

ВИЗНАЧЕННЯ БЕЗПЕЧНИХ ДОЗ УЛЬТРАЗВУКОВИХ КОЛИВАНЬ ДЛЯ СПЕРМИ БУГАЇВ-ПЛІДНИКІВ

В. Й. ВИШНЕВСЬКИЙ, кандидат біологічних наук

А. В. МАРЮЩЕНКО, інженер

Науково-дослідний інститут тваринництва
Лісостепу та Полісся УРСР

Останнім часом підвищився інтерес до вивчення взаємовідносин між біологічними структурами та ультразвуковими коливаннями. Не являє собою винятку і штучне осіменіння, яке оперує одними із найчудовіших клітин. Клітини, важливість яких в перенесенні генетичної інформації важко переоцінити і морфологія яких є одною із найскладніших, а здатність до автономного руху може бути найчутливішим контролем їх фізіологічної та структурної цільності.

Вплив ультразвукових коливань на сперму провадили з різною метою. Цитл і О'Делл (1941), Іверсен (1965) використовували їх для руйнування спермій, Шолтисек (1953) — для визначення співвідношення статі, Г. Ф. Бондарев (1968) — для прогнозування запліднювальної здатності, В. Й. Вишневський і Б. О. Скорняков (1973) — для визначення кріогенних пошкоджень.

Як фізичний фактор ультразвук призводить до структурних, фізіологічних і фізико-хімічних змін в опроміненних органах, тканинах та клітинах. Позитивна чи негативна дія його залежить від багатьох причин, першорядне значення серед яких мають параметри ультразвукових коливань. Серед них найважливішими є інтенсивність та час експозиції.

Пристаючи до вивчення впливу ультразвукових коливань на сперму бугаїв-плідників з метою підвищення ефективності заморожування і удосконалення технології підготовки її до заморожування, необхідно визначити безпечні для спермій дози ультразвуку.

Методика досліджень. У дослідах використовували розбавлену першим середовищем сперму бугаїв-плідників різних порід, активність якої становила не менше 7—8 балів. Дослідження проводили на Харківській обласній державній племінній станції у 1971 р. Сперму розбавляли глюкозо-цитратно-жовтковим розріджувачем за загальноприйнятою методикою (Ф. І. Осташко, О. Д. Бугров, 1968).

Опромінення ультразвуком проводили в спеціальних судинах з плоским дном, в які наливали по 2,5 мл сперми. Джерелом ультразвукових коливань був ультразвуковий терапевтичний прилад (УТП-1) з робочою частотою 880 кГц. Судину з досліджуваною спермою ставили на головку перетворювача так, щоб ультразвукові коливання поширювалися через дно судини в сперму. Для кращого акустичного контакту на поверхню перетворювача наносили тонкий шар гліцерину. На сперму діяли різними за інтенсивністю та часом експозиції дозами

1. Активність сперми після озвучування інтенсивністю 1 вт/см²

Клички бугаїв	Активність перед озвучуванням, бала	Тривалість озвучування, хв			
		15	30	45	60

Аспірант 71416	7	5	4	3	е. п.
Листок 7350	7	6	3	2	е. п.
Поток 9266	7	6	4	2	е. п.

ультразвуку. Після цього визначали її активність і переживаність, які порівнювали з неозвученою спермою. Обробку сперми ультразвуком проводили при температурі 37°C.

Результати досліджень. Активність сперми після озвучування інтенсивністю 1 вт/см² наведена в таблиці 1.

Обробка ультразвуком протягом 15 хв. і більше призводить до помітного зниження активності сперми. Вища інтенсивність ультразвукових коливань ще більше пригнічує рухливість спермій і вбиває їх. Так, при озвучуванні інтенсивністю 2 вт/см² сперми бугая Аспіранта 71416 протягом 5 хв активність її дорівнювала 5 балам, а після 10 хв — всі спермії були мертвими. Тому треба не підвищувати інтенсивність ультразвуку, а зменшувати час його дії при інтенсивності коливань 1 вт/см². У таблиці 2 наведено активності сперми після озвучування експозиціями меншими за 15 хвилин.

2. Активність сперми після озвучування інтенсивністю 1 вт/см² при малих експозиціях

Клички бугаїв	Активність перед озвучуванням, бала	Тривалість озвучування, хв			Клички бугаїв	Активність перед озвучуванням, бала	Тривалість озвучування, хв.		
		5	10	15			5	10	15

Кефір 509	8	7	7	6	Мускат 726	8	—	8	—
Аспірін 1768	8	8	7	7	Котлас 708	8	—	8	—
Король 572	8	7	7	5	Соловей 588	8	—	8	—
Бархат 215	8	8	8	7	Жирок 827	8	8	8	8
Етап 4127	8	8	8	7	Середня	8	7,7	7,7	6,7
Славний 8898	8	8	8	7					

Після озвучування сперми активність її вірогідно зменшувалася порівняно з контролем тільки після 15-хвилинної експозиції ($td=3,57$). Зменшення активності від 8 до 7,7 бала при 5 і 10 хвилинах озвучення виявилось невірогідним ($td=1,55$; $td=1,96$). Причиною цього були, мабуть, додаткові маніпуляції при розливанні сперми в судини.

Отже, дія ультразвукових коливань інтенсивністю 1 вт/см² протягом 10 хв істотно не впливає на її рухливість. Для того, щоб виявити вплив ультразвуку на тривалість життя сперми, визначали абсолютний показник переживаності і переживаність в годинах при температурі 38°C (табл. 3 і 4).

