

діапазоні плюсових низьких температур він є поки що необхідним компонентом розріджувачів.

Для успішного заморожування сперми кнурів необхідно проводити пошуки речовин, які стабілізують оболонки сперміїв, тому що основні морфологічні зміни відбуваються саме в них.

ВИЖИВАНІСТЬ ЗАМОРОЖЕНО-ВІДАЛИХ СПЕРМІЇВ У СТАТЕВИХ ШЛЯХАХ СВИНОМАТОК

Б. М. ВЕЛЬМОЖНИЙ, М. Т. ПЛІШКО, Г. С. ЛІСОВЕНКО,

кандидати біологічних наук

В. Ю. ХАЗАН, науковий співробітник

Центральна дослідна станція по штучному осіменінню
сільськогосподарських тварин

В останні роки посилилась увага до розробки технології заморожування сперми кнурів. За літературними даними, запліднювальна здатність сперміїв кнурів після глибокого заморожування незначна.

У наших попередніх дослідях по штучному осіменінню свиноматок замороженою спермою кнурів заплідненість їх становила 13%. Від цих свиноматок при опоросі було одержано по 3—4 нормально розвинутих поросят.

Біологічна повноцінність і життєздатність сперміїв є головною умовою, що забезпечує високу заплідненість та плодючість осіменених свиноматок. Проведені нами морфологічні, фізіологічні і біохімічні дослідження замороженої сперми вказують на дуже малу стійкість сперміїв кнура до низьких і наднизьких температур. Під їх впливом у спермії відбуваються глибокі структурні порушення, а також знижується ферментативна активність, що призводить до погіршення їх виживання. Деякі вдосконалення технології заморожування дали змогу збільшити не лише кількість активних сперміїв після відтавання, але й час їх виживаності від 1—2 до 6—9 годин при температурі 38°. З метою вивчення виживаності у статевих шляхах свиноматок сперміїв після глибокого заморожування ми провели дві серії дослідів.

Першу серію дослідів проводили на Київському м'ясокомбінаті. З групи свиней великої білої породи віком 10—12 місяців і живою вагою 120—140 кг, що надійшли з відгодівельних господарств, де не утримують кнурів, відібрали 23 свиноматки з ознаками статевої охоти. Охоту визначали за зовнішніми ознаками і при наявності рефлексу нерухомості три надавлюванні на спину. Відібраних тварин утримували в окремому станку і одноразово осіменяли фракційним методом. Для штучного осіменіння використовували як відталу після глибокого заморожування сперму, так і свіжоодержану. У дозі було 2—2,5 млрд активних сперміїв. Як заповнювач використовували глюкозо-сольовий розчин з антибіотиками.

Сперму від кнурів різних порід (велика біла, миргородська, ландрас) заморожували за розробленою нами методикою. Свіжоодержаний еякулят після загальноприйнятої оцінки витримували 2 години в aerobicних умовах при кімнатній температурі в темному місці. Розбавляли сперму в співвідношенні 1 : 1—1 : 2 (залежно від концентрації спермійв) глюкозо-хелато-цитратно-жовтковим середовищем з добавкою 3% гліцерину та інших речовин. Розбавлену сперму розливали по 15—20 мл у плоскі пакети з алюмінієвої фольги, які герметично закривали й охолоджували в холодильнику при 3—3,5-годинному рівномірно-уповільненому режимі. Після охолодження сперми до температури 6—8° пакети переносили на фторопластову пластину, попередньо охолоджену парами рідкого азоту до температури —120° у спеціально сконструйованому приладі. Після 10-хвилинного витримання при цій температурі пакети занурювали в рідкий азот у посудині Дьюара. У таких умовах сперму зберігали від 3 до 40 діб. Для розморожування сперми пакети занурювали в глюкозо-сольовий розчин при температурі 65—76°. Активність спермійв у відталах пробах досягала в середньому 35% з коливаннями залежно від якості еякуляту від 25 до 50%; тривалість виживаності розморожених спермійв при температурі 38° досягала 6—7 годин, а в окремих випадках до 8—9 годин.

Свиноматок розподіляли на дві групи за принципом аналогів, тварин дослідної групи осіменяли замороженою спермою, контрольної — свіжоодержаною. Схему дослідів наведено в таблиці.

1. Схема дослідів

Групи	Підгрупи	Кількість тварин	Використана сперма	Розріджувачі	Час від осіменіння до забою, години	
Дослідна	I	3	Заморожено-відтала	ГХЦЖ + 3% гліцерину і добавки	2,5—3	
	II	6			4,5—5	
Контрольна	I	6	Свіжоодержана	ГХЦЖ + 3% гліцерину і добавки	2,5—3	
	II	2			4,5—5	
	III	3			ГХЦЖ	4,5—5
	IV	3			Не розбавлена	4,5—5

Осіменених свиней забивали з попереднім оглушенням електричним струмом напругою 380 вольт і досліджували статеві органи.

У ячниках підраховували кількість зрілих фолікулів і фолікулів, які щойно лопнули, а також наявність жовтих тіл. Яйцеводи відокремлювали і промивали 1 мл теплою глюкозо-сольового розчину. За допомогою камери Горяєва в промивній рідині підраховували концентрацію спермійв. З слизової середньої третини яйцеводів та верхівки рогів матки робили зіскоби і продивлялись їх під мікроскопом при різних ступенях збільшення.

