количество замороженных спермодоз, количество подлежащих осеменению коров, процент оплодотворения на конец года и выход телят на 100 коров и телок. Наряду с этим изучали влияние нового комплекса ветеринарно-санитарных и селекционно-племенных мероприятий в хозяйстве на динамику молочной продуктивности коров за 10-летний период.

**Результаты исследований.** На базе молочной фермы СК «Восток» Изюмского района Харьковской области, нами создана экспериментальная мини-станция искусственного осеменения крупного рогатого скота, которой присвоен статус племпредприятия I категории в 2004 г., включающая производственное помещение для стойлового содержания быков, лабораторию для взятия и технологической обработки спермы, выгульную площадку. Лаборатория включает следующие сектора: стерилизационную комнату, манеж для получения спермы от быков, лабораторию для оценки, разбавления, расфасовки, эквilibрации и замораживания спермы и помещение – спермобанк для накопления и длительного хранения замороженной спермы в жидком азоте. Для функционирования станции её укомплектовали общелабораторным оборудованием и технологической линией асептического взятия, оценки, разбавления, расфасовки и замораживания спермы в облицованных гранулах по харьковской технологии. В процессе проведения пуско-наладочных работ персонал станции был обучен новым технологическим приёмам работы со спермой. Эффективность технологии оценивали по санитарным и биологическим показателям замороженной спермы и её оплодотворяющей способности.

## Розділ 8. Патологія тварин, клінічна біохімія, якість і безпека тваринницької продукції

Сравнительные результаты бактериологических исследований спермы, замороженной в облицованных и не облицованных гранулах представлены в таблице 1.

**Таблица 1** – Степень микробной контаминации спермы при различных технологиях ее обработки при замораживании

Годы	Количество исследованных серий спермы	Количество микробных клеток в спермодозе			
		Стерильных серий	От 1 до 500 м.к.	Свыше 500 м.к.	Допущено к использованию серий
Сперма замороженная в облицованных гранулах (опыт)					
2001	12 (100%)	8 (67,7%)	4 (33,3%)	-	12 (100%)
2002	16 (100%)	12 (75,0%)	4 (25,0%)	-	16 (100%)
2003	14 (100%)	12 (85,7%)	2 (14,3%)	-	14 (100%)
2004	17 (100%)	14 (82,4%)	3 (17,6%)	-	17 (100%)
2005	18 (100%)	15 (83,3%)	3 (16,7%)	-	18 (100%)
2006	21 (100%)	18 (85,7%)	3 (14,3%)	-	21 (100%)
2007	24 (100%)	20 (83,3%)	4 (16,7%)	-	24 (100%)
2008	23 (100%)	18 (78,3%)	5 (21,7%)	-	23 (100%)
2009	25 (100%)	21 (84,0%)	4 (16,0%)	-	25 (100%)
2010	28 (100%)	23 (82,0%)	5 (18,0%)	-	28 (100%)
Всего	198 (100%)	161 (81,3%)	37 (18,7%)	-	198 (100%)
Сперма замороженная в открытых гранулах (контроль)					
1999	10 (100%)	2 (20,0%)	4 (40,0%)	4 (40,0%)	6 (60,0%)
2000	12 (100%)	3 (25,0%)	6 (50,0%)	3 (25,0%)	9 (75,0%)
Всего	22 (100%)	5 (22,7%)	10 (45,0%)	7 (32,5%)	15 (67,5%)

Из данных таблицы видно, что из 198 исследованных проб спермы, замороженной по харьковской технологии 161 проба (81,3 %) не содержала микроорганизмов, а в остальных 37 пробах выявлено от 50 до 500 микробных тел в одной спермодозе, что вкладывается в допустимые нормы по санитарному уровню и свидетельствует о 100 %-ной пригодности всей заготавливаемой спермы, замороженной на мини-станции для искусственного осеменения коров и телок. Напротив, сперма, замороженная в открытых гранулах (38 % серий) не отвечала допустимым нормам и являлась санитарным браком.

