

ЗАХОВАНА ТЕПЛОТА КРИСТАЛІЗАЦІЇ ТА ЇЇ ВПЛИВ НА ВИЖИВАНІСТЬ СПЕРМИ БУГАЇВ

В. Й. ВИШНЕВСЬКИЙ, кандидат біологічних наук

О. В. МАРЮЩЕНКО, інженер

Науково-дослідний інститут тваринництва
Лісостепу і Полісся УРСР

При дії низьких температур на клітини особливу роль відіграють початкові етапи заморожування. Більшість дослідників вважають, що на початку заморожування необхідно проводити повільно з поступовим збільшенням швидкості охолодження (О'Делл, Олмквіст, Марш, 1958; Ф. І. Осташко, 1968). Суть повільного охолодження полягає в тому, щоб дати клітині можливість адаптуватися в нових для неї умовах поступового припинення обмінних процесів.

Початковий період заморожування характеризується глибоким переохолодженням сперми. Полдж, Якобсен (1959) відмічали, що при повільному способі заморожування сперма переохолоджувалась майже до -10° .

Коли сперма переохолоджується, її температура стає нижчою від температури кристалізації. Це триває доти, поки в рідині не виникають кристалики льоду. При перебудові кристалічної решітки виділяється захована теплота, яка сприяє підвищенню температури сперми до температури її кристалізації. Потім процес формування кристалічної решітки продовжується при сталій температурі.

У своїх дослідях Гофо (1964, 1966), Рау (1967) підтвердили доцільність повільного початкового заморожування і приділили особливу увагу періоду переходу від рідкої фази до фази кристалізації.

У результаті проведеної раніше роботи (В. Й. Вишневський, О. В. Марющенко, 1973) щодо виділення захованої теплоти кристалізації при заморожуванні з різними швидкостями сперми бугаїв встановлено, що із підвищенням швидкості заморожування підвищується швидкість виділення захованої теплоти, зменшується тривалість фазового переходу й кристалоутворення.

У даній роботі ми досліджували швидкість виділення захованої теплоти, тривалість кристалоутворення, тривалість фазового переходу рідина — лід при заморожуванні та їх вплив на виживаність спермійв бугаїв.

Методика досліджень. Для дослідів використовували сперму бугаїв, розбавлену глюкозо-цитратно-жовтковим розбавлювачем з гліцериним і підготовлену до заморожування за загальноприйнятою методикою (Ф. І. Осташко, О. Д. Бугров, 1968).

Заморожування проводили в поліетиленових ампулах в посудині із спиртом при швидкості $1-2$ град/хв. Для вирівнювання температури спирту в усій посудині користувались електричною мішалкою. Холодоагентом був рідкий азот.

Виділення захованої теплоти кристалізації реєстрували за допомогою транзисторного датчика з приладом для вимірювання

температур в малих об'ємах речовин. Датчик занурювали в ампулу так, щоб його кінець знаходився точно посередині об'єму сперми. Зміни температури в процесі виділення захованої теплоти кристалізації записувалися на стрічку автоматичного потенціометра. Типова залежність зміни температури сперми від часу при її охолодженні відтворена на рисунку.

Результати досліджень.

Досліди проводили на 20 еякулятах різних бугаїв-плідників.

Дані, наведені в таблиці 1, свідчать, що температура переохолодження T_1 в середньому дорівнює $-5,595^\circ$ і змінюється від $-4,3$ до $-8,1^\circ$.

Температура початку кристалізації також не є сталою і змінюється від $-3,3$ до $-4,8^\circ$.

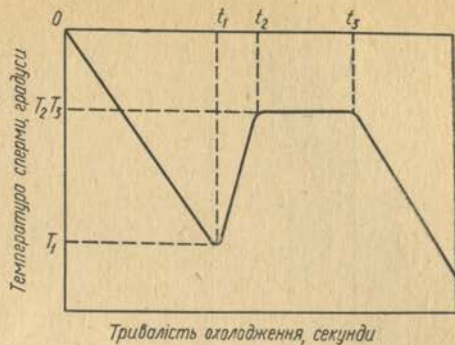
Тривалість фазового переходу рідина — лід (t_1-t_2) при середній величині $33,25$ сек дуже змінюється — від 4 до 90 сек. Такі значні зміни пов'язані з характером виділення захованої теплоти кристалізації. Слід зазначити, що підвищені значення тривалості фазового переходу позитивно впливають на активність спермійв. Так, при тривалості її 90 сек активність після виділення захованої теплоти становила 5,5 бала, а при тривалості 4 сек — 2,0 бала.

Тривалість кристалізації змінюється від 20 до 122 сек при середній величині $58,75$ сек. Середня швидкість виділення захованої теплоти становить $0,121$ град/хв, проте вона значно змінюється (від $0,008$ до $1,2$ град/хв).

Аналізуючи корелятивні зв'язки між швидкістю та параметрами захованої теплоти, наведені у таблиці 2, слід зазначити, що зростання швидкості виділення захованої теплоти кристалізації негативно впливає на активність статевих клітин бугаїв ($r=-0,548$).