Абсолютний показник переживаності сперми після 10-хвилинного озвучування не відрізнявся від показника переживаності неозвученої сперми ($td=0,46$). Більше того, при 5-хвилинному озвучуванні він був навіть вищим при такій самій вірогідності ($td=0,47$). Переживаність сперми в годинах після 5- і 10-хвилинного озвучування (табл. 4) вияви-

3. Абсолютний показник переживаності сперми після різної тривалості ультразвукових коливань інтенсивністю 1 вт/см²

Клички бугаїв	Без озвучування	Після озвучування протягом хвилин		
		5	10	15
Кефір 509	2,275	2,175	2,275	1,700
Король 572	2,975	2,925	2,675	1,400
Бархат 215	3,125	3,175	3,000	1,980
Славний 8898	3,100	3,000	2,900	2,150
Жирок 827	2,500	2,300	2,200	1,550
Мускат 726	1,750	—	1,750	—
Котлас 708	2,300	—	2,500	—
Соловей 588	2,700	—	2,600	—
Середній	2,590	2,715	2,487	1,757

лася теж вищою, ніж неозвученої сперми при дещо вищій, але все ще недостатній вірогідності ($td=0,91$; $td=0,17$). Абсолютний показник переживаності і переживаність в годинах після 15-хвилинного озвучення виявилися нижчими порівняно з неозвученою спермою і вірогідні ($td=3,82$ і $td=2,81$ відповідно).

4. Переживаність сперми в годинах після різної тривалості ультразвукових коливань інтенсивністю 1 вт/см²

Клички бугаїв	Без озвучування	Після озвучування протягом хвилин		
		5	10	15
Кефір 509	6,5	6,5	6,5	5,0
Король 572	6,5	6,5	6,5	5,0
Бархат 215	7,0	7,5	7,5	6,0
Славний 8898	7,0	7,0	7,0	6,0
Жирок 827	6,0	6,0	6,0	5,0
Мускат 726	5,0	—	5,0	—
Котлас 708	6,0	—	6,0	—
Соловей 588	7,0	—	7,0	—
Середня	6,37	6,70	6,43	5,40

Спостерігали також тенденцію до збільшення переживаності сперми, озвученої малими дозами ультразвуку. Активізацію рухомості спермій після дії ультразвукових коливань спостерігали також Лустіг і Ліндаль (1970). Фотографічним методом за траєкторію руху вони визначили швидкість спермій і виявили, що в деяких зразках вона збільшувалась. Вплив ультразвуку був неоднаковий в різних дослідах, що автори пояснюють різною чутливістю спермій окремих бугаїв до ультразвукових коливань та перешкодами в створенні однакових умов експерименту.

Отже, при дії ультразвукових коливань на зразки розбавленої сперми, які розміщували в спеціальні судини ємкістю 2,5 мл з плоским дном, безпечною дозою слід вважати коливання інтенсивністю 1 вт/см² з тривалістю експозиції не вище 10 хвилин.

ЛІТЕРАТУРА

Бондарев Г. Ф. Определение оплодотворяющей способности спермы быков-производителей с помощью ультразвука.— В сб.: Доклады советских ученых к VI Международному конгрессу по размножению и искусственному осеменению животных. М., 1968.

Вишневський В. Й., Скорняков Б. О. Зміни швидкості розповсюдження ультразвукових коливань в спермі після швидкого охолодження.— У зб.: Молочном'ясне скотарство, вип. 31. К., «Урожай», 1973.

Осташко Ф. И., Бугров А. Д. Рекомендации по замораживанию и хранению спермы быков при температуре — 196°.— «Прапор», Харьков, 1968.

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ СПЕРМІЇВ КНУРІВ ТА БУГАЇВ ПІД ВПЛИВОМ ЗАМОРОЖУВАННЯ

Б. М. ВЕЛЬМОЖНИЙ, кандидат біологічних наук

О. О. БРУЄНКО, головний технолог

Центральна дослідна станція по штучному осіменінню
сільськогосподарських тварин

Розробка методів тривалого зберігання сперми кнурів в замороженому стані вимагає всебічного вивчення стійкості сперміїв цього виду тварин до наднизьких температур. У зв'язку з цим порівняльне дослідження морфологічних змін сперміїв кнурів, мало стійких до дії низьких температур, та сперміїв бугаїв, стійких до цих температур, становить певний інтерес.

Ми провели досліди по заморожуванню та розморожуванню сперми плідників цих видів тварин при різних режимах. При цьому вивчали морфологічні зміни сперміїв за допомогою люмінесцентного та електронного мікроскопів. У дослідях використовували розділені еякуляти від восьми бугаїв та п'яти кнурів різних порід. Свіжоодржану сперму після загальноприйнятої оцінки розводили одномоментно при температурі 30° у співвідношенні 1:1—1:3 залежно від концентрації сперміїв. Для сперми бугаїв використовували лактозо-жовткове середовище з 7% гліцерину, для сперми кнурів — глюкозо-хелато-цитратно-жовткове середовище з 5% гліцерину. Розведену сперму охолоджували за рівномірноповільними режимами.

Сперму бугаїв доводили до температури 2—4° за 2 години, сперму кнурів до 8°—за 4 години. Сперму бугаїв після 5—6-годинного еквілібрування заморожували в гранулах об'ємом 0,1 мл у лунках фторопластової пластинки, охолодженої до температури —80°, сперму кнурів розливали в скляні ампули по 1,5 мл і заморожували в спиртовій ванні, яку охолоджували через змійовник парою рідкого азоту за режимом Ніво (1963).

Взяті для дослідів синтетичні середовища та режим охолодження за