

ЗОЛОТИЙ СКАРБ БІОЛОГІЧНОЇ НАУКИ ДВОХ ТИСЯЧОЛІТЬ

Визначення штучного осіменіння як зоотехнічного методу значного прискорення якісного поліпшення сільськогосподарських тварин І.І. Івановим частково здійснило мрії колишніх заводчиків про можливість поліпшення якості тварин шляхом більш ефективного використання видатних плідників.

Необхідність повного і максимального використання сперми кращих плідників привела до появи різних способів збереження сперми поза організмом (при 0 — +4 °С, +10, +12 °С), при яких спермії не втрачали запліднювальної здатності протягом декількох днів.

Метод глибокого заморожування сперми, розроблений всесвітньовідомим вченим, нашим співвітчизником — Ігорем Васильовичем Смирновим, дав можливість від кожного висококласного бугая одержувати по 40—50 тис. спермодоз або по 30—35 тис. приплоду в рік, використовувати сперму для замовлених спаровувань, незалежно від часу осіменіння і країни, у якій знаходяться відібрані зоотехніком самки тварин, і саме цим перевершив сподівання селекціонерів тваринництва усіх країн про можливості поліпшення продуктивних і породних якостей тварин шляхом штучного осіменіння.

Хоча метод збереження сперми при 0 °С цілком влаштовував практиків товарних господарств, разом з тим він не міг задовольнити потреби зоотехніків-селекціонерів, заводчиків, котрі працюють із особливо видатними тваринами. У 1940—1950 рр. назріла необхідність розробити такий спосіб тривалого зберігання сперми, який забезпечував би підбір пар тварин незалежно від їхнього територіального знаходження та періоду життя. Для цього необхідно було істотно продовжити термін зберігання запліднювальної здатності сперматозоїдів.

© М.В. Зубець, В.П. Буркат, А.П. Кругляк, 2001

Порівняно швидке зниження запліднювальної здатності сперматозоїдами в умовах їхнього збереження при 0 °С пояснюється тим, що нульова температура недостатньо сильно гальмує обмін речовин у клітинах. Життєві процеси проходять при 0 °С на відносно високому рівні і клітини швидко "старіють", отруюються продуктами розпаду. І хоча вони зберігають рухливість, запліднювальна здатність їх після трьох діб зберігання різко знижується. Виходячи із теорії анабіозу, для зниження рівня обмінних процесів, а значить, і продовження терміну збереження високої запліднювальної здатності сперматозоїдів необхідно було знизити температуру їхнього зберігання і цим самим загальмувати до мінімуму обмін речовин. До цієї думки прийшов ще І.І. Іванов у 1907 році, коли охолодив сперму жеребця до -15 °С і помітив відновлення рухливості сперматозоїдів після їхнього відігрівання. Протягом довгих років зусилля вчених як нашої країни, так і за рубезем були націлені на розробку більш досконалого способу збереження сперми з використанням низьких температур.

Наступні дослідження вчених підтвердили правильність цього наукового напрямку. Так учні І.І. Іванова — К.Н. Кржишковський і С.Н. Павлов — встановили здатність сперматозоїдів людини переносити охолодження до -23 °С протягом тривалого часу. Ф. Янель (1938) перший застосував глибоке заморожування сперми людини в скляних пробірках при -79 °С. Після 40-денного зберігання і розморожування він виявив деяке число сперматозоїдів із відновленою рухливістю. Х. Хеглунд і Г. Пінкус (1941) одержали до 40% живих сперматозоїдів людини після їхнього охолодження в рідкому азоті у вигляді емульсії або тонких плівок і швидкого розморожування. А. Паркс (1945) установив, що після охолодження сперми при -20 °С рухливість сперматозоїдів людини була значно гіршою, ніж за глибокого її охолодження і зберігання при -79 °С протягом двох-трьох діб.

Американський дослідник С. Шафнер (1942) зберігав сперму півнів при -79 °С майже без зниження рухливості клітин.

- Після осіменіння курей спермою, що зберігалася при цій температурі протягом однієї години, одержано 48 яєць, 12 із яких було запліднено. Проте зародки замерзли на 10—15-й годині їхнього розвитку.

Таким чином, усі спроби вітрифікувати сперматозоїди різних видів тварин і людини були безуспішними. Не зважаючи на досить пожвавлену наукову роботу в цьому напрямі, жоден із дослідників не отримав приплоду від замороженої сперми. Проте своїми науковими підходами вони внесли певний вклад у розвиток цього напрямку. За словами І.В. Смирнова (1949): "негативний результат в науці — теж результат".