Температура (T_1) й глибина переохолодження (T_1-T_2) прямо пропорціонально залежать від швидкості виділення тепла ($r=0,779$; $r=0,807$). Температура переохолодження є основною в значенні захованої теплоти, оскільки від її величини в першу чергу залежить величина глибини переохолодження, а від характеру спаду температури (від T_1 до T_2) — тривалість фазового переходу рідина — лід. Із зменшенням глибини переохолодження спостерігається зростання t_1-t_2 ($r=-0,646$).

Тривалість фазового переходу рідина — лід зв'язана негативним зв'язком з V_T . Чим більша тривалість, тим менша величина швидкості ($r=-0,484$).



Динаміка зміни температури сперми бугаїв у процесі виділення захованої теплоти кристалізації:

T_1 — температура переохолодження; T_2 , T_3 — температури початку й кінця кристалізації; t_1-t_2 — тривалість фазового переходу рідина — лід; t_2-t_3 — тривалість кристалізації.

1. Залежність активності спермійів бугаїв від параметрів кристалізації

Клички бугаїв	Активність сперми перед заморожуванням, балн	$T_{\text{г}}, \text{градуси}$	$T_{\text{г}}, \text{градуси}$	$T_{\text{г}}, \text{градуси}$	$t_1 - t_2, \text{сек}$	$t_2 - t_3, \text{сек}$	Активність в кінці кристалізації, балн (a_3)	Кількість загиблих спермійів: $\frac{a_H - a_3}{a_H} \cdot 100\%$	Швидкість відлянення захищеної теплоти, град/кг
Епізод	5,5	-5,2	-4,0	-4,0	52	53	5,0	9,1	0,023
Виноград	6,0	-4,9	-4,0	-4,0	90	51	5,5	8,34	0,010
Лиман	6,0	-4,7	-3,8	-3,8	25	53	5,0	16,7	0,020
Біг	6,0	-4,3	-4,0	-4,0	34	28	2,0	66,6	0,008
Морж	6,0	-5,8	-3,6	-3,6	25	45	4,5	25,0	0,008
Розбій	6,0	-5,4	-3,5	-3,5	28	45	4,0	33,4	0,067
Турбан	6,0	-4,8	-3,6	-3,6	40	56	5,0	16,7	0,030
Ворот	6,0	-5,5	-3,6	-3,6	24	84	5,5	8,34	0,079
Макет	5,5	-5,6	-4,1	-4,1	21	26	5,0	9,10	0,071
Зонд	5,5	-5,0	-3,6	-3,6	40	53	3,0	45,5	0,035
Фокус	5,0	-7,5	-3,6	-3,6	15	80	4,5	10,0	0,260
Екстерн	4,5	-6,0	-3,4	-3,4	13	20	4,5	0	1,200
Сладок	5,0	-8,1	-3,3	-3,3	4,0	68	2,0	60,0	0,200
Кокон	5,0	-4,8	-3,3	-3,3	50	42	5,0	0	0,030
Копок	5,0	-5,8	-3,3	-3,3	23	40	4,0	20,0	0,109
Кшарис	6,0	-6,7	-4,7	-4,7	15	68	5,0	16,7	0,133
Чепурний	6,0	-5,8	-4,3	-4,3	18	37	5,0	16,7	0,083
Турист	5,5	-5,1	-4,3	-4,3	43	90	5,0	9,10	0,018
Лиман	5,5	-5,5	-4,3	-4,3	45	122	5,0	9,10	0,027
Екстерн	6,0	-5,4	-4,8	-4,8	60	114	5,0	16,7	0,010
<i>M</i>	5,60	-5,595	-3,855	-3,855	33,250	58,750	4,4750	19,854	0,12105
σ	0,47573	0,93160	0,45364	0,45364	19,950	27,587	1,0193	18,250	0,26279
<i>m</i>	0,10637	0,20831	0,10143	0,10143	4,4608	6,1685	0,22792	4,0807	2,058760
C_b	8,4951	16,651	11,767	11,767	60,00	46,956	22,777	91,922	217,09
<i>t</i>	52,646	26,859	38,007	38,007	7,4540	9,5240	19,634	4,8654	2,060

2. Корелятивний зв'язок між швидкістю виділення захованої теплоти кристалізації ($v_T = \frac{T_1 - T_2}{t_1 - t_2}$), параметрами тепла та активністю після закінчення кристалотворення

Показники	<i>r</i>	<i>m</i>	<i>t</i>
$V_T \cdot T_1$	0,77887	0,14784	5,2684
$V_T \cdot T_2$	-0,33642	0,22196	1,5157
$V_T \cdot (T_1 - T_2)$	0,80701	0,13919	5,7980
$V_T \cdot T_3$	-0,33642	0,22196	1,5157
$V_T \cdot (t_1 - t_2)$	-0,48375	0,20629	2,345
$V_T \cdot (t_2 - t_3)$	0,046174	0,23545	0,19611
$V_T \cdot a_3$	-0,54795	0,19716	2,7792
$(T_1 - T_2) \cdot (t_1 - t_2)$	-0,64554	0,18002	3,586

Примітка. При визначенні корелятивних зв'язків в рядах негативних температур знак «мінус» не враховувався.

