

КРІОФІЛАКТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ДЕЯКИХ ВУГЛЕВОДІВ ПРИ ЗАМОРОЖУВАННІ СПЕРМИ БУГАЇВ

Л. О. БЕГМА, кандидат біологічних наук

*Український науково-дослідний інститут розведення
і штучного осіменіння великої рогатої худоби*

Властивість розчинів деяких вуглеводів захищати живі клітини від дії низьких температур широко використовують при консервуванні сперми бугаїв методом глибокого заморожування. Вуглеводи входять до складу всіх розріджувачів для заморожування сперми (І. В. Смирнов, 1951; Е. М. Платов, 1963; Нагазе та ін, 1964; Р. Кассу, 1968; Ф. І. Осташко, В. А. Шинкаренко, 1970; М. І. Лопатко, К. Ф. Тюпіна, 1972; В. А. Наук, 1976). Доведена можливість (М. І. Лопатко, К. Ф. Тюпіна, 1974) заморожування сперми бугаїв лише в розчинах вуглеводів, зокрема в розчині рафінози без додавання інших кріофілактиків.

Захисна дія вуглеводів досить різностороння, крім пониження електропровідності спермій, вони ще й виконують роль стабілізаторів ліпопротеїнових мембран (В. А. Наук, 1974).

Метою наших досліджень було вивчення кріофілактичних властивостей деяких вуглеводів і багатоатомних спиртів при глибокому заморожуванні сперми без додавання гліцерину.

Методика досліджень. Ми випробовували кріофілактичні властивості моносахаридів — арабінози, ксилози (пентози), глюкози, галактози і рамнози (гексози); шестиатомних спиртів — маніту та інозиту; дисахаридів — сахарози, лактози і мальтози та трисахариду — рафінози. Вуглеводи використовували ізотонічної концентрації (0,3 М) в поєднанні з одним і тим же розріджувачем, допускаючи, що в тому разі впливом кріофілактичних властивостей середовища можна знехтувати. Крім вуглеводів, розріджувач включав жовток свіжого курячого яйця (20 мл на 100 мл води) і редукований глютамон (0,01 М). Осмотичний тиск досліджуваних середовищ визначали за методикою Ф. І. Осташка і Я. П. Раковского (1974) на електронному осмометрі ОСМ-3М.

Досліди проводили на спермі бугаїв симентальської і чорно-рябій порід, що належали Центральної станції штучного осіменіння. Сперму одержували і оцінювали за загальноприйнятими методиками. Потім еякуляти п'яти бугаїв ділили на 12 частин і розбавляли розріджувачами, що містили зазначені вище вуглеводи з осмомоларністю 360—380 мосм μ . Через 6—7 год охолодження сперми в холодильнику при $+5^{\circ}\text{C}$ її заморожували на фторопластовій пластині (Н. П. Ющенко, В. Г. Семаков, К. А. Левін, 1968), зберігали в рідкому азоті. Розморозували сперму в трипроцентному розчині лимоннокислого натрію при температурі $+40^{\circ}\text{C}$.

Основним тестом у дослідах була якість сперми, яка характеризується активністю, тривалістю виживання спермій при 38°C і абсолютним показником живучості. Дослід проводили в двох повторностях.

Результати досліджень. Визначення біологічної повноцінності спермій після глибокого заморожування в розріджувачах з ізотонічними розчинами моно-, ди- і трисахаридів, а також багатоатомних спиртів показало, що найменшу захисну властивість мали моносахариди (див. таблицю). Початкова активність спермій після відтавання при заморожуванні з використанням різних моносахаридів була приблизно однаковою і змінювалась у межах 0,6—1,0 бала ($P > 0,1$). Переживаність і абсолютний показник живучості спермій у середовищах з глюкозою та рамнозою (гексози) були вищими, ніж при заморожуванні з арабінозою і ксилозою (пентози $P < 0,02$). Галактоза за своїми кріофілактичними властивостями має середні показники між пентозами і гексозами. Спермії, що збереглися в процесі заморожування в середовищах з багатоатомними спиртами, за життєздатністю і біологічною повноцінністю тотожні сперміям, замороженим у розріджувачах з гексозами.

