

6. Chang M. C. Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes.— Nature (Lond.), 1951, 168, p. 697—698.

7. Iritani A., Niwa K., Imai H. Sperm penetration in vitro of pig follicular oocytes matured in culture.— J. Reprod Fertib, 1978, v 54, N 2, p. 379—383.

8. Thibault C. Normal and abnormal fertilization in mammals.— Adv. in Biosci 6 Schering Sumpos. on Intrin extrinfact in early mammal. Develop. Viewg.— Rergamon Press, 1970, p. 63—79.

Получена редколлегией 29.11.84.

УДК 636.2.082

О РЕЖИМАХ ОХЛАЖДЕНИЯ СПЕРМЫ БЫКОВ ПЕРЕД ЗАМОРАЖИВАНИЕМ

А. П. КРУГЛЯК, канд. биол. наук

УкрНИИ разведения и искусств. осеменения круп. рогатого скота

Разработанная С. Полджем и Л. Е. А. Раусоном (1952) методика эквипирации спермы при температуре 2—5 °С в течение 18—24 ч претерпевает большие изменения. Е. М. Платов (1963), используя гипертонические среды, сократил период охлаждения и выдержки спермы при 2—5 °С до 6 ч. Г. Нагазе и Т. Нива (1964), замораживая сперму в гранулах, установили, что подвижность и оплодотворяющая способность клеток выше при выдержке разбавленной спермы при 2—5 °С в течение 4—6 ч. Исследованиями Ф. И. Осташко (1968) отмечено, что величина эквипирационного периода зависит от температуры внесения глицерина, осмотического давления и химического состава разбавителя, концентрации глицерина и желтка.

В последнее время целесообразность эквипирации ставится под сомнение. Так, Р. Бертсон и Р. Фут (1972), применяя медленное охлаждение разбавленной спермы безглицериновой средой, сократили период эквипирации до 1 мин, а Р. Жонде (1979) — до 10 с. Оплодотворяемость коров при этом выше на 2,2 %. В. А. Наук и В. Г. Деллеу (1983) при очень медленном охлаждении спермы до 5 °С получили самые высокие показатели подвижности, выживаемости, сохранности акросом и оплодотворяющей способности спермиев при продолжительности эквипирации 25—30 мин.

Целью наших исследований было выявить оптимальный режим охлаждения спермы перед замораживанием ее в форме открытых гранул.

Методика исследований. Исследования проводили на Киевском и Перея-

слав-Хмельницком племпредприятиях в 1983—1984 гг. Использовали 19 эякулятов спермы от семи быков голштинской породы и четыре — от помесей 1/2 КППФ+1/2 С. Взятие и оценку спермы проводили по общепринятым методам.

Эякуляты разбавляли ЛГЖ-средой в степени 1:6—1:7 из расчета 15 млн. активных спермиев в дозе после оттаивания. Каждый разбавленный эякулят делили на четыре части и переносили в следующие температурные условия: I вариант (контроль) — разбавленную при 30 °С сперму выдерживали при комнатной температуре в течение 20 мин, после чего переносили в холодильник при 4 °С; II вариант — после разбавления сперму медленно охлаждали (0,3 °С/мин) до 14—16 °С и сохраняли при этой температуре; III вариант — разбавленную сперму сохраняли при комнатной температуре (22—24 °С); IV вариант — разбавленную сперму сохраняли в термостате при 30 °С.

Пробы спермы замораживали после 0,5-, 1-, 2- и 4-часовой выдержки при указанных температурах. Кроме общепринятых показателей, определяли устойчивость спермиев к холодному шоку (ГОСТ 20909.4—75) и скорость редукции метиленового синего.

