

Таблиця 2

Індекси черепа різних порід свиней

Показники	Породи свиней		
	велика біла	мангалицька	карпатська м'ясна
1. Довголобості	49,2±6,9	52,4±6,5	48,6±6,5
2. Широколобості	41,1±6,5	47,7±4,2	43,1±6,4
3. Довгоносості	51,4±6,9	51,6±3,0	50,1±4,2
4. Ширина черепа	57,5±6,3	68,7±9,6	68,4±4,5

Висновки.

1. Череп свиней карпатського м'ясного типу характеризується кращим розвитком мозкового відділу, що підтверджується показниками відносної довжини і висоти цього відділу.

2. Для черепа свиней мангалицької породи характерна більша довжина лицевого відділу, що поєднується з більшими показниками відносної довжини окремих кісток.

3. Ширина черепа у тварин дослідних груп за досліджуваними показниками відрізняється незначно.

Перспективи подальших досліджень. Планується провести порівняльний аналіз окремих кісток черепів досліджуваних порід свиней та індексів черепів у тварин 7-9 -місячного віку.

Література

1. Епишин В. А. Мясные качества свиней новых типов // Епишин В. А. Селекция с.-х. животных по технологическим признакам. – М., 1987. – С.119–124.
2. Коваленко В. П. Зв'язок статевого диморфізму з репродуктивними і відгодівельними якостями порід свиней // Коваленко В. П., Папакіна Н. С. Розведення і генетика тварин. – К., 2002. – С. 72–73.
3. Крамар Н. І. Ріст і розвиток молодняку свиней різних генетичних форм // Крамар Н. І. Наук.вісник ЛДАВМ ім. С.З. Гжицького. – 1999, вип.3, ч.1. – С. 211–213.
4. Левчук В. С. Изменения черепа домашней свиньи в онтогенезе // Левчук В. С. Сб .науч. тр. УСХА. – К., 1986. – С.126.
5. Луник Ю. М. М'ясні якості свиней різних генотипів / Луник Ю. М. // Наук. вісник ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького, т. 5 (№3), ч. 4. Львів, 2003. – С. 167–171.
6. Черніченко О. М. Залежність м'ясної продуктивності свиней від типу будови тіла // О. М. Черніченко. Наук. вісник НАУ, № 21. – 2000. – С. 143–144.

Стаття надійшла до редакції 23.04.2015

УДК 591.15.16

Саліна А. С., к.б.н. ©

E-mail: Alla_Salina@ukr.net

Інститут тваринництва НААН України, м. Харків

**ВИЗНАЧЕННЯ КРИТИЧНОЇ ЗОНИ КРИСТАЛОУТВОРЕННЯ РОЗЧИНУ
ЕТИЛЕНГЛІКОЛЮ В ШИРОКОМУ ДІАПАЗОНІ ШВИДКОСТЕЙ
ЗАМОРОЖУВАННЯ-ВІДТАВАННЯ**

«Візуальним» методом визначено залежність ступеня помутніння середовища від концентрації етиленгліколю (0÷70 % [v/v]) і швидкості

© Саліна А. С., 2015

заморожування-відтавання ($10\div 16\cdot 10^3$ °C/хв). Отримано регресійне рівняння, яке спрощує встановлення мінімальної концентрації вітрифікуючого розчину кріопротектору, що містить етиленгліколь, яка забезпечує прозорість середовища при заданій швидкості теплообміну. Встановлено мінімальну концентрацію вітрифікуючого розчину кріопротектору для кріоконсервування ембріонів ссавців (53 % [v/v]), що містить етиленгліколь і сахарозу (у співвідношенні 2:1), яка забезпечує прозорість середовища при швидкості $6\cdot 10^3$ °C/хв.

Ключові слова: етиленгліколь, сахароза, критична зона, кристалоутворення розчину, швидкість заморожування, надвисока швидкість охолодження.

УДК 591.15.16

Салина А. С., к.б.н.

