

Алексеев А. Д. Влияние бовита-30 на спермограмму кролнков. Научные труды Высшего сельскохозяйственного института им. Г. Димитрова. 1966, 16 (Болгария).

Асланян М. М. Влияние кормового биомицина на качество семени баранов. «Овцеводство», 1963, № 7.

Гончаров И. Е. О механизме ростового действия кормового биомицина на организм. «Ветеринария», 1966, № 10.

Леонов Н. И. Влияние антибиотиков на повышение продуктивности животных. Сб. «Антибиотики в животноводстве и ветеринарии». М., Сельхозгиз, 1963.

Леонов Н. И., Сергеев Н. И., Шихов И. Я., Васильев И. З. Влияние кормогризина на развитие семенников и воспроизводительную способность хряков. «Вестник сельскохозяйственной науки», 1969, № 3.

Радкевич П. Е. Некоторые теоретические и практические вопросы стимуляции роста и продуктивности животных. «Животноводство», 1967, № 5.

Сергеев Н. И. Влияние кормогризина на рост, развитие половой системы и сперматогенез семенников у быков черно-пестрой породы. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 11, 1969.

Сергеев Н. И., Заболотный В. А. Влияние кормогризина на развитие половой системы, рост и сперматогенез баранов калининской мясо-шерстной породной группы. Сб. «Научные работы ВИЖа», вып. 8, Дубровцы, 1970.

ДІЯ РІЗНИХ РЕЖИМІВ РОЗМОРОЖУВАННЯ НА СПЕРМІЇ БУГАЇВ

І. В. СМІРНОВ,

професор

Українська сільськогосподарська академія

О. О. БРУЄНКО, Б. М. ВЕЛЬМОЖНИЙ

Центральна дослідна станція по штучному осіменінню
сільськогосподарських тварин

Багато літературних повідомлень (В. К. Милованов, 1968; М. П. Ющенко і співавтори, 1968; А. М. Варнавський, В. Ф. Турбін, 1968; Г. С. Шарапа, М. А. Дмитраш, 1969), а також досвід роботи Центральної дослідної станції по штучному осіменінню сільськогосподарських тварин переконливо свідчать про переваги методу швидкого заморожування сперми бугаїв у гранулах порівняно з повільним її заморожуванням в ампулах. Проте режими заморожування та розморожування гранул потребують дальшого вдосконалення. У процесі обробки сперми відбуваються значні фізичні та фізико-хімічні зміни (кристалізація і рекристалізація, гідратація і дегідратація колоїдів протоплазми та ін.), внаслідок чого досить значна частина сперміїв гине. Ці зміни вивчені поки що недостатньо. Тому метою нашої роботи було вивчення процесів, які відбуваються при розморожуванні сперми.

Методика досліджень. Сперму, одержану від чотирьох бугаїв сентентальської породи, трьох черно-рябої і одного бугая породи шароле віком від 2 до 8 років оцінювали за загальноприйнятими методиками.

зводили її лактозо-жовтковим середовищем із 7-процентною концентрацією гліцерину у співвідношенні 1 : 1 крапельним способом при температурі 30—35°. Розведену сперму витримували 15—20 хв при кімнатній температурі і поступово охолоджували до 2—4° протягом 1,5—год. Після 5-годинного еквілібрування при температурі 2—4° сперму капували (об'єм краплі 0,1 мл) в лунки фторопластової пластини, охолодженої до -80°. Через 4—5 хв від початку заморожування плазину поливали рідким азотом, гранули збирали в каністру і перенесли для зберігання в посудину з рідким азотом. На 7—12-ту добу грали розморожували в 1 мл розчину лимоннокислого натрію (2,8%) при низьких температурних режимах. Флакони з розчином нагрівали у водяних банях з температурами 0, 20, 40, 50, 60 та 70° і опускали у кожний флакон гранулу. Флакони, в яких температура розчину становила від 0 до 50°, виймали з води при повному переході гранули в рідкий стан, а з температурою розчину 60 і 70° — зразу ж після внесення граул, щоб не допустити перегріву сперміїв. Повне розморожування граул закінчувалось при 0° через 8 хв, при 20° — через 56 сек, при 40° — через 28 сек, при 50° — через 20 сек, при 60° — через 17 і при 70° — через 14 сек. В останньому випадку в момент повного розморожування температури була в межах 45—48°. Швидкість охолодження та заморожування та розморожування сперми контролювали електронним способом.

Якісні показники сперміїв оцінювали після одержання сперми від плідника, розведення, охолодження, еквілібрування та розморожування. Враховували активність сперміїв, живучість їх при 38°, визначали кількість сперміїв із забарвленими фарбою акридин оранжевий акросомами під мікроскопом МБИ-3 з люмінесцентною приставкою 01—18. Краплю сперми обробляли за методом Г. Д. Святюця і Г. Г. Погрібого (1968). Забарвленою вважали акросому з чітко вираженим оранжевим ковпачком на головці клітини при зеленому забарвленні решти клітини.

Електронно-мікроскопічні дослідження сперміїв здійснювали на приладі ЕМ-5 при збільшеннях від 5 до 40 тис. разів і прискорюючій напрузі 50 кВт. Фіксували сперміїв та готували їх до огляду за методикою М. Т. Плішка та Л. І. Іонова (1964). Як при люмінесцентній, так і при електронній мікроскопії у кожній пробі підраховували підряд 00 сперміїв. Поряд з цим визначали кількість клітин, акросома яких забарвлюється флуорохромами, з нормальною, набряклого, сповзаючої акросомами та кількість клітин без акросоми або з іншими її змінами (зміна конфігурації, вакуолізація та ін.).

Результати досліджень. Розведення щойно одержаної від плідника сперми лактозо-гліцеринно-жовтковим середовищем не знижує активності сперміїв (табл. 1). У процесі охолодження та наступної еквілібрації активність сперміїв у середньому знижується відповідно на 6 і 3%. Таким чином, загальне зниження активності сперміїв за період підготовки сперми до замороження дорівнює 9%. Кількість сперміїв, які відновлюють прямолінійно-поступальний рух після розморожування,

значною мірою залежить від режиму розморожування. Чим більша швидкість розморожування, тим вища активність спермій. Якщо після розморожування сперми при температурі 0° втрачають активність 73% спермій (порівняно з активністю перед заморожуванням), то після розморожування при 60° активність знижується лише на 10%. Отже, процес заморожування витримують майже всі спермії. Розморожування при 70° дає значно гірші результати, що пояснюється перегріванням сперми.

Інші результати були одержані при люмінесцентній мікроскопії. Якщо до заморожування кількість спермій з акросомами, забарвленими в оранжевий колір, майже дорівнювала кількості активних спермій, то після розморожування вона була значно нижча. Але і в цьому випадку їх кількість зростала з підвищенням температури розморожування.

У процесі заморожування-розморожування сперми різко змінюється здатність акросоми забарвлюватись акридином оранжевим. Таке явище можна пояснити зміною проникності акросоми після дії низьких температур. Проте досвід застосування замороженої сперми у виробництві показує, що такі зміни акросоми незначно впливають на запліднюючу здатність спермій.

Електронно-мікроскопічні дослідження свідчать про те, що в період обробки сперми перед заморожуванням стан акросоми фактично не змінюється (табл. 2). Незначні зміни спостерігаються і при швидкому розморожуванні (50—60°) сперми. Найгірші результати були одержані при температурі 0°.

1. Показники якості сперми в процесі обробки, заморожування та розморожування

Етапи процесу заморожування	Активність, спермій, %	Абсолютний показник активності спермій при 38° після розморожування	Кількість спермій з забарвленими акросомами, %
Розведення	71	—	70
Охолодження	65	—	70
Еквілібрування	62	—	67
Розморожування при температурі:			
0°	17	2,3	11
20°	30	6,2	14
40°	42	9,4	15
50°	53	14,4	18
60°	56	15,0	20
70°	35	7,5	10

2. Зміни стану акросоми на різних етапах обробки спермій

Стан акросоми	Кількість спермій, % після								
	одержання	розведення	охолодження	еквілібрування	розморожування при температурі				
					0°	20°	40°	50°	60°
Нормальний	73	70	72	70	47	55	61	67	67
Різні морфологічні порушення	19	20	19	20	36	29	26	24	24
Відсутність акросоми	8	10	9	10	17	16	13	9	9

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°

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° залишається на одному рівні.