Середовища з вмістом дисахаридів (сахарози), лактози, мальтози за кріозахисними властивостями значно перевищують моносахаридні. За активністю

Вплив вуглеводів на якість сперми бугаїв при заморожуванні

Показники	Моносахариди				
	арабіноза	ксилоза	глюкоза	галактоза	рамноза
Активність спермійв після відтавання, бали	0,6±0,01	0,9±0,02	1,0±0,07	0,8±0,06	1,0±0,09
Переживаність спермійв при 38—40° С, год	1,25±0,25	1,0±0,03	3,6±0,61	1,6±0,01	3,8±0,32
Абсолютний показник живучості спермійв	1,4±0,2	1,3±0,09	4,0±0,41	1,85±0,06	5,0±0,38

відталих спермійв ця різниця становила 280% ($P < 0,001$), за абсолютним показником живучості — 300—400% ($P < 0,001$). Статистично достовірної різниці за якістю сперми, замороженої в середовищах з різними дисахаридами (лактоза, сахароза і мальтоза), не встановлено. Проте слід відмітити тенденцію до поліпшення якості замороженої сперми при застосуванні суміші редуруючих (лактоза) і нередукуючих (сахароза) дисахаридів. Найкращі якісні показники мала сперма, заморожена в розріджувачах з трисахаридом рафінозою, проте порівняно із спермою, замороженою в розріджувачах з дисахаридами, різниця була статистично недостовірною ($P > 0,05$).

Таким чином, одержані дані свідчать про чітку залежність криозахисних властивостей вуглеводів від їх молекулярної ваги. Моносахариди і шестиатомні спирти з молекулярною вагою 150—200 недостатньо захищають спермії при заморожуванні. Ди- і трисахариди — це речовини, що містять велику кількість функціональних груп. Можна припустити, що ці групи певною мірою сприяють явищу специфічної адсорбції, яке властиве багатьом живим клітинам. Крім того, вони зумовлюють різні конформаційні зміни в макромолекулах мембрани під впливом навколишнього середовища. Оскільки мембрана спермія являє собою макромолекулярний комплекс білків і фосфоліпідів, що містять на зовнішній поверхні надлишок фіксованих негативних зарядів, очевидно, вона відіграє роль катіонообмінника і її взаємодія з вуглеводним оточенням може проявитися або через іонообмінний процес або через зміни макромолекулярної структури. Це в свою чергу має позначитися на мембранному і електрокінетичному потенціалах спермійв, що створює умови, які запобігають загибелі спермійв від холодового удару.

Висновок. Ди- і особливо трисахариди мають виражені криофілактичні властивості. Тому ми вважаємо, що ці вуглеводи можна використовувати як основний компонент безгліцеринового розріджувача для заморожування сперми бугаїв.

Надійшла до редколегії 9.09.1979 р.

УДК 636:591.391

ЯКІСНІ ПОКАЗНИКИ СПЕРМИ ПЛІДНИКІВ РІЗНИХ ПОРІД ЗАЛЕЖНО ВІД РЕЖИМУ ВІДТАВАННЯ

В. М. ДАВИДЕНКО, кандидат біологічних наук

Н. П. ЧУКСІНА, науковий співробітник

Український науково-дослідний інститут тваринництва
степових районів ім. М. Ф. Іванова «Асканія-Нова»

Якісні показники сперми бугаїв-плідників, яку використовують для штучного осіменіння тварин, значною мірою залежать не тільки від спадковості, індивідуальних особливостей тєї чи іншої тварини, а й від технологічних прийомів заморожування і відтавання. Оскільки від якості сперми прямо залежить