Институт животноводства НААН Украины, г. Харьков

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КРИТИЧЕСКОЙ ЗОНЫ КРИСТАЛЛООБРАЗОВАНИЯ РАСТВОРА ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В ШИРОКОМ ДИАПАЗОНЕ СКОРОСТЕЙ ЗАМОРАЖИВАНИЯ-ОТТАИВАНИЯ

«Визуальным» методом установлена зависимость степени помутнения среды от концентрации этиленгликоля ($0\div 70\%$ [v/v]) и скорости замораживания-оттаивания ($10\div 16\cdot 10^3$ °C/мин). Получено регрессионное уравнение, которое упрощает определение минимальной концентрации витрифицирующего раствора кріопротектора, содержащего этиленгликоль и обеспечивающее прозрачность среды при заданной скорости теплообмена. Установлена минимальная концентрация витрифицирующего раствора кріопротектора для кріоконсервирования эмбрионов млекопитающих (53 % [v/v]), состоящая из этиленгликоля и сахарозы (в соотношении 2 : 1), которая обеспечивает прозрачность среды при скорости $6\cdot 10^3$ °C/мин.

Ключевые слова: этиленгликоль, сахароза, критическая зона, кристаллообразования раствора, скорость замораживания, сверхвысокая скорость охлаждения.

UDC 591.15.16

Salina A. S., c.b.s.

Institute of animal science UAAS of Ukraine, Kharkov

DETERMINATION OF A CRITICAL ZONE OF ETHYLENE GLYCOL SOLUTION OF CRYSTAL FORMATION IN A WIDE SPECTRUM OF FREEZE-THAWING RATES

The «visual» method established dependence of extent of turbidity of the environment on concentration of ethylene glycol ($0\div 70\%$ [v/v]) and of freeze-thawing rates ($10\div 16\cdot 10^3$ °C/min). The regression equation which simplifies determination of the minimum concentration of vitrification solution of the cryoprotector containing ethylene glycol and providing transparency of the environment at the set heat exchange rates is received. The minimum concentration of vitrification solution of a cryoprotector for cryoconservation of mammals embryos (53 % [v/v]) consisting of ethylene glycol and sucrose (in the ratio 2:1) which provides transparency of the environment at a rate of $6\cdot 10^3$ °C/min. is established.

Key words: ethylene glycol, sucrose, critical zone, solution of crystal formation, freezing rates, ultra-high rates of cooling.

Вступ. Загальновідомо, що використання висококонцентрованих розчинів кріопротекторів для низькотемпературного консервування біооб'єктів призводить до зниження збереженості деконсервованого матеріалу. Пошук нових методів кріоконсервування ембріонів ссавців має на увазі використання низьких концентрацій кріопротекторів у поєднанні з високими і надвисокими швидкостями охолодження і нагріву. Існують роботи, які демонструють, що повне зв'язування інтроцелюлярної води перед зануренням біооб'єкту в рідкий азот є не обов'язковим [1, 2]. Використання в комплексі проникаючих і непроникаючих кріопротекторів у складі вітрифікуючих розчинів дозволяє суттєво понизити згубний вплив як осмотичного, так і токсичного ефектів, обумовлених високими концентраціями кріопротекторів [3, 4, 5]. Істотне зниження їх концентрацій реалізується при використанні надвисокої швидкості заморожування-відтавання: $V \geq 6 \cdot 10^3 \text{ }^\circ\text{C/хв}$ [1, 6, 7]. Застосування кріоконсерванту, що складається з етиленгліколю (кріопротектор з високою мірою проникності) і сахарози при надвисокій швидкості охолодження-нагріву дозволило отримати високий рівень збереженості незрілих ооцитів миші і корови [8] тоді як для ембріонів ссавців це є одним з важливих аспектів.

Мета досліджень – визначити мінімальну концентрацію вітрифікуючого розчину кріопротектору, що містить етиленгліколь і сахарозу, яка забезпечує прозорість середовища при швидкості теплообміну $6 \times 10^3 \text{ }^\circ\text{C/хв}$.

