



УДК: 57.086.13

ПРИСТРІЙ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ ЕМБРІОНІВ ССАВЦІВ, ЗАСНОВАНИЙ НА РЕАЛІЗАЦІЇ ПОВІЛЬНИХ ШВИДКОСТЕЙ ОХОЛОДЖЕННЯ

Горбунов Л. В., к. с.-г. н., Саліна А. С., к. б. н.

Інститут тваринництва НААН

Пасько М. О., студ.

Національний технічний університет

"Харківський політехнічний інститут"

На основі застосування математичної моделі визначено параметри термоблоку, які забезпечують оптимальний режим заморожування ембріонів ссавців у пластикових соломинках. Розроблено пристрій для кріоконсервування ембріонів ссавців у пластикових соломинках, який засновано на пасивному охолодженні термоблоку, що забезпечує режим заморожування близький до лінійного зі швидкістю $0,3 \text{ }^\circ\text{C}/\text{хв}$. Рівень збереженості деконсервованих ембріонів миші при кріоконсервуванні у розробленому пристрої та в ЗЕМ – 4, становив $77,8 \pm 12,0\%$, ($n=18$) і $83,3 \pm 15,0\%$, ($n=18$), життєздатності $73,1 \pm 9,0\%$ і $76,1 \pm 11,0\%$, а ефективності кріоконсервування $78,9 \pm 4,0\%$ і $82,3 \pm 6,0\%$, відповідно.

Ключові слова: **кріоконсервування, пристрій, соломинки, ембріони миші, збереженість, життєздатність, ефективність.**

Для кріоконсервування з повільними швидкостями охолодження застосовують пристрої, засновані на пасивному остиганні термоблоку в горловині посудини Дьюара [1, 2]. Найближчим прототипом є пристрій, заснований на пасивному остиганні термоблоку в горловині посудини Дьюара [2]. Вартість пристрою (20\$) на два порядки нижче вартості існуючих аналогів (2000\$) [3], а витрати рідкого азоту на один цикл заморожування ембріонів тварин становлять у десять разів нижче. Заморожування ембріонів проводиться в полімерних пайетах закордонного й вітчизняного виробництва. Недоліком його є те, що рівень збереженості деконсервованих ембріонів, має розкид, а саме при заморожуванні в пробірках Уленгута збереженість на 10 - 15 % вище ніж у соломинках.

Дослідження показали, що при охолодженні середовища з ембріонами спостерігали зростання кристалів у діапазоні температур від $-5 \text{ }^\circ\text{C}$ до $-25 \text{ }^\circ\text{C}$. Зростання кристалів призводить до зміни об'єму середовища приблизно на 8 %, а це в свою чергу є причиною зміни місця положення ембріонів у соломинці. При проведенні ділатометричних вимірювань встановлено, що в процесі охолодження середовища, повітряний міхур у соломинці, який визначає місце розташування ембріонів, підіймається на 4 – 5 мм. Це в свою чергу призводить до зміни кінцевої температури охолодження ембріонів приблизно на $8 - 10 \text{ }^\circ\text{C}$ (унаслідок температурного градієнта, якій спостерігається в термоблоці – $2 \text{ }^\circ\text{C}$ на 1 мм), що є причиною скорочення температурного діапазону обезводнення клітин приблизно в півтора рази від $-30 \text{ }^\circ\text{C}$ до $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ [1, 2].

Актуальність роботи пов'язана з необхідністю розробки пристрою, який забезпечує лінійний режим заморожування ембріонів ссавців, вартість якого на порядок нижче в порівнянні з існуючими аналогами.

Метою роботи є розробка пристрою для заморожування ембріонів миші, овець та великої рогатої худоби у соломинках, заснованого на пасивному охоло-



дженні термоблоку в горловині посудини Дьюара, що забезпечує режим заморожування близький до лінійного.

Матеріали та методи досліджень. Розробка пристрою здійснювалася за допомогою математичної моделі Джефріса [6]

$$T = T_1 \left[\frac{x}{L} + \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\sin(n\pi x/L)}{n} \cdot \text{EXP} \left(-\frac{n^2 \pi^2 \alpha^2 t}{L^2} \right) \right], \quad (1)$$

де T - поточна температура, T_1 - температура в початковий момент часу, x - відстань до місця розташування об'єкта, L - довжина циліндра, α - коефіцієнт теплопровідності, t - час охолодження циліндра.

