

Морфологічні зміни спостерігались не лише в акросомах, а й в інших частинах сперміїв (розрив та розшарування оболонки, порушення цілісності тіла, пошкодження кінцевих фібрил та ін.).

Отже, від режиму розморожування сперми значною мірою залежать якісні показники сперміїв. Зростання швидкості розморожування позитивно впливає на активність та переживаність сперміїв, а також запобігає порушенням їх структури.

## ЛІТЕРАТУРА

Варнавский А. М., Турбин В. Ф. Сохранение тонкой структуры и оплодотворяющей способности живчиков быка при глубоком замораживании быстрым методом, «Животноводство», 1968, № 10.

Милованов В. К. Современный этап в научной разработке и практическом применении замораживания семени быков. «Животноводство», 1968, № 10.

Плишко М. Т., Ионов Л. И. Электронно-микроскопические исследования половых клеток свежей и храненной спермы хряка. Сб. «Третья республиканская научная конференция по физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных», Львов, 1964.

Святовец Г. Д., Погребной Г. Г. Люминесцентно-микроскопический метод оценки качества спермиев. Сб. «Методики исследований по физиологии и биохимии сельскохозяйственных животных». К., «Урожай», 1968.

Шарапа Г. С., Дмитраш М. А. Заморожування сперми. «Тваринництво України», 1969, № 11.

## ВМІСТ У СПЕРМІЯХ БУГАЇВ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕЇ НОВОЇ КИСЛОТИ ПІСЛЯ ЗАМОРОЖУВАННЯ СПЕРМИ ПРИ $-196^{\circ}$

### В. І. ПОСТАВНА,

*кандидат біологічних наук*

Київська дослідна станція тваринництва

Дезоксирибонуклеїнова кислота входить до складу головки спермія і становить 55% від її ваги. За літературними даними, в 1 млрд. сперміїв бугаїв міститься від 1,77 до 4,77 мг ДНК (за Н. П. Шергіним, 1967). У ДНК закладена вся спадкова інформація виду та особі. Втрата навіть невеликої частини цієї речовини викликає порушення генетичного коду. Тому протягом останніх років вчених усього світу стало цікавити питання про кількісні зміни ДНК у сперміях під час зберігання сперми поза організмом.

Більшість вчених прийшли до висновку, що при зберіганні сперми відмічаються деякі втрати ДНК, але цей процес великою мірою залежить від температури, складу середовища, в якому зберігають сперму, та ін. Так, Саммерхілл та Олдс (1961) встановили, що в спермі, збереженій при кімнатній температурі, кількість ДНК зменшується, а при температурі  $5^{\circ}$  залишається на одному рівні.

У Радянському Союзі декілька авторів провели вивчення динаміки ДНК у спермі кнурів, яку зберігали при температурі близько 20° в середовищах з етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТО). За даними М. Т. Плішка (1964), у середовищах з ЕДТО ДНК не деполімеризувалась, в той час як у нерозбавленій спермі кнура або розбавленій 6-процентним розчином глюкози розщеплення ДНК на 4—10-ту добу зберігання становила 7—11, а в деяких випадках — близько 30% від початкової кількості.

В. П. Кононов та І. І. Соколовська (1968) довели, що в живих гаметах кнура, збережених у середовищах з ЕДТО, ДНК не руйнувалась. Цей процес починався лише після загибелі гамет. Через три доби після повної загибелі сперміїв кількість ДНК у них зменшувалась на 20%.

І. І. Іванов, Н. В. Корбан та В. І. Шаробейко (1968) вивчали динаміку ДНК у спермі кнура, розбавленій 6-процентним розчином глюкози з антибіотиками. Вони встановили, що після 5-добового зберігання сперми при температурі 15° втрати ДНК становили 13—17%, однак вміст ДНК у життєздатних сперміях не залежав від строків зберігання і був такий, як у свіжоодрержаній спермі.

За даними Лорент (1969), який зберігав сперму кнурів протягом 24 год при температурі тіла, втрати ДНК становили 15% від початкової кількості. Він вважає, що погана заплідненість свиней і велика ембріональна смертність від осіменіння такою спермою пояснюються втраченою ДНК.