Матеріали і методи. Залежність зміни фазового стану середовища при високих і надвисоких швидкостях охолодження-нагріву від концентрації кріопротектору визначали візуальним методом, запропонованим А. Massip в 1987 р. [9]. У основі цього методу лежать такі положення: помутніння середовища в процесі охолодження або нагріву свідчить про зростання кристалів, тоді як прозорість середовища відповідає відсутності зростання кристалів. Як середовище, що досліджували, використовували розчин етиленгліколю з концентрацією від 0 до 70 % [v/v], приготовлений на основі ФСБ. Контейнерами для досліджуваного середовища служили пластикові соломинки діаметром 2,0; 1,0; 0,5; 0,3 мм і ковдери, виготовлені з поліетилену. Для реалізації різних швидкостей охолодження контейнери з досліджуванним середовищем розміщували в парах рідкого азоту або занурювали безпосередньо в рідкий азот. Відповідні швидкості нагріву досягали за допомогою занурення контейнерів в спиртову баню при температурі 20 °С, у водяну баню, заздалегідь нагріту до температури 40 ÷ 85 °С із застосуванням магнітної мішалки і без неї. Окрім цього, для охолодження (нагріву) конвертів з поліетилену використовували охоложене до температури рідкого азоту (нагріте до температур 40 ÷ 85 °С) пристрій у вигляді щипців [10].

Для визначення мінімальної концентрації кріопротектору, що забезпечує виключення зростання кристалів при заданій швидкості охолодження-нагріву, використовували регресійний аналіз.

Результати дослідження. Для визначення мінімальної концентрації кріопротектору, що забезпечує склування середовища в процесі кріоконсервування за допомогою високих і надвисоких швидкостей охолодження-нагріву, проведена серія експериментів. За допомогою «візуального» методу, заснованого на оцінці ступеня помутніння середовища у процесі кріоконсервування [9, 11], визначили імовірність виникнення кристалів при заморожуванні та відтаванні розчину етиленгліколю з різною концентрацією (0÷70% [v/v]) в пластикових соломинках ($d=2$ мм) та конвертах з поліетилену у широкому діапазоні швидкостей теплообміну ($10 \div 16 \cdot 10^3 \text{ }^\circ\text{C/хв}$). Якщо в процесі заморожування або відтавання середовища, що досліджували, залишалось прозорим, то вважали, що кристалізація не відбувалася, якщо ж середовище набувало молочного кольору – це означало зростання кристалів. Коли було помутніння несильне, це відповідало критичній зоні кристалоутворення. Користуючись даними положеннями, визначили критичні концентрації етиленгліколю, при яких середовище залишається прозорим, або набуває молочного кольору в процесі охолодження-нагріву (табл. 1).

Таблиця 1

Залежність фазового стану середовища від концентрації розчину етиленгліколю при різних швидкостях заморожування-відтавання, яку визначали візуальним методом

Швидкість теплообміну ν , $^{\circ}\text{C}/\text{c}$		Концентрація етиленгліколю C , % [v/v], $M \pm \Delta$ відповідно до фазового стану середовища	
		молочний колір	прозорість
Заморожування	1,2 \pm 0,1	45,5 \pm 5	55,4 \pm 5
	27,7 \pm 2,4	40,5 \pm 5	50,8 \pm 5
	95,0 \pm 5,4	35,2 \pm 5	45,7 \pm 5
	250,0 \pm 12,0	25,3 \pm 5	35,9 \pm 5
Відтавання	3,6 \pm 1,2	50,7 \pm 5	60,5 \pm 5
	42,0 \pm 4,8	45,1 \pm 5	60,3 \pm 5
	200,0 \pm 11,2	35,0 \pm 5	45,5 \pm 5
	270,0 \pm 15,1	30,1 \pm 5	40,0 \pm 5

Отримані критичні концентрації розчину етиленгліколю, при яких середовище залишається прозорим або набуває молочного кольору, використовували для визначення графічної залежності міри помутніння середовища від концентрації етиленгліколю і швидкості заморожування-відтавання (рис. 1).