Модифікація математичної моделі проводилася на основі введення поправочного коефіцієнта. Розрахунки здійснювалася за допомогою програмного забезпечення.

Об'єктом дослідження були ембріони миші на стадії розвитку від пізньої морули до ранньої бластоцисти. Ембріони миші (*Mus musculus*) отримували від самиць лабораторних мишей, віком 6-8 тижнів, СВА і гібридних F₁ (СВАхС57В1), які утримувались у стандартних умовах віварію. Всі маніпуляції з біооб'єктом - пошук, вимивання і підготовка до експериментів проводили за загальноприйнятими методиками [7]. В експериментах використовували ембріони відмінної, доброї та задовільної якості. Якість ембріонів оцінювали за морфологічними ознаками та за їх розвитком у культурі *in vitro* [4, 7].

Кріозахисне середовище для проведення кріоконсервування ембріонів миші готували на основі фосфатно-сольового буфера Дюльбекко з додаванням 20 % телячої фетальної сироватки. В якості кріопротектору застосовували 1 М розчин гліцерину з 10-ти - хвилинною витримкою в ньому ембріонів при температурі 20 ± 2 °С.

Заморожування ембріонів здійснювали в розробленому пристрої, який засновано на пасивному охолодженні термоблоку в горловині посудини Дьюара Х-34 (V=35 л), а також у заморожувачі ЗЭМ4 [3]. В якості контейнерів для розміщення ембріонів використовували пластикові французькі соломинки. У програмних заморожувачах зниження температури відбувається автоматично до заданого рівня. Після охолодження до кінцевої температури пробірки переносили у рідкий азот для тривалого зберігання.

Відтавання контейнерів, в яких знаходились ембріони, проводили у водяній бані при 40 °С. Температуру зразка вимірювали: хромель-копелевою термопарою з діаметром спаю 0,3 мм.

Для підвищення відтворюваності результатів кріоконсервування дослідження проводили з біооб'єктом однакової якості у кожній групі [4, 5]:

$$S_i = \frac{n}{n_{i0}}, \quad (2)$$

де S_i - збереженість придатного біооб'єкту i -ї якості (для ембріонів: задовільне $i=3$, добре $i=4$, відмінне $i=5$);

n та n_{i0} - кількість придатного біооб'єкту після кріоконсервування та початкова.



Статистичний аналіз отриманих результатів проводили за загальноприйнятими формулами якісного та кількісного аналізу [4, 5] на основі застосування стандартних програм для роботи на ЕОМ Microsoft Excel.

Результати досліджень. Основою запропонованого пристрою є двокомпонентний термоблок. Він складається з порожнього металевого циліндру, усередині якого знаходиться повітря (рис. 1), що забезпечує оптимальну швидкість охолодження. За рахунок низької теплопровідності в самому термоблоці спостерігається градієнт температури, внаслідок чого відбувається порушення умов заморожування даного типу біооб'єкту. Із вищевикладеного витікає: застосування піни, як матеріалу для виготовлення термоблоку, неприпустиме через неоднорідність її структури; використання повністю металевих термоблоків не забезпечить оптимальний режим заморожування через високу швидкість охолодження; застосування термоблоків із тонкою металевією стінкою призведе до підвищення градієнта температури, наслідком чого виникає недостовірність отриманого значення температури охолодження.

Для рішення даної проблеми висунута робоча гіпотеза про застосування двох матеріалів метал-повітря при виготовленні термоблоку, таким чином, щоб дані матеріали взаємно компенсували один одного. Рішенням даного завдання стала двокомпонентна модель термоблоку (метал-повітря) (рис. 1). Змінюючи параметри термоблоку, підбираючи діаметр внутрішньої вставки циліндру, можемо тим самим визначити оптимальну швидкість охолодження. За допомогою розрахунку визначили наступне співвідношення: повітря до металу 0,356.