Корелятивні зв'язки між кількістю загиблих спермій та параметрами захованої теплоти кристалізації наведені в таблиці 3. Зростання швидкості виділення теплоти призводить до збільшення кількості загиблих спермій ($r=0,438$). Малі значення інших зв'язків пояснюються тим, що кожний з параметрів захованої теплоти кристалізації лише деякою мірою впливає на виживаність спермій. Проте спостерігається тенденція до збільшення кількості загиблих спермій із збільшенням глибини переохолодження і зменшенням часу фазового переходу з рідкого стану до кристалічного.

3. Корелятивний зв'язок між кількістю загиблих спермій ($\Delta a_3 = \frac{a_n - a_3}{a} \cdot 100\%$) та параметрами захованої теплоти кристалізації

Показники	<i>r</i>	<i>m</i>	<i>t</i>
$\Delta a_3 \cdot V_T$	0,43784	0,21191	2,0662
$\Delta a_3 \cdot T_1$	0,10463	0,23442	0,44634
$\Delta a_3 \cdot T_2$	-0,15385	0,2329	0,66059
$\Delta a_3 \cdot T_3$	-0,15385	0,2329	0,66059
$\Delta a_3 \cdot (t_1 - t_2)$	-0,23897	0,22888	1,0441
$\Delta a_3 \cdot (t_2 - t_3)$	-0,15597	0,23283	0,66989
$\Delta a_3 \cdot (T_1 - T_2)$	0,15339	0,23292	0,65855

Таким чином, переохолодження й виділення захованої теплоти кристалізації для більшості еякулятів бугаїв змінюються в допустимих межах і не є небезпечними при заморожуванні спермій. Для сперми небезпечно глибоке переохолодження тільки в тих випадках, коли виділення захованої теплоти відбувається протягом декількох секунд. Швидке виділення захованої теплоти кристалізації на початковому етапі заморожування спермій бугаїв негативно діє на їх

вживаність. Воно зумовлено зростанням глибини переохолодження та зменшенням тривалості фазового переходу рідина — лід.

ЛІТЕРАТУРА

В. И. Вишнеvский, А. В. М а р ю ш е н к о. Выделение скрытой теплоты кристаллизации при замораживании спермы быков с разными скоростями. Тезисы доклада конференции по биофизике НТОРЭС им. А. С. Попова, Харьков, 1973. Ф. И. Осташко. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей. К., «Урожай», 1968.

Goffaux M. Influence de deux caracteres du processus de refroidissement du sperme de taureau sur la motilite apres congelation. 5^o Congr. internaz. riproduz. anim. efecondaz. artific. Trento, 1964, Vol 4, Casciaqo, s. a. 687—692.

O'Dell W. T., Almqvist J. O., Marsh L. A., Freezing, bovine semen. III Effect of freezing rate on bovine spermatozoa frozen and stored at —79°C. «J. Dairy Sci.», 1958, 41, 1.

Polge C., Jakobsen K., Techniques for freezing bull semen. «Veterin. Rec.», 1959, 71, 44, 928—932.

Rowe A. W. The significance of the aqueous—ice phase transformation during controlled rate cooling of biological specimens. «Cellul. Injury and Resistance Freez. Organisms», Vol 2, Sapporo. Hokkaido Univ, 1967, 21—31.

БІЛКОВИЙ СКЛАД ПЛАЗМИ СПЕРМИ БУГАЇВ

Л. О. ШЕВЧЕНКО, кандидат біологічних наук

Українська сільськогосподарська академія

Плазма сперми бугаїв дуже багата на білки. За даними П. М. Шергіна (1967), рівень їх знаходиться в межах 3—8%. Ці білки вивчались мало. Окремі дослідники відмічали схожість деяких фракцій плазми сперми з відповідними фракціями сироватки крові. В. А. Яблонський і М. Х. Соттаєв (1966, 1970) встановили, що характерною рисою електрофореграми сперми бугая в агаровому гелі є високий вміст фракції з рухливістю α -глобулінів і мала концентрація компонентів типу альбуміну. Встановлена (імунофоретично) схожість шести фракцій білків сперми з аналогічними фракціями сироватки крові. Щодо альбумінової фракції, то її появу в плазмі сперми пов'язують з погіршенням якості сперми.

Ми спробували фракціонувати сперму бугаїв симентальської та чорно-рябої порід за допомогою методики дифузного висолювання (М. В. Зеленський, 1954), що дає змогу виділити в білкових середовищах фракції, аналогічні електрофоретичним. Одночасно провели фракціонування сироватки крові бугаїв-плідників тих же порід (табл. 1). Дослідження проводили в 1974 р. на матеріалі від бугаїв-плідників Центральної дослідної станції. При цьому встановили, що загальна кількість білка сироватки крові у бугаїв цих порід практично була однаковою, проте у бугаїв чорно-рябої породи було більше γ -глобулінів, а у бугаїв симентальської — α -альбумінів, що, очевидно, є їхньою породною особливістю. А/Г становить відповідно 0,76 і 0,59.

Фізико-хімічна характеристика плазми сперми бугаїв двох по-