**Таблица 2** – Эффективность применения технологии асептического получения, криоконсервирования и использования спермы быков 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 телок, голов	Оплодотворилось коров и телок 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 данных таблицы 2 видно, что за период многолетнего производственного применения технологии 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 этому в хозяйстве создан собственный банк глубокозамороженной спермы высокоценных быков-производителей Датской селекции и организовано 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 62-68 % и в среднем составила 65 %, что на 12 % выше в сравнении с соответствующими данными, полученными в контроле. При этом оплодотворяемость на конец года составила в среднем 95,3 %, а выход телят на 100 коров и телок в среднем 85,4 голов. Эти результаты подтверждают высокую эффективность новой технологии замораживания спермы при использовании её в условиях племенного репродуктора.

**Таблица 3** – Динамика роста молочной продуктивности коров в СК «Восток» в период использования технологии асептического взятия, криоконсервирования и использования спермы быков-производителей.

Годы	Поголовье коров, голов	Валовый надой молока, ц	Средний надой молока на одну корову, литров	Прирост среднего надоя молока на 1 корову, литров	Прирост среднего надоя молока на 1 корову, (%)
До внедрения технологии (контроль)					
1999	1800	63684	3538	0	100
2000	1800	63774	3543	+5	0,14
После внедрения технологии (опыт)					
2001	1812	77263	4264	+726	20,05.12
2002	1800	81630	4535	+997	28,2
2003	1800	85500	4750	+1212	34,2
2004	1800	89064	4948	+ 1410	39,8
2005	1872	95472	5100	+1562	44,1
2006	1960	100038	51 5104	+1566	44,2
2007	2260	107395	4752	+1214	34,3
2008	2382	120338	5052	+1514	42,8
2009	2059	114295	5551	+2013	56,9
2010	2279	135646	5952	+2414	68,2
Итого	M=2002	M 1006641	5000,8	14628	

**Выводы.** Полученные результаты указывают на то, что комплексное применение эффективных санитарно-гигиенических и селекционно-племенных мероприятий, в результате внедрения в хозяйстве разработанной нами биотехнологии, способствовало в короткий срок резко повысить молочную продуктивность коров. Так, за 2001-2005 годы продуктивность молочного стада выросла с 3538 л до 5100 л молока на одну дойную корову. При этом рост молочной продуктивности на дойную корову достиг за указанный период 1562 литра (44,1 %), в то время как до внедрения технологии этот показатель в хозяйстве не превышал 5,0 литров молока (0,14 %) за год.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о высокой эффективности внедренных мероприятий, которые могут быть успешно использованы в молочном скотоводстве Украины на период выхода из кризисного состояния, вызванном прекращением производственной деятельности ряда крупных племенных предприятий.