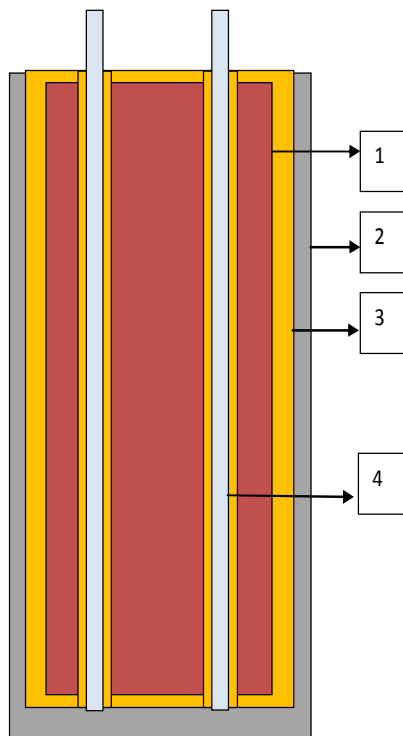


Рис. 1. Схематичне зображення циліндричного термоблоку модельного пристрою № 1:

- 1 - внутрішня вставка, виготовлена з міді;
- 2 - нержавіюча сталь;
- 3 - повітряний прошарок;
- 4 - пластикова соломинка.



На першому етапі для одержання необхідної швидкості заморожування при застосуванні середньозваженої швидкості використовували двокомпонентний термоблок, конструкція й параметри якого були описані раніше. Термоблок занурювали в горловину посудини Дьюара X-34А на задану глибину (L) з рівнем азоту (H). Інтервали часу, по закінченню яких фіксувалася температура, були рівними 10 хв. Це дає право розраховувати середню швидкість заморожування, використовуючи середньоарифметичну.



В якості контролю для заморожування використовували програмний заморожувач ЗЕМ-4, розроблений в Інституті кріобіології (К - контрольний режим). Відповідно до якого оптимальний режим заморожування має такі параметри: швидкість у діапазоні від $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ становить $v=1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, від $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $v=0,4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, після чого проводять 30 хв витримки, по завершенню якої біооб'єкт занурюють у рідкий азот. Першим кроком для апробації запропонованого пристрою стало занурення термоблоку на глибину $L=16\text{ см.}$, рівень азоту 0,7. Отриманий режим показав, що швидкість у діапазоні від $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ становить $v=0,17\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ (крива 1, рис. 2), надалі $L=23\text{ см}$ при цьому $v=0,26\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ (крива

2, рис. 2), $L=27\text{ см}$ - $v=0,24\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ (крива 3, рис. 2). Далі процес заморожування був зупинений, оскільки в контролі швидкість змінення температури становить $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, а від $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$

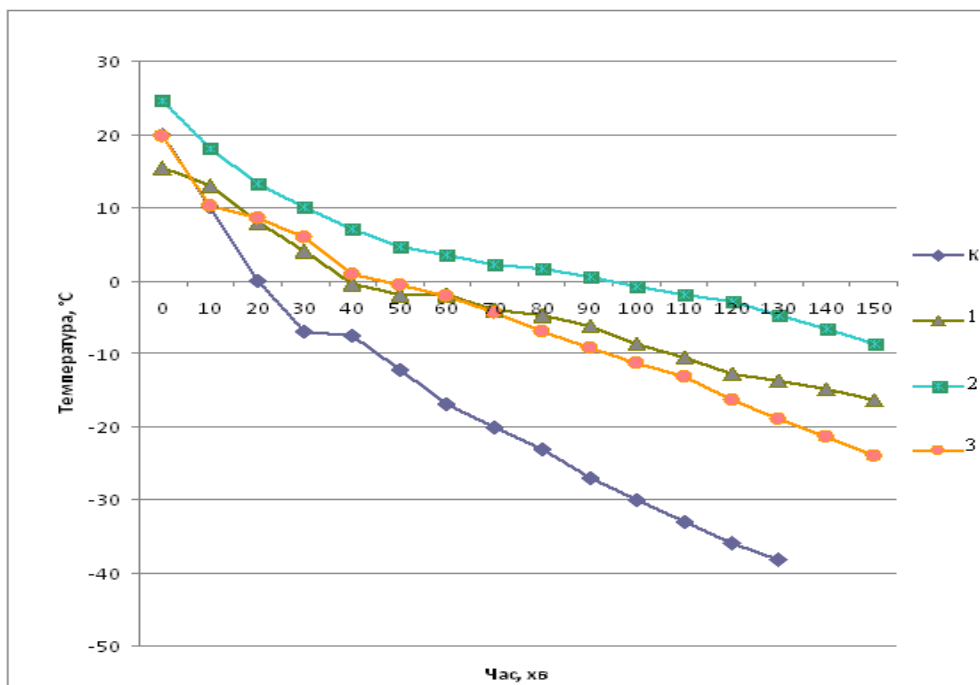


Рис. 2. Режими заморожування модельного пристрою №1 при різних глибинах занурення термоблоку в горловину посудини Дьюара та рівнем азоту 0,7: крива 1 – $L=16\text{ см}$, крива 2 – $L=23\text{ см}$, крива 3 – $L=27\text{ см}$, К - контрольний режим.