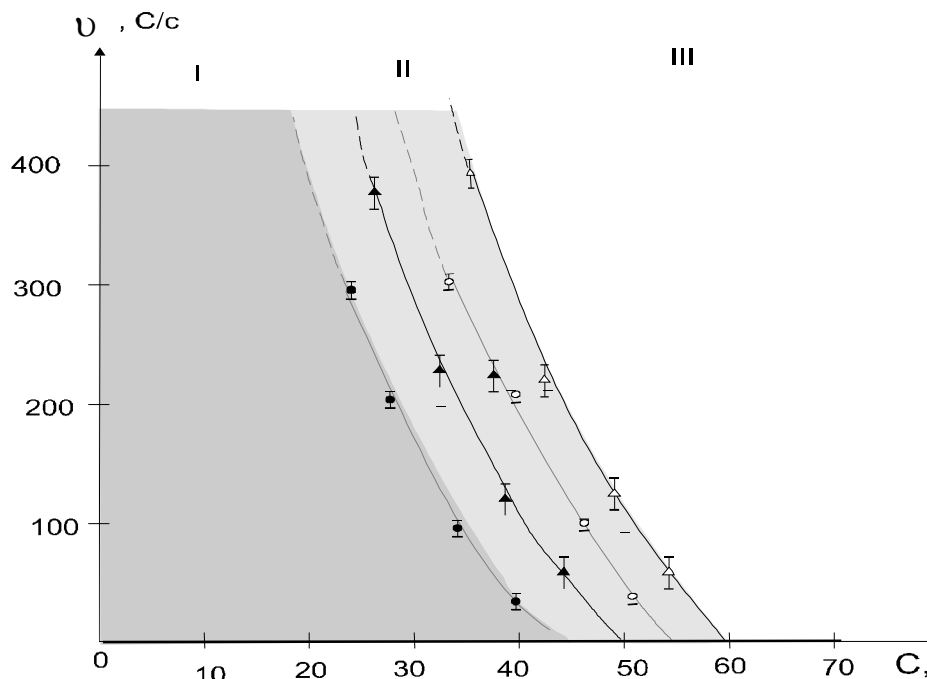


Рис. 1. Фазовий стан криоахисного середовища залежно від швидкостей охолодження-нагріву і концентрації етиленгліколю:

- I – зона зростання кристалів;
- II – критична зона;
- III – зона склування;
- – охолодження;
- ▲ – зростання кристалів;
- △ – нагрів;
- – склування середовища;
- – екстраполяція в область вищих швидкостей.

Експериментально отримані нами залежності фазового стану середовища від концентрації кріопротектору (етиленгліколю) і швидкості охолодження-нагріву мають схожість з характерними кривими залежності розмірів кристалів льоду від швидкості охолодження [12, 13]. Аналізуючи характер даної залежності, необхідно відзначити, що в діапазоні швидкостей охолодження-нагріву, які реалізуються, критичні зони кристалоутворення мають характер близький до лінійного. Екстраполяція залежності в область вищих швидкостей заморожування-відтавання дозволяє прогнозувати зниження концентрації етиленгліколю в середовищі. Критичні зони кристалоутворення для розчину етиленгліколю відрізняються від зон, отриманих раніше [14] для гліцерину і сахарози. Порівняльний аналіз показав, що критичні зони кристалоутворення розчину етиленгліколю зміщуються приблизно на 5–7 % у бік високих концентрацій порівняно з гліцерином і у напрямі низьких концентрацій порівняно з сахарозою в широкому діапазоні швидкостей заморожування-відтавання. Подібна розбіжність свідчить про те, що здатність етиленгліколю до склування більша, ніж в сахарози, і менша, ніж в гліцерину.

За допомогою регресійного аналізу отримали математичне рівняння (1), яке дозволяє спростити визначення мінімальної концентрації етиленгліколю, що забезпечує прозорість середовища, при заданій швидкості відтавання:

$$C_{et}(v) = a_0 v^2 - a_1 v + a_2, \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{де } a_0 &= 6,68 \times 10^{-5}; \\ a_1 &= 6,85 \times 10^{-2}; \\ a_2 &= 56,79 \quad (R=0,999). \end{aligned}$$

Мінімальну концентрацію вітрифікуючого розчину, що містить етиленгліколь і сахарозу, який забезпечує прозорість середовища при швидкості охолодження-нагріву $6 \cdot 10^3$ °C/хв, визначили за допомогою формули (2) запропонованою [14].