У сперміях інших тварин динаміка ДНК в процесі збереження сперми вивчена ще недостатньо. В дослідях Байкоану і співавторів (1968) у збереженій протягом п'яти діб при температурі 4° спермі барана вміст ДНК зменшився на 35,02%. Сперму бугая охолоджували до 4°, —79 та —196°. Кількість Фьольген-матеріалу була строго пропорціональна зниженню температури. Найбільше ДНК містилось у спермі, охолодженій до температури —196°. Автори пояснюють це явище сповільненням обміну речовин у спермі при низьких температурах.

У 1969—1970 рр. провели дослід на спермі бугаїв-плідників станції «Терезино» з метою вивчення зміни вмісту ДНК у процесі заморожування.

Сперму заморожували в лактозо-жовтково-гліцериновому середовищі на плитці твердої вуглекислоти у вигляді гранул та в глюкозо-цитратно-жовтково-гліцериновому середовищі в поліетиленових ампулах у парі азоту. Потім заморожену обома способами сперму зберігали в рідкому азоті при температурі —196°.

Для вивчення кількості ДНК відбирали зразки сперми перед заморожуванням та через 1—3 дні після нього. Спочатку сперму згідно з методикою обробляли трихлороцтовою кислотою, потім проводили реакцію Діше з дифеніламіном і за вуглеводним компонентом на електрофотокolorиметрі Н-56 визначали кількість ДНК (табл. 1).

Вміст ДНК у спермі, замороженій різними способами,  $\gamma$ /млрд (визначення на ФЭК (=56)

| Показники    | У гранулах       |                     | У ампулах        |                     |
|--------------|------------------|---------------------|------------------|---------------------|
|              | до заморожування | після заморожування | до заморожування | після заморожування |
| $n$          | 10               | 10                  | 9                | 9                   |
| $M \pm m$    | 2216 $\pm$ 97    | 2201 $\pm$ 90       | 1443 $\pm$ 98    | 1381 $\pm$ 84       |
| $\pm \sigma$ | 307              | 285                 | 295              | 251                 |
| $C, \%$      | 13,8             | 12,9                | 20,4             | 18,1                |
| $t$          | —                | 0,1                 | —                | 0,48                |

2. Вміст ДНК у спермі до заморожування і після нього,  $\gamma$ /млрд (визначення на спектрофотометрі СФ-4А)

| Показники    | До заморожування | Після заморожування |
|--------------|------------------|---------------------|
| $n$          | 20               | 20                  |
| $M \pm m$    | 2191 $\pm$ 148   | 2105 $\pm$ 152      |
| $\pm \sigma$ | 679              | 697                 |
| $C, \%$      | 31,0             | 33,1                |
| $t$          | —                | 0,4                 |

У додатковому досліді сперму, заморожену в гранулах, готували а методикою Шмідта та Томгаузера і визначали кількість ДНК (за фосфором) на спектрофотометрі СФ-4А (табл. 2).

Показники вмісту ДНК у спермі (замороженій у гранулах), визначені на двох згаданих приладах за вуглеводним компонентом і фосфором, аналогічні.

3. Зміна вмісту ДНК у спермі після розморожування при різній активності спермій,  $\gamma$ /млрд

| Показники    | Активність 0,5—0,4 бала |                      | Активність 0,35—0,3 бала |                      | Активність 0,2—0,1 бала |                      |
|--------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|
|              | до заморожування        | після розморожування | до заморожування         | після розморожування | до заморожування        | після розморожування |
| $n$          | 22                      | 22                   | 10                       | 10                   | 7                       | 7                    |
| $M \pm m$    | 1900 $\pm$ 96           | 1857 $\pm$ 101       | 2329 $\pm$ 244           | 2291 $\pm$ 249       | 1983 $\pm$ 300          | 1795 $\pm$ 277       |
| $\pm \sigma$ | 453                     | 473                  | 772                      | 788                  | 792                     | 730                  |
| $C, \%$      | 23,8                    | 25,4                 | 33,1                     | 34,4                 | 39,9                    | 40,6                 |

Вміст ДНК у спермі під час заморожування двома способами змінювався мало\* (математично не достовірно). Однак спостерігалась тенденція до збільшення втрат ДНК у спермі, активність якої після розморожування становила 0,1—0,2 бала (табл. 3).