Таким чином, апробація термоблоку дозволила отримати наступні режими, швидкості змінювалися в діапазоні від 0,17 до 0,26 °С/хв. Отримані результати свідчать про те, що вищенаведені режими 1, 2, 3 (рис. 2) дають швидкості значно нижчі, ніж поставлені в нашій задачі (у контролі 1 °С/хв., від -7 °С до -35 °С – $v=0,4$ °С/хв.). Це свідчить про те, що характерний час остигання термоблоку значно вище, ніж необхідний для розробки нашого заморозувача.

За допомогою математичного моделювання процесу охолодження можна значно підвищити ефективність пошуку робочих параметрів вказаного пристрою. При цьому мінімізуються втрати часу та матеріальні витрати на досягнення поставленої мети. Існує кілька видів математичних моделей теплообміну [3-5], за допомогою яких можна описати процес охолодження термоблоку в горловині посудини Дьюара і, як наслідок, виникає проблема вибору найбільш адекватної з них.

Для визначення параметрів термоблоку, які забезпечують необхідні швидкості охолодження, була використана математична модель Джефріса і відповідне програмне забезпечення. У разі використання математичної моделі може спостерігатися певна розбіжність експериментальних даних із результатами розрахунків, що пов'язано з умовами неоднорідності застосовуваного термоблоку. Дана математична модель теплообміну описує процес охолодження однорідного циліндричного тіла, а в експериментах застосовується термоблок, який містить неоднорідності різного типу: стаканоподібна форма, повітряний прошарок, штатив і кріпильні пристосування, які створюють додатковий теплообмін, що не враховується у теоретичних моделях.

Швидкість охолодження термоблоку в значній мірі визначається коефіцієнтом теплопровідності. Тому для створення макета пристрою, що дозволяє задавати низькі швидкості охолодження, доцільно варіювати характерний час остигання блоку. Математична модель [1] показала, що для досягнення поставленої мети слід в основі термоблоку створити повітряний прошарок, теплопровідність якої можна регулювати, змінюючи співвідношення обсягів металу і повітря, при цьому буде відбуватися зміна режиму охолодження термоблоку, як показують теоретично розраховані криві (рис. 3).

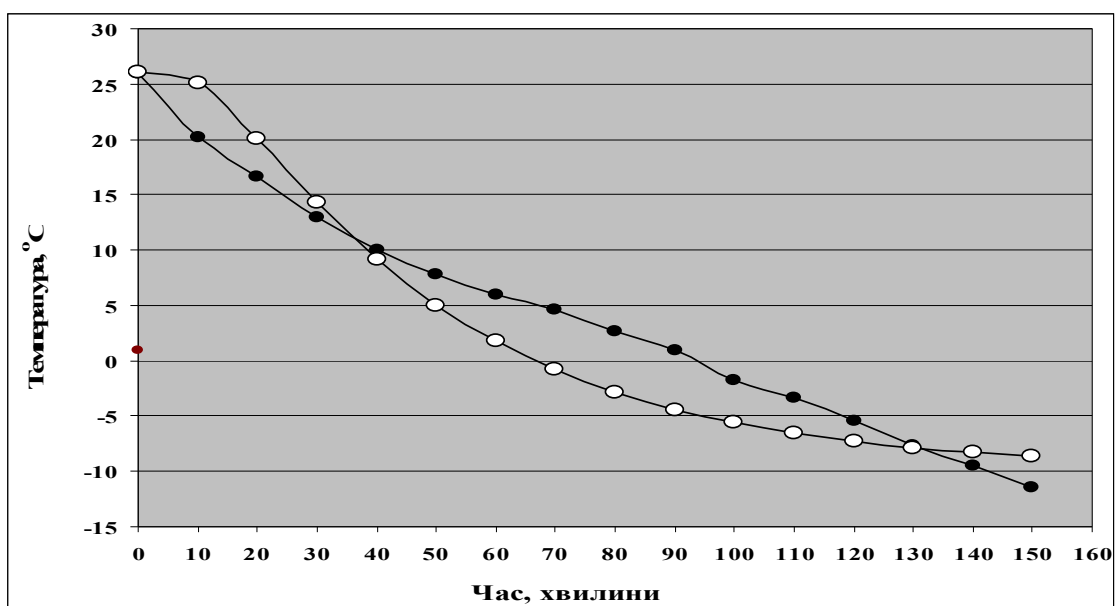


Рис. 3. Результати математичного моделювання, розраховані на основі використання моделі Джефріса.