$$C_{min}^e(v) = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_i(v), \quad (2)$$

де C_{min}^e – мінімальна концентрація вітрифікуючого розчину, яка забезпечує прозорість останнього при відтаванні (% , [v/v]);

n – кількість видів кріопротекторів, які входять до складу вітрифікуючого розчину;

v – швидкість відтавання (°C/с);

$\sum C_i(v)$ – сума мінімальних концентрацій етиленгліколю і сахарози при заданій швидкості відтавання, яка забезпечує прозорість вітрифікуючого розчину (% , [v/v]);

На підставі літературних даних встановили, що оптимальне співвідношення у вітрифікуючому розчині таких кріопротекторів як етиленгліколь і сахароза складає 1:2 при високих швидкостях заморожування-відтавання. Передбачили, що дане співвідношення виконуватиметься і при надвисоких швидкостях охолодження-нагріву. Згідно з нашими оцінками, концентрація вітрифікуючого розчину для кріоконсервування ембріонів миші і корови склала 53 % (35 % етиленгліколю і 18 % сахарози), у співвідношенні 2 : 1.

Отримані дані мають практичне значення, оскільки дозволяють проводити напівемпіричні дослідження, спрямовані на оптимізацію технології кріоконсервування ембріонів ссавців, що значно знижує витрати часу та біоматеріалу і, як наслідок, вирішити ряд етичних та економічних проблем.

Висновки. Встановлено, що мінімальна концентрація вітрифікуючого розчину кріопротектору, що містять етиленгліколь і сахарозу, котра забезпечує склування в процесі охолодження-нагрівання, складає (53 % [v/v]).

Перспективи подальших досліджень. Вважаємо, що отримана мінімальна концентрація вітрифікуючого розчину з різним об'ємним співвідношенням етиленгліколю і сахарози, яка забезпечує склування середовища в широкому діапазоні швидкостей охолодження-нагріву, може сприяти оптимізації технології кріоконсервування ембріонів ссавців. Тому надалі будуть проведені дослідження з вивчення впливу вітрифікуючого розчину, що складається з етиленгліколю і сахарози на збереженість та життєздатність деконсервованих ембріонів миші і корови, при використанні надвисокої швидкості охолодження-нагріву.

Література

1. Горбунов Л. В. Получение сверхвысоких скоростей замораживания для криоконсервации ооцитов и эмбрионов млекопитающих / Л. В. Горбунов, Н. Д. Безуглый // Матер. междунар. научно-практич. конфер., посвященной 80-летию со дня рождения Эснера Федора Федоровича. – Харьков. – 1996. – С. 64.
2. Грищенко В. И. Некоторые аспекты криоконсервации эмбрионов и спермы / В. И. Грищенко, Ю. В. Калугин, Н. А. Лучко // Проблемы криобиологии, № 2. – 1994. – С. 2–36.
3. Безуглый М. Д. Методи біотехнології відтворення сільськогосподарських тварин / М. Д. Безуглый – Харків, 2002. – 154 с.
4. Сверхбыстрое замораживание эмбрионов тварин и коров без “классической эквивалентности” / В. В. Исаченко, В. И. Грищенко, Ф. И. Осташко [и др.] // Проблемы криобиологии. – 1994. – №3. – С. 3–7.
5. Saragusty J., Arav A. Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification / J. Saragusty, A. Arav // Reproduction. – 2011. – Vol. 141. – P. 1–19.
6. Vajta G. Open pulled straw [OPS] vitrification: a new way to reduce cryoinjuries of bovine ova and embryos / G. Vajta, P. Holm, H. Callesen // Molecular reproduction and development. – 1998. – Vol. 51. – P. 53–58.
7. Do V. H. Benefits and Constraints of Vitrification Technologies for Cryopreservation of Bovine In Vitro Fertilized Embryos / V. H. Do, S. Walton, A. W. Taylor-Robinson // Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry. – 2014. – Vol. 1, № 5. – P. 1–5.
8. Вплив різних швидкостей заморожування на збереженість ооцитів корови / Саліна А. С., Троцький П. А., Гузеватий О. Е., Горбунов Л. В., Лісіна К. Г., Безуглый М. Д. – Біологія тварин. – 2007. – Том 9, № 1-2. – С. 251–256.
9. Massip A. Recent progress in cryopreservation of cattle embryos / A. Massip, P. Van der Zwaimen, F. Ectors // Theriogenology. – 1987. – Vol. 27. – P. 69–79.
10. Пат. 11277 Україна, МКВ 7 F25 D 3/10, A61 D 19/00. Пристрій для заморожування або розморожування біологічних об'єктів / Горбунов Л. В., Кабачний В. І., Горбунова Н. І., Гринжевський М. В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – №u200505994; заявл. 17.06.2005; опубл. 15.12.2005; Бюл. № 12. – 8 с.

