

## Инициация внеклеточного кристаллообразования при замораживании спермиев быка

А.Г. МИШЕНКО, Л.В. ГОРБУНОВ  
Институт животноводства УААН, г. Харьков

## Initiation of Extracellular Crystal Formation When Freezing Bovine Sperm

A.G. MISCHENKO, L.V. GORBUNOV  
Animal Breeding Institute, Ukrainian Academy of Agricultural Sciences, Kharkov

Установлено, что инициация внеклеточного кристаллообразования повышает сохранность деконсервированного биологического материала (Олейник С.Т., 1987). Так, при охлаждении спермиев рыбы с целью минимизации переохлаждения применяют ступенчатое охлаждение (Копейка Е.Ф., 1986). Спермии быка замораживают без использования иницирующих рост кристаллов элементов (Осташко Ф.И., 1990), вследствие чего увеличивается величина переохлаждения образца и понижается сохранность деконсервированного биообъекта.

Цель работы – исследование влияния инициации внеклеточного кристаллообразования на подвижность деконсервированных спермиев быка и последующая разработка контейнера для их содержания при замораживании-оттаивании.

При замораживании спермиев быка инициация внеклеточного кристаллообразования происходила посредством создания интенсивного теплоотвода в нижней части образца по металлическому иглообразному стержню. Стержни, иницирующие рост кристаллов, одним концом касались охлаждаемой среды, а другим – дна термоблока, который располагался в горловине сосуда Дьюара. Установлено, что при инициации роста кристаллов подвижность деконсервированных спермиев быка увеличивается с  $35,6 \pm 2,5$  до  $45,9 \pm 2,5\%$  вследствие уменьшения переохлаждения и интенсивности выброса скрытой теплоты кристаллизации.

На основе полученных результатов разработан технологический контейнер конусообразной формы для размещения спермиев животных при низкотемпературном консервировании. Такая форма применяется для усиления степени инициации кристаллообразования. Определены условия заполнения-извлечения биоматериала, при которых воздействия на спермии величин гидродинамического давления и напряжения сдвига минимальны. Установлено, что подвижность спермиев быка понижается на  $21,7 \pm 2,5\%$ , при увеличении скорости заполнения-извлечения – с 1 до 2 мл/с и уменьшении диаметра нижнего отверстия контейнера – с 0,5 до 0,3 мм.

Разработанный контейнер удобен для заполнения-извлечения биоматериала в процессе криоконсервирования, а также соблюдения правил асептики.

It has been established that initiation of extracellular crystal formation increases the survival of frozen-thawed biological material (Olejnik S.T., 1987). So, during cooling of fish sperm to minimize overcooling there was used stepwise cooling (Kopejka E.F., 1986). Bovine sperm is frozen with no use of initiating crystal growth elements (Ostashko F.I., 1990), as the consequence of that the value of overcooled sample increases and the survival of frozen-thawed object reduces.

The research aim was to study the effect of initiation of extracellular crystal formation on the motility of frozen-thawed bovine sperm and following designing of the container for their maintenance during freeze-thawing.

When freezing bovine sperm the initiation of extracellular crystal formation occurred by the creation of intensive heat-conducting in the sample bottom along side of metal needle-like rod. One end of the rods initiating the crystal growth reached a medium to be cooled and another one did the thermal block bottom, the block was located in Dewar vessel neck. It has been found that during initiation of crystal growth the motility of frozen-thawed bovine sperm increases from  $35.6 \pm 2.5$  to  $45.9 \pm 2.5\%$  due to a decrease in overcooling and intensity of latent crystallization heat release.

On the base of the results obtained there has been developed technological container of cone-like shape to place the animal's sperm under low temperature preservation. This shape is used for strengthening the initiation degree of crystal formation. There have been determined the conditions of filling and removing of biological material under which the effects on sperm of the values of hydrodynamic pressure and shift tension are minimal. It has been found that motility of bovine sperm reduces by  $21.7 \pm 2.5\%$  with a rise in the rate of filling-removing from 1 to 2 ml/sec and reduction of diameter of container lower aperture from 0.5 to 0.3 mm.

Designed container is easy to be used for filling and removing of biological material during cryopreservation as well as meeting the aseptic requirements.