Необхідну відповідність теоретично розрахованих залежностей і експериментальних даних можливо досягти за допомогою введення підбраного поправочного коефіцієнту ($k = 0,825$) у формулу для температуропровідності досліджуваного об'єкту.

Результати математичного моделювання (рис. 3) показали, що задані швидкості охолодження (в контролі $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, від $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $v=0,4\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$) можна реалізувати за допомогою співвідношення повітря до металу 3,128. Тобто розміри внутрішнього циліндра, виготовленого із міді, повинні становити: діаметр 40 мм, а висота 40 мм.

Після теоретичних розрахунків із використанням обраної моделі теплообміну [6] і поправочного коефіцієнту k був виготовлений циліндричний термоблок, внутрішній циліндр зроблений з міді та зменшений в три рази (рис. 4).

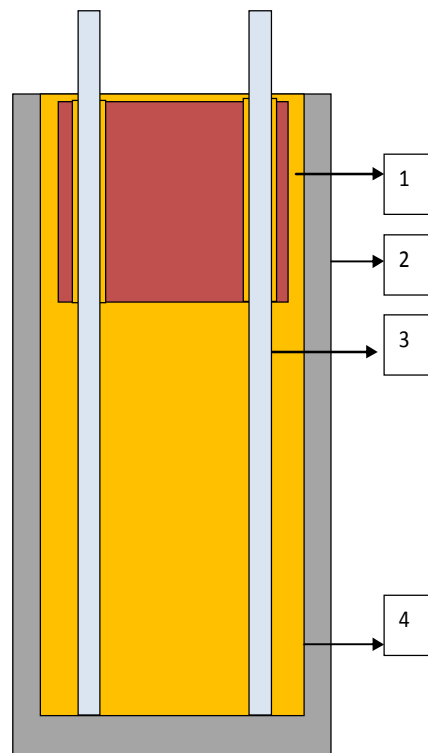


Рис. 4. Схематичне зображення циліндричного термоблоку модельного пристрою № 2 з урахуванням всіх поправок після проведення математичного моделювання:

- 1 - внутрішня вставка, виготовлена з міді;
- 2 - нержавіюча сталь;
- 3 - пластикова соломинка;
- 4 - повітряний прошарок.

Апробація термоблоку модельного пристрою № 2 (рис. 5) показала, що характерний час остигання термоблоку значно більший ніж у модельного пристрою №1, (рис. 2).

Аналізуючи їх схожість запропоновано наступний режим: глибина занурення $L=14,5\text{ см}$, а рівень азоту 0,8. Отриманий режим показав, що швидкість у діапазоні від $+20\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ є $1\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, від $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-35\text{ }^{\circ}\text{C}$ – $v=0,3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ (рис. 5, режим № 5).