Перші серйозні успіхи були досягнуті лише наприкінці 40-х років. У 1947 р. в лабораторії В.К. Милованова у Москві його співробітник І.І. Соколовська одержала потомство від кролиць, яких осіменяли спермою, що протягом п'яти хвилин перебувала при температурі $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ та $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Однак при зниженні температури до $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ усі клітини швидко гинули. Як вважає сам автор, у даному випадку мало місце не глибоке заморожування, а лише переохолодження сперми, чим і пояснюється збереження сперматозоїдами рухливості (до 0,5 бала) і запліднювальної здатності. Інших даних про застосування глибокого охолодження сперми домашніх тварин, за якого сперма перебуває у твердому склоподібному стані, на той час у літературі не було. Водночас температури значно нижчі нуля, тобто твердої вуглекислоти ($-78\text{ }^{\circ}\text{C}$), рідких — кисню ($-183\text{ }^{\circ}\text{C}$) та азоту ($-196\text{ }^{\circ}\text{C}$), привернули до себе увагу вчених тим, що рівень обмінних процесів у статевих клітинах за цих температур знижувався досить сильно і сперма затвердівала у вигляді склоподібної маси без порушень протоплазми клітин. Але технічні ускладнення при такому "заскловуванні" сперми були досить великими.

Тому аспірант Всесоюзного інституту тваринництва І.В. Смирнов у 1947 р. поставив собі за мету:

- в'яснити можливість збереження сперми плідників сільськогосподарських тварин при температурах твердої вуглекислоти, рідкого кисню та рідкого азоту;

- ♦ розробити метод глибокого заморожування сперми;
- ♦ вивчити запліднювальну здатність сперматозоїдів при осіменінні самок такою спермою.

Досліди проводились на спермі сімнадцяти кролів, семи баранів, двох бугаїв, одного жеребця та п'ятнадцяти півнів.

Виходячи з гіпотези Б. Лайета (1941) та Г.А. Таммана (1935) про можливість некристалевого затвердіння біологічних об'єктів у вигляді склоподібної амфорної маси, а не кристалів, І.В. Смирнов дійшов до висновку, що саме при склоподібному затвердінні не відбувається різкого переміщення молекул у клітині, а значить, не пошкоджується її протоплазма.

І.В. Смирнов розробив особисто методику швидкого заморожування сперми у фольгових пакетах об'ємом сперми 0,05—0,2 мл.

Після проведення низки дослідів із спермою кролів автор знайшов такий спосіб її глибокого охолодження, за якого від 5 до 30% клітин могли переносити охолодження до температури -78 — -183 °С протягом 32 діб і оживали після розморожування. Принагідно нагадаємо, що такі об'єми дози і швидкість заморожування сперми застосовуються і тепер.

Найцікавішим у цих дослідженнях було те, що сперматозоїди після такого тривалого збереження в умовах надто низьких температур не тільки оживали, а й зберігали свою запліднювальну здатність. Від 61 кролиці, яких осіменили "засклованими", а потім розмороженими сперматозоїдами, вперше у світі було одержано 174 кроленят, котрі мали нормальний зовнішній вигляд, добре росли і розвивалися. Після досягнення статевої зрілості молоді самці і самки почали нормально розмножуватися. Частину цих самок знову осіменяли замороженою спермою і отримували нормальний приплід.

Після вирішення принципового питання можливості "заскловування" сперматозоїдів ссавців автор приступив до розробки аналогічного способу глибокого заморожування сперми основних видів сільськогосподарських тварин. Здолавши

ряд технологічних труднощів, автору вдалося успішно заморозити сперму баранів, бугаїв, жеребців і кнурів. Число сперматозоїдів, що оживали після розморожування, в деяких випадках сягало 35%. Проведені автором дослідження за період 1948—1951 рр. у дослідному господарстві Українського науково-дослідного інституту тваринництва по осіменінню овець замороженою до -78°C спермою дали обнадійливий результат: із 19 овець, котрих осіменяли, окотилося 8, які народили 11 цілком нормальних ягнят.

У цей самий період (літо 1950-го) автором проведено успішні досліди із штучного осіменіння корів глибокозамороженою спермою (-78°C). У дослідному господарстві "Українка" та колгоспі "Червоний господар" Харківської області він заморожував сперму від 4 бугаїв та штучно осіменяв 17 корів, із яких 5 отелилось.

Таким чином, у 1949 р. І.В. Смирновим були отримані вперше у