#### Список литературы

1. Павленко, Б.М. Оптимизация режима замораживания спермы быков – производителей: Зб. наук. праць ХЗВІ // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини. – Вип. 5(29), Част.2. – Х., 1999 – С. 87-89.
2. 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. Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини... ветеринарні науки. Вип.. 6 (30), Ч.2 Харків., 2000. – С. 55-59.
3. Павленко, Б.М. Павленко, Л.Н. Павленко, М.П. Пристрій для фіксації корів. Патент №3784А від 15.05.2001. Бюл. №4.
4. Павленко, Б.М. Результати вивчення кріоконвекторного способу заморожування сперми.: Міжвідомчий тематич наук зб. // Розведення і генетика тварин. Інститут розведення і генетики тварин. Вип.36, К., 2002. С. 132 – 133.
5. Павленко, Б.М., Павленко, М.П., Ровчак, А.Я. Безстресова ресурсозберігаюча технологія штучного осіменіння корів і телиць і її вплив на заплідненість самиць.: Зб наук. Праць // Проблеми зооінженерії та ветеринарної медицини, (вет. науки): Вип. 11(35), Ч. 2. Х. 2002. С.202-206.
6. Павленко, Л.М., Павленко, Б.М. Середовище для тривалого зберігання сперми бугаїв / Аграрна наука – виробництво. – К. 2002. – №3. – С.21.
7. Павленко, Б.М. Павленко, М.П. Павленко, Л.Н. Кріопротективне середовище і спосіб його виготовлення / Патент України №66030 А61Д7/00. Бюл. №4, 15.04.2004.
8. Павленко, Б.М. Павленко, М.П. Концентрований кріоконсервант для сперми і спосіб його виготовлення: Міжвідомчий темат. наук. зб. //Ветеринарна медицина – 2005.. – Сучасний стан та актуальні проблеми забезпечення ветеринарного благополуччя тваринництва. – Т II. Х., 2005, С. 872-876.
9. Павленко, Б.М. Соловйов, С.Т. Кріоконвектор для заморожування спермодоз. / Аграрна наука виробництво. Науково – інформаційний бюлетень завершених наукових розробок УААН. Вип.2(32), К. 2005. С. 26.
10. М.П. Павленко, Б.М. Павленко Л.Н. Павленко Б.М.. Портативний фіксатор для корів і телиць // Аграрна наука виробництво. – Науково-інформаційний бюлетень завершених наукових розробок УААН. – Вип. 2. – К. 2005, С. 24.
11. 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.
12. 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.
13. Cassou R. La methode des Pailletes 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.
14. Simmit, L. Konfektionierung von Bullensperma in Kunststoffrohren nach der Landshuter Methode/ - Tierartzl. Uaschau. 7 Intern. Congr., Munchen, 1972. – P. 20

**EXPERIENCE OF IMPLEMENTATION OF THE NATIONAL TECHNOLOGY OF ASEPTIC SAMPLING, CRYOPRESERVATION AND USE OF BULL SPERM IN AC «VOSTOK» IN IZYUM DISTRICT OF KHARKIV REGION**

**Pavlenko M.P., Stegnyy B.T., Pavlenko L.N.**

*National scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary medicine", Kharkiv*

**Pavlenko B.M.**

*Institute of animal husbandry NAAS, Kharkiv*

**Rovchak A.Ya., Shyrokoryad V.F.**

*AC «Vostok», Izyum district, Kharkiv region*

*The paper presents data on the establishment of an intraeconomic mini-station for artificial insemination on the basis of pedigree reproducer and implementation on it the technology of aseptic sampling, evaluation, dilution, freezing, storage and use of bull sperm. This technology provided reserve of frozen semen of breeding bulls that meets veterinary and sanitary requirements, contributing to the health of breeding stock and the acceleration of the selection process.*

УДК 619:616.993.192.66:636.7

**ДИНАМІКА ВМІСТУ БІЛКОВИХ ФРАКЦІЙ СИРОВАТКИ КРОВІ СОБАК ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО БАБЕЗІОЗУ**

**Прус М.П., Краснянчук І.В.**

*Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ*

Бабезіоз – облігатно трансмісивна хвороба, оскільки передача збудників відбувається тільки через специфічних переносників – іксодових кліщів. Крім собак на бабезіоз хворіють велика та дрібна рогата худоба, коні, свині. Зареєстровані випадки бабезіозу і у людей.

У наших попередніх публікаціях [1-2, 7] ми висвітлювали питання патогенезу за бабезіозу собак як за спонтанного, так і експериментального його перебігу.

**Метою наших досліджень** було вивчити динаміку вмісту білкових фракцій сироватки крові собак за підгострого перебігу бабезіозу, що дасть змогу більш поглиблено розуміти патогенний вплив збудників на організм тварин.

Нормальний рівень загального білка у сироватці крові людини і тварин головним чином залежить від балансу між синтезом і розщепленням двох основних білкових фракцій – альбуміну та імуноглобулінів [4]. Білки сироватки крові виконують транспортні, імунні, антиоксидантні функції, вони є ензимами та їх регуляторами [3-6].