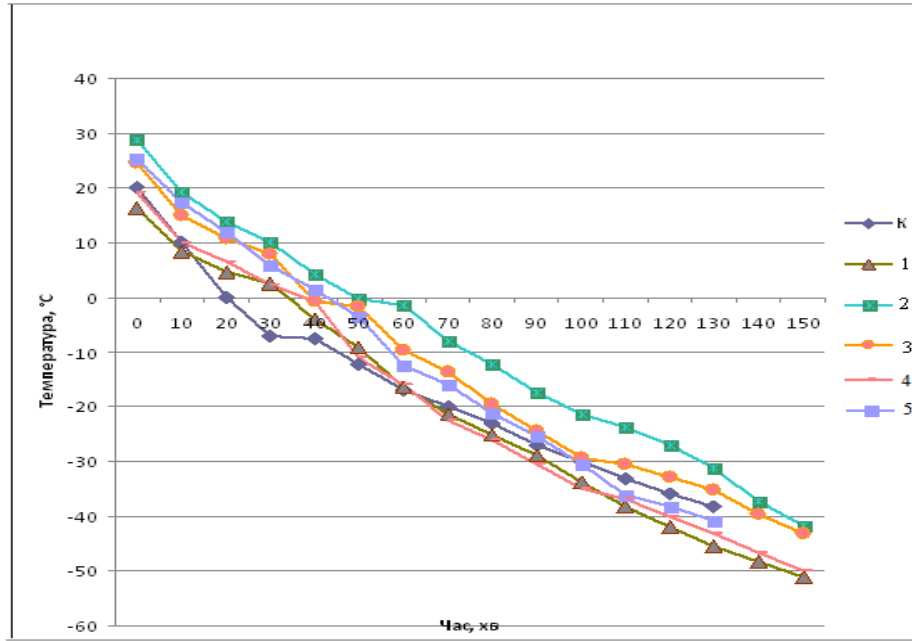


Рис. 5. Режими охолодження термоблоку після апробації запропонованого пристрою № 2:

крива 1 – $H=1,0$, крива 2 – $H=0,5$, крива 3 – $H=0,6$,
крива 4 – $H=0,9$, крива 5 – $H=0,8$, К - контрольний режим, $H=0,7$.

Отримана залежність повторила контроль, швидкості так само задовольняють параметри оптимального режиму. Для встановлення вірогідності отриманих результатів проведено ще два повторення. На основі отриманих залежностей зробили висновок, що даний режим задовольняє вимогам контролю. Таким чином, при апробації двокомпонентного термоблоку встановлено оптимальний режим № 5 та знайдені умови охолодження, що забезпечують режим заморожування близький до лінійного при цьому глибина занурення становить $L=14,5$ см, рівень азоту – від 0,5 до 0,8.

Із метою апробації розробленого пристрою проведено кріоконсервування ембріонів миші в соломинках. Для проведення порівняльного аналізу заморожування проведено в ЗЕМ – 4, це контрольна група - n_1 , а також в розробленому пристрої група – n_2 (дослідна група). Для отримання достовірності відмінності об'єм вибірок був не менше 18 ембріонів у контрольній і дослідній групах (табл. 1).

Таблиця 1

Кількість і якість ембріонів миші до і після кріоконсервування в контрольній і дослідній групах

Якість ембріонів, бал	Кількість до експерименту, шт.		Якість після експерименту, бал							
			2	3	4	5	2	3	4	5
	$n_1=18$	$n_2=18$	n_1				n_2			
3	2	2	1	1	–	–	1	1	–	–
4	8	7	2	3	3	–	2	2	3	–
5	8	9	0	2	2	4	1	2	3	3



Після заморожування ембріонів миші рівень збереженості в контрольній і дослідній групах становив 83,3 % і 77,8 %, життєздатності 76,1 % і 73,1 %, а ефективності 82,3 % і 78,9 % (табл. 2).

Таблиця 2

Стан деконсервованих ембріонів миші, заморожених у соломинках в ЗЕМ – 4 (контроль) і розробленому пристрої (дослід), що мають різну нативну життєздатність V_0

Якість, бал	Збереженість, %			Життєздатність, %				Ефективність, %		
	S_1	S_2	S_1-S_2	V_0	V_1	V_2	V_1-V_2	W_1	W_2	W_1-W_2
3	50	50,0	0,0	73	51,5	51,5	0,0	70,5	70,5	0,0
4	75,0	71,4	3,6	89	68,3	67,6	0,7	76,7	75,9	0,8
5	100	88,9	11,1	99	90,0	82,2	7,8	90,9	83,1	7,9
M	83,3	77,8	6,7	91,9	76,1	73,1	4,0	82,3	78,9	5,4
m	15,0	12,0	4,0	8,0	11,0	9,0	3,0	6,0	4,0	3,0
C_v	25	21	7,0	12	21	18	6	10	7	5
t	0,29		1,68	-	0,20		1,3	0,5		1,75

Примітка. S_1 і S_2 , V_1 і V_2 , W_1 і W_2 – збереженість, життєздатність, ефективність ембріонів у контролі і досліді після кріоконсервування.

Критерії аналізу достовірності відмінності Стьюдента: непарні, для однієї пари (контроль–дослід) проб – t_a і парні – t_{Δ} для трьох пар, $n_1 = n_2 = 18$.