Результати досліджень. У верхівках рогів матки всіх осіменених тварин було виявлено живі й мертві спермії. У 50% свиноматок, що були осіменені замороженою спермою і забиті через 2,5—3 год., знайдено поодинокі спермії з коливальним рухом, а у 80% свиноматок, осіменених незамороженою спермою, — з поступальним рухом.

Отже, виживаність незаморожених сперміїв у верхівках рогів матки набагато краща.

Концентрація сперміїв у яйцєводах обох цих підгруп свиноматок виявилась приблизно однаковою (2,16 млн/мл у осіменених свіжоодержаною спермою і 2,25 млн/мл — у осіменених замороженою спермою). В зіскобах з слизової яйцєводи і в промивній рідині були виявлені нерухомі спермії. Це свідчить про те, що в перші години після осіменіння спермії були досить активними і в достатній кількості потрапили в яйцєводи. Швидка втрата сперміями рухливості в яйцєводах обох підгруп свиней, очевидно, є наслідком дії на них електричного струму. При занурюванні в сперму на 20—30 сек. електродів з підведеною напругою 220 вольт спермії майже повністю втрачали активність. Згубна дія електричного струму на спермії в яйцєводах мабуть має місце при забої тварин. У верхівках рогів матки спермії мали вищу життєздатність. Цим зумовлюється присутність тут рухомих сперміїв. Вищезгадані обставини, на нашу думку, слід враховувати при виборі умов забою тварин у гострих дослідках.

У свиноматок, забитих через 4,5—5 годин після осіменіння, стан був іншим. У верхівках рогів маток свиней, осіменених замороженою і свіжоодержаною спермою, розбавленою ГХЦЖ-середовищем з 3% гліцерину, всі спермії були нерухомими. У свиней, осіменених свіжоодержаною спермою і спермою, розбавленою ГХЦЖ-середовищем без гліцерину, були виявлені поодинокі рухомі спермії. Кількість сперміїв у верхівках рогів матки всіх підгруп свиней, забитих у цей час, була приблизно однаковою. Це пояснюється, можливо, тим, що проникнення сперміїв у цю частину матки пов'язане не стільки з рівнем їх життєздатності, скільки зумовлено скороченням статевого апарату.

Найменша концентрація сперміїв (0,5 млн/мл) в яйцєводах була у свиней, осіменених замороженою спермою, найбільша (2,75 млн/мл) — у свиней, осіменених нерозбавленою спермою. У свиней, осіменених спермою, розбавленою ГХЦЖ-середовищем без гліцерину і з гліцерином, концентрація сперміїв становила 1,5 млн/мл і 2 млн/мл відповідно. В яйцєводах рухомі спермії виявили лише у свиней, осіменених нерозбавленою спермою: через 4,5—5 год після осіменіння концентрація попередньо заморожених сперміїв в яйцєводах була в 4 рази меншою порівняно з концентрацією сперміїв у свиноматок, осіменених незамороженою спермою. Концентрація сперміїв в яйцєводах свиней, осіменених замороженою спермою, розбавленою ГХЦЖ-середовищем через 2,5—3 та 4,5—5 год, була майже однаковою (2—2,16 млн/мл). Це пояснюється, мабуть, безперервним проникненням у яйцєвод живих сперміїв, з верхівок рогів матки, що є своєрідним сховищем для сперміїв. У свиней, осіменених заморожено-відталою спермою, статеві клітини у верхівках

рогів матки за цей же період гинули і тому не могли проникнути в яйцеводи. Ті із статевих клітин, які проникли у яйцеводи до 5 годин після осіменіння, гинули і руйнувалися секретами яйцеводів. Останнє твердження підкріплюється тим, що оптична щільність і морфологічна цілісність таких спермій зазнала великих змін. Так, зменшується площа голівок, в тій чи іншій мірі лізується хвостова частина спермій. У результаті спермії мало відрізнялися від інших клітин, наявних в яйцеводі. Значно швидше зазнавали деструктивних змін заморожено-відталі спермії.

Другий дослід був проведений у відгодівельному господарстві «Рибне» Київської області на семи свиноматках. Три з них були осіменені замороженою спермою, чотири — свіжою нерозбавленою. Обидві групи свиной забивали через 2,5—3 год після осіменіння. Забій тварин проводили без оглушення електричним струмом.

У верхівках рогів матки всіх чотирьох тварин контрольної групи було багато спермій з поступальним рухом, тоді як у тварин дослідної групи живі спермії з слабким коливальним рухом були знайдені лише в одній тварині.

В яйцеводах свиной контрольної групи налічувалося в середньому 24,75 млн спермій у одному мілілітрі з коливанням від 12 до 37 млн. Концентрація спермій в яйцеводах дослідної групи становила 9,5 млн/мл (від 7 до 13 млн). Отже, кількість спермій, що були заморожені, в яйцеводах була в 2,5 раза меншою, ніж кількість спермій у яйцеводах тварин, осіменених незамороженою спермою. Крім того, якщо у свиноматок контрольної групи близько 10% спермій в яйцеводі мали прямолінійно-поступальний рух, то в дослідній групі лише поодинокі спермії мали коливальний рух.

Отже, виживаність спермій, які підлягали заморожуванню, у статевих шляхах свиноматок (на даному етапі досягнень у технології заморожування) не перевищує 3 годин, а їх запліднювальна здатність, безумовно, втрачається значно раніше. Цим можна пояснити низьку заплідненість і плодючість свиноматок, що осіменяються замороженою спермою.