11. Горбунов Л. В. Визначення критичної зони кристалоутворення в циклі заморожування-відтавання біооб'єкта / Л. В. Горбунов, І. А. Морозова // Збірник матеріалів II Міжнародної конференції. Використання сучасних молекулярно-генетичних і біотехнологічних розробок у генетико-селекційних дослідженнях. – Київ, Аграрна наука. – 1998. – С. 93–95.

12. Зинченко А. В. Исследование фазовых переходов и физических состояний водных растворов многоатомных спиртов в диапазоне температур -150±0 °С : автореф. дис. на соискание уч. степени канд. физ-мат. наук : спец. 01.04.15 «молекулярная физика» / А. В. Зинченко – Киев, 1983. – 20 с.

13. Boutron P. Comparison with the theory of the kinetics and extent of ice crystallization and of the glass-forming tendency in aqueous cryoprotective solutions / P. Boutron // Cryobiology. – 1986. – V. 23. – № 2. – P. 88–102.

14. Безуглый Н. Д. Определение критической зоны кристаллообразования раствора глицерина в широком диапазоне скоростей замораживания-оттаивания / Н. Д. Безуглый, Л. В. Горбунов, И. А. Морозова // Проблемы криобиологии. – 2000. – № 3. – С. 3–7.

Стаття надійшла до редакції 24.03.2015

УДК 585.25/645.78/635.5

Сокульський І. М., к.вет.н., доцент,

Sokulskiy_1979@ ukr.net

Горальський Л. П., д.вет.н., професор

Житомирський національний агроекологічний університет, м. Житомир, Україна

Демус Н. В., к.вет.н., доцент ©

Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького, м. Львів, Україна

ОСОБЛИВОСТІ ГІСТОМОРФОЛОГІЇ ТА ГІСТОХІМІЇ ГРУДНИХ І ШИЙНИХ ВІДДІЛІВ СПИННОГО МОЗКУ ДОМАШНЬОЇ КУРКИ

Проведені дослідження дозволили визначити особливості морфофункціональної та морфометричної характеристики у грудних і шийних відділах спинного мозку домашньої курки. Наведена кількісна характеристика нейронного складу в структурі сірої речовини спинного мозку курей. Аналіз результатів власних досліджень та їх співставлення з літературними даними, працями ряду вчених вказує на те, що групи нервових клітин з однаковим функціональним значенням утворюють ядра сірої речовини спинного мозку. У спинному мозку курей ми виділили такі ядра: – у дорсальних рогах: власне ядро дорсального рогу, ядро Кларка, – у латеральних рогах: латеральне та медіальне проміжні ядра, – у вентральних рогах: латеральне, центральне і медіальне ядра. Дані ядра, які розміщені у ділянках мозку вирізняються кількістю нейронів, їх розмірами та формою перикаріонів. Встановлено, що нейроцитарна організація сірої речовини шийного і грудного відділу спинного мозку неоднорідна за відсотковим співвідношенням і відповідно характеризується наявністю великих, середніх та малих нервових клітин з різним ядерно-цитоплазматичним відношенням. Також з'ясовано вміст локалізації та розподіл нуклеїнових кислот та білкових сполук у гістоструктурі спинного мозку на тканинному та клітинному рівнях.