Також у наших дослідях враховувалась якість ембріонів до та після кріоконсервування. Дане явище пояснюється усуненням впливу міжгрупової варіації (гетерогенності ембріонів) на оцінку відмінності порівнюваних груп. Облік гетерогенності ембріонів (вплив внутрішньогрупової варіації) дав можливість понизити показники коефіцієнтів варіації і помилок середньоквадратичного відхилення в $3,0 \div 3,5$ рази для збереженості, життєздатності $3,0 \div 3,5$ і ефективності $1,5 \div 2,0$.

Проведено порівняльний аналіз оцінки ефективності розробленого пристрою та ЗЕМ-4. Економічна ефективність розраховувалась за умови кріоконсервування 100 шт. (1000 шт.) ембріонів миші. Вартість розробленого термоблоку становить 300 грн., цей показник у десятки разів є меншим, ніж показник вартості програмного заморожувача ЗЕМ-4 (17000 грн). Для проведення одного циклу заморожування ЗЕМ-4 витрачає 10,0 л азоту (42,0 грн.), тоді як при використанні розробленого пристрою витрати азоту на один цикл заморожування становлять 1,6 л. (6,7 грн.). Після проведення оцінки ефективності пристроїв за всіма показниками показано, що запропонований двокомпонентний термоблок є економічно виправданим і вигідним, при цьому економічна ефективність становить 93,7 % (при заморожуванні 100 шт. ембріонів) та 66,3 % (при заморожуванні 1000 шт. ембріонів).

Крім того, оскільки доцільно і рентабельно розробляти новий пристрій для використання у виробничих масштабах, а саме дослідних господарствах України, то надалі ми плануємо провести кріоконсервування ембріонів корів та овець у розробленому пристрої з подальшим його впровадженням у виробництво.

Висновки:

1. Розроблено пристрій для кріоконсервування ембріонів ссавців у пластикових соломинках, який засновано на пасивному охолодженні термоблоку, що за-

безпечує режим заморожування близький до лінійного. Швидкість заморожування становила $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$, як у контролі.

2. Рівень збереженості деконсервованих ембріонів миші при кріоконсервуванні в пластикових соломинках у розробленому пристрої та в ЗЕМ – 4, становив $77,8\pm 12,0\%$, ($n=18$) і $83,3\pm 15,0\%$, ($n=18$), життєздатності $73,1\pm 9,0\%$ і $76,1\pm 11,0\%$, а ефективності кріоконсервування $78,9\pm 4,0\%$ і $82,3\pm 6,0\%$, відповідно.

Бібліографічний список

1. Горбунов Л. В. Кріоконсервация половых клеток и эмбрионов // Горбунов Л. В., Бучацкий Л. П.: Монография – К.: Издательско-полиграфический центр “Киевский университет”, 2005. – 325 с.

2. Пат. 1802700А3 СССР, МКИ А 61 D 19/00. Установка для замораживания эмбрионов: Пат.1802700 А3 СССР, МКИ А 61 D 19/00/ Ф. И. Осташко, Н. Д. Безуглый, Е. Г. Валигура, Л. В. Горбунов (СССР); УНИ ИЖ.-№492296/14; Заявл. 29.03.91; Опубл. 15.03.93; Бюл.№10.- 4 с.

3. Замораживатель программный эмбрионов мобильный // Руководство по эксплуатации ЗЭМ4.00.00.00.РЭ.-1989.

4. Леонид Горбунов. Методология проведения биотехнологического исследования // LAPLAMBERT Academic Publishing / Германия, 2013 – 263 с. (ISBN: 978-3-659-45286-4).

5. Горбунов Л. В. Учет гетерогенности эмбрионов при оценке эффективности их кріоконсервирования // Науково-технічний бюлетень № 109 / НААН. Інститут тваринництва. – Х., 2013. – Ч. 1. – С. 88 – 95.

6. Мищенко А. Г., Горбунов Л. В. Ускоренные режимы замораживания биологического материала // LAPLAMBERT Academic Publishing / Германия, 2014 ISBN: 978-3-659-38164-5. – 136 с.

7. Манк М. Биология развития млекопитающих. Методы / М. Манк – М. : Мир, 1990. – 406 с.