**Матеріали і методи дослідження.** Наші дослідження було проведено на базі віварію факультету ветеринарної медицини. Об'єктом дослідження були 10 безпородних цуценят 3-4-місячного віку, яких розділили на дослідну (6 тварин) та контрольну (4 тварини) групи. Їх тримали на карантині протягом двох тижнів, була проведена обробка проти ендо- та ектопаразитів. Тварин утримували в вольєрах, годували м'ясо-кістковими відходами, кашами, хлібом, молочними продуктами, сухим кормом.

Тваринам дослідної групи підшкірно було введено по 0,3 мл стабілізованої гепарином крові, взятої від хворої на бабезіоз собаки при спонтанному зараженні польовим штамом *Babesia canis* з паразитемією 3 %.

Визначення білкових фракцій сироватки крові проводили за методикою електрофоретичного розділення білкових фракцій на плівках з ацетату целюлози (уніфікований метод).

**Результати досліджень.** Нами проаналізовано динаміку вмісту білкових фракцій сироватки крові у тварин протягом 218 діб. На початку дослідження показники вмісту білкових фракцій сироваток крові цуценят дослідної та контрольної груп не відрізнялись та були в межах норми.

Нами відмічено перерозподіл вмісту білкових фракцій у бік зниження рівня альбумінів та підвищення рівня глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи (табл. 1). На 15-ту добу дослідження рівень альбумінів у сироватці крові тварин дослідної групи знизився, а рівень глобулінів, відповідно, зріс на 25 % порівняно з аналогічними показниками у тварин контрольної групи.

Стосовно коефіцієнту  $K$  (показник співвідношення фракцій альбумін/глобулін), то у дослідних тварин він був на 41 % нижчий ніж у тварин контрольної групи. Також в цей період було відмічено зростання на 29 % рівня білків гострої фази ( $\alpha_1$  та  $\alpha_2$ ) порівняно з контролем, а порівняно з первинними показниками – на 42,3 %. Ці дані, а також зростання рівня фракції  $\gamma$ -глобулінів більше ніж на 40 % (порівняно з контролем) свідчать про розвиток гострого запального процесу в організмі тварин дослідної групи.

Рівень  $\beta$ -глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи на даному етапі залишався сталим і лише незначно знизився порівняно із первинним показником тварин цієї групи.

На 29-ту добу дослідження нами було відмічено незначне підвищення рівня альбумінів і зниження рівня глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи. У цей період виявлено зниження більше ніж у 2 рази показника  $\alpha_1$ -глобулінової фракції у сироватці крові тварин дослідної групи порівняно з попереднім показником і цей показник був на 62 % нижчим порівняно з даними контрольної групи. Вміст  $\gamma$ -глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи був вищим в 1,3 рази відносно групи контролю. Вміст  $\alpha_2$ -глобулінів на 29-ту добу знизився і не відрізнявся від аналогічного показника контрольної групи.

Було відмічено підвищення майже на 50 % рівня пізніх білків гострої фази ( $\beta$ -глобулінів) порівняно з контролем. На нашу думку, це пов'язано з підвищенням рівня трансферину в зв'язку зі значним зниженням рівня гемоглобіну та одночасним збільшенням кількості еритроцитів [7].

На 50-ту добу рівень глобулінів у сироватці крові тварин дослідної групи був вищий в 1,2 рази порівняно з контрольною групою переважно за рахунок вираженого збільшення в 1,5 рази рівня  $\alpha_1$ -глобулінів. Втім, рівень показників  $\alpha_2$  та  $\beta$ -глобулінів залишився сталим, порівняно з попередніми показниками. Вміст же фракції  $\gamma$ -глобулінів, порівняно з попередніми показниками, дещо знизився та становив на даний момент 120 % від показників контрольної групи.