Результаты исследований. Сперма, выдержанная при 30 °С, очень плохо переносила глубокое замораживание. Инкубирование разбавленной спермы при комнатной температуре также не обеспечивало достаточного восстановления подвижности спермиев после оттаивания. При медленном охлаждении разбавленной спермы и последующей вы-

Качество замороженно-оттаянной спермы в зависимости от температуры и продолжительности эквilibрации

Продолжительность эквilibрации, ч	Температура эквilibрации, °C					
	2—4		14—16		22—24	
	активность спермиев после оттаивания, баллы	Sa	активность спермиев после оттаивания, баллы	Sa	активность спермиев после оттаивания, баллы	Sa
0,5	1,79±0,26	5,2	2,35±0,23	5,2	1,64±0,30	3,4
1	2,65±0,22	8,0	3,09±0,19	7,2	2,35±0,31	5,5
2	3,31±0,31	10,6	4,16±0,13	12,8	2,75±0,18	6,2
4 (контроль)	3,15±0,23	9,6	3,55±0,19	10,2	2,53±0,27	6,0

держки ее при 14—16 °C (II вариант) качество замороженно-оттаянной спермы было выше, чем выдерживаемой как при сниженных (4 °C), так и при повышенных (22 °C) температурах. Наилучшее качество оттаянных спермиев получили при медленном охлаждении разбавленной спермы до 14—16 °C и выдержке при этой температуре в течение двух часов (табл.). Средняя подвижность спермиев после оттаивания составила 4,16 балла и превышала контрольные образцы (I вариант) на 1 балл. Различия статистически высокостоверны ($t_d=3,6$ при $P>0,995$). Такое увеличение подвижности клеток наблюдалось в течение 3,5-часовой инкубации оттаянной спермы при 38 °C. При этом увеличивались также выживаемость (на 0,47 ч) и абсолютный показатель живучести (на 3,16) спермиев.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что скорость взаимодействия компонентов среды с клеткой обуславливается температурой инкубирования спермы в период эквilibрации. Выдержка спермы при 14—16 °C в течение двух часов является оптимальной для прохождения этих процессов по сравнению с эквilibрацией при

2—4 °C в течение четырех часов. Поскольку скорость редукции метиленового синего и коэффициент устойчивости к холодовому шоку спермиев во II варианте (выдержанных в течение двух часов) были самыми высокими (45 мин и 0,83), то, по-видимому охлаждение спермиев до 14 °C обеспечивает достаточно замедление в них энергетических процессов и сохранение их полноценности в течение 2-часовой выдержки при такой температуре. Это подтверждается данными В. М. Давиденко и др. (1983), которые получили самые высокие показатели подвижности спермиев баранов после оттаивания при очень медленном (в течение 9 ч. 50 мин) охлаждении спермы перед замораживанием с 18 до 2—3 °C.

Выводы. Медленное охлаждение и выдержка разбавленной спермы в течение двух часов при 14—16 °C повышает устойчивость спермиев к замораживанию и сокращает период эквilibрации до двух часов. Вероятно, существенное повреждение клеток в период охлаждения наступает в зоне температур ниже 16—14 °C и 2-часовая эквilibрация при этой температуре усиливает устойчивость клеток к холодовому удару.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Давиденко В. М., Шинкаренко І. С., Шматолоха М. М., Клеопина М. О. Вплив режиму адаптації на здатність сперми баранів переносити заморожування.— Вісн. с.-г. науки. К.: Урожай, 1983, № 6, с. 49—51.
2. Осташко Ф. И. Глубокое замораживание и длительное хранение спермы производителей.— К.: Урожай, 1986.—246 с.
3. Jodent R. Technological progress in the artificial insemination of cattle.— Zootecn. internat., 1979, 19, 2, p. 23—24.
3. Nagase H., Niwa T. Deep — freezing bull semen in concentrated pellet form.— In: V Intern. Congr.— Animal Reprod. Trento, 1964, p. 503—506.
5. Polge C., Rowson L. E. A. Fertilization capacity of bull spermatozoa after freezing of (79 °C.— Nature, 1952, vol. 169, p. 626—627.

Получена редколлегией 04.12.84.