УСТРОЙСТВО ДЛЯ КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЯ ЭМБРИОНОВ МЛЕКОПИТАЮЩИХ, ОСНОВАННОЕ НА РЕАЛИЗАЦИИ МЕДЛЕННЫХ СКОРОСТЕЙ ОХЛАЖДЕНИЯ

Горбунов Л. В., Салина А. С., Институт животноводства НААН

Пасько М. А., Национальный технический университет "Харьковский политехнический институт"

На основе применения математической модели определены параметры термоблока, обеспечивающие оптимальный режим замораживания эмбрионов млекопитающих в пластиковых соломинках. Разработано устройство для кріоконсервирования эмбрионов млекопитающих в пластиковых соломинках, основанное на пассивном охлаждении термоблока, обеспечивающий режим замораживания близкий к линейному, со скоростью $0,3\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{хв.}$ Уровень сохранности деконсервированных эмбрионов мыши при кріоконсервировании в разработанном устройстве и в ЗЕМ – 4, составил $77,8\pm 12,0\%$, ($n=18$) и $83,3\pm 15,0\%$, ($n=18$), жизнеспособности $73,1\pm 9,0\%$ и $76,1\pm 11,0\%$, а эффективности кріоконсервирования $78,9\pm 4,0\%$ и $82,3\pm 6,0\%$, соответственно.

Ключевые слова: кріоконсервирование, устройство, соломинки, эмбрионы мыши, сохранность, жизнеспособность, эффективность.



DEVICE FOR OF SLOW CRYOPRESERVATION OF MAMMALIAN EMBRYOS, BASED ON THE REALIZATION SPEED COOLING

L. Gorbunov, A. Salina, Institute of Animal Science NAAS

M. Pasko, National Technical University "Kharkiv Polytechnic Institute"

On the basis of the application of a mathematical model the parameters of the thermo fuser was determined, to ensure the optimal mode of freezing of mammalian embryos in plastic straws. A device for cryopreservation of mammalian embryos in plastic straws, based on passive cooling fuser, which provides freeze mode close to the line, at a rate of 0,3 °C/min. The level of safety deconseravation of mouse embryos during cryopreservation developed in the unit and in ZEM - 4 was $77,8 \pm 12,0$ %, ($n=18$) and $83,3 \pm 15,0$ %, ($n=18$), the vitality of $73,1 \pm 9,0$ % and $76,1 \pm 11,0$ %, and the efficiency of cryopreservation $78,9 \pm 4,0$ % and $82,3 \pm 6,0$ %, respectively.

Keywords: cryopreservation, the device straws, mouse embryos, safety, viability, efficiency.

УДК 636.12.082(477)

**ВПЛИВ ОБ'ЄМІВ ТРОТОВИХ РОБІТ НА РОЗВИТОК
ДВОРІЧНОГО МОЛОДНЯКУ ОРЛОВСЬКОЇ РИСИСТОЇ
ПОРОДИ**

Корнієнко О. О., к. с.-г. н.

Інституту тваринництва НААН

Мирось В. В., д. с.-г. н.

Харківський національний аграрний університет ім. В. В. Докучаєва

Статтю присвячено вивченню впливу загального кілометражу тротових робіт на розвиток промірів молодняку двох років орловської рисистої породи. Доведено, що зменшення об'ємів тротових робіт мало негативний вплив на приріст основних промірів молодняку як за сезон, так і щомісячно, в більшій мірі за висотою у холці та косою довжиною тулуба. Це пояснюється і виявленим прямим, слабким зв'язком між об'ємом тротових робіт та інтенсивністю приросту висоти у холці і косої довжини тулуба: у жеребчиків 0,125 і 0,251, у кобилок – 0,427 і 0,342 відповідно. Зроблено висновок про доцільність проведення тротових робіт за об'ємом не менше 5 кіл (8000 м) та підтримання їх частки у загальній структурі тренувального графіку не менше 45 %, і, особливо, у основний період – під час виступів у призах.

Ключові слова: висота у холці, графік тренувань, коса довжина тулуба, орловська рисиста порода, проміри, тротові роботи.

Тренінг рисистих коней – це невід'ємна складова селекційного процесу, спрямованого на виявлення основної селекційної ознаки - роботоздатності. Правильно побудований тренінг сприяє не тільки розкриттю жвавісного потенціалу, а й зміцнює організм коней, забезпечує його гармонійний розвиток та нормальне функціонування всіх органів та систем. Особливо це є важливим для коней двох років, оскільки правильність у підходах до тренувальних навантажень у цьому віці гарантує іподромне довголіття молодняку, подальший прогрес і максимальне розкриття його генетичного потенціалу.