

МЕТОДИ ЗАПОБІГАННЯ ЗГУБНІЙ ДІЇ ПЕРЕПАДІВ ОСМОТИЧНОГО ТИСКУ ЕЛЕКТРОЛІТІВ І НЕЕЛЕКТРОЛІТІВ НА СПЕРМІЇ БУГАЯ

Уже з перших спроб зберігання генетичного матеріалу плідників поза організмом було встановлено, що в спермі відбуваються значні зміни осмотичного тиску. Наприклад, температурний шок, який спостерігається при швидкому охолодженні спермій нижче 20 °С, призводить до зрушень осмотичного градієнта на межі клітина—середовище, що спричиняє руйнування і загибель спермій. Ця фаза діє на гамети як гіпотонічний розчин. Уникнути останнього можна шляхом розбавлення сперми спеціальними захисними середовищами, що містять у своєму складі жовток курячого яйця, який є обов'язковим компонентом більшості розбавлювачів для сперми бугаїв. Можливо, основну захисну дію своєрідного осмотичного буфера виконує лецитин, що у великій кількості знаходиться саме в жовтку.

Нативну сперму бугаїв чорно-рябої породи розділяли навпіл: одну частину розбавляли 1:1 ізотонічним розчином цитрату натрію, а другу — таким самим розчином, але з додаванням 20% жовтка свіжих яєць.

Одночасно у флакони відміряли по 1 мл розчинів натрію хлориду, тризаміщеного цитрату натрію, глюкози, фруктози і рафінози в концентраціях від 40 до 160% ізотонічної. У кожний флакон вносили по 0,1 мл з першої та другої частин розбавленої сперми. Таким чином, кінцеве розбавлення сперми становило 1:20. Через 10 хв. після розбавлення досліджували рухливість спермій у кожному зразку при температурі +38°С, окремо відмічаючи кількість клітин з нормальним прямолінійним рухом, маневрним рухом, а також відсоток спермій з морфологічними деформаціями.

© О.І. Смирнова, 2001

1. Кількість живих спермій у розчинах з різним осмотичним тиском

Розчин	Рух спермій	Концентрація речовин, % до ізотонічної													
		40		60		80		100		120		140		160	
		-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+
Натрій хлориду	П	5	8	10	20	40	45	55	60	45	60	10	20	5	10
	М	5	10	5	10	5	10	0	5	0	0	3	0	0	0
	Д	3	5	18	25	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Натрій цитрату	Σ	13	23	33	55	50	55	55	65	45	60	13	20	5	10
	П	1	1	1	1	5	5	70	75	65	70	55	70	35	45
	М	0	0	0	0	0	0	5	0	5	0	5	0	10	15
Глюкоза	Д	5	10	30	40	60	65	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	6	11	31	41	65	70	75	75	70	70	60	70	45	60
	П	0	0	0	3	5	20	10	45	8	40	0	45	0	45
Фруктоза	М	0	0	0	1	3	5	5	5	3	15	0	5	0	0
	Д	0	5	5	5	3	3	3	3	0	0	0	0	0	0
	Σ	0	5	5	9	11	28	18	53	11	55	0	50	0	45
Лактоза	П	0	1	3	8	5	35	8	40	3	30	1	25	1	25
	М	0	0	1	1	3	10	5	10	1	5	0	5	0	5
	Д	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Лактоза	Σ	0	1	4	9	8	45	13	50	4	35	1	30	1	30
	П	1	1	3	25	25	65	15	65	1	5	0	1	0	1
	М	0	0	0	0	0	0	10	5	5	10	0	0	0	0
Лактоза	Д	5	30	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Σ	6	31	7	26	25	65	25	70	6	15	0	1	0	1

Примітка. П — спермій з прямолінійним рухом; М — з маневрим; Д — деформовані спермій;
+ — розчин із жовтком; — — розчин без жовтка.

У гіпо- і гіпертонічних розчинах жовток виявляє свої захисні властивості. За однакової вихідної рухливості клітин у зразках із жовтком незначні відхилення від ізотонічної (80 і 120%) майже не були помічені, як у зразках сперми без жовтка. У гіпо- і гіпертонічних розчинах кількість спермій з прямолінійним рухом зменшувалася у 10—14 разів (табл. 1).

В ізотонічних розчинах неелектролітів (глюкоза, фруктоза і лактоза) без жовтка рухливість клітин значно знижувалась, що, можливо, відбувалося внаслідок дефіциту іонів металів, необхідних для участі ферментів у біохімічних процесах сперми. Введення жовтка помітно активізувало рухливість спермій в ізотонічних розчинах і при невеликих відхиленнях від ізотонії (80 і 120%).

Ми провели дослідження захисної дії жовтка при різкій зміні температури зберігання розбавленої сперми (холодовий удар). З цією метою зразки сперми, розбавленої ізотонічними розчинами натрію цитрату і натрію хлориду без жовтка або з додаванням 20% жовтка, переносили із термостата з температурою +38 °С на лід, що танув (0 °С). Захисну дію жовтка було визначено за кількістю клітин з прямолінійним рухом. У зразках сперми з жовтком рухливість спермій була у п'ять—сім разів вищою (табл. 2).

2. Кількість живих спермій бугая після швидкого охолодження залежно від наявності жовтка у розчині

Холодний розчин	Рухливість спермій, %				
	до охолодження	після охолодження			
		спермії з прямолінійним рухом		сума живих спермій	
		—	+	—	+
2,8% -й натрію цитрату	80	0	5	0	25
1% -й натрію хлориду	80	5	35	15	50
6%-й глюкози	80	1	5	6	25

Примітка: + — розчин із жовтком; — — розчин без жовтка.

Таким чином, результати дослідів підтвердили припущення про те, що застосування жовтка курячих яєць у середовищах для розбавлення та зберігання спермійв бугая є одним з методів уникнення шкідливої дії гіпо- і гіпертонічних розчинів електролітів та неелектролітів.

Національний аграрний університет

УДК 636.018/088

О.І. СМИРНОВА

ВИКОРИСТАННЯ ДРІБНОДИСПЕРСНИХ КРЕМНЕЗЕМІВ У СЕРЕДОВИЩАХ ДЛЯ КРІОКОНСЕРВАЦІЇ СПЕРМИ БАРАНІВ

Розвиток технології глибокого заморожування сперми баранів пов'язаний з пошуком найбільш ефективних кріопротекторів у складі штучних середовищ, захисна дія яких стосовно до репродуктивних клітин повинна бути спрямована на зменшення пошкоджень мембранних структур. У зв'язку з цим були проведені випробування різних модифікацій дрібнодисперсних кремнеземів у складі існуючих середовищ для розбавлення сперми баранів з метою стабілізації її біологічної повноцінності.

Дрібнодисперсний кремнезем являє собою оброблений у спеціальному термічному режимі діоксид кремнію. При малих розмірах частинок (100—300 А) він має велику питому поверхню і високі сорбційні властивості відносно біомолекул та клітин, що дає змогу використовувати його як неорганічного носія при імобілізації різних речовин. За фізико-хімічними показниками дрібнодисперсні кремнеземи нетоксичні і біологічно сумісні з живими об'єктами. Раніше було встановлено, що кремнезем з гідроксильованою поверхнею має високу адгезивну здатність стосовно гамет бугая завдяки взаємодії з певними компонентами клітинної поверхні, які представля-

© О.І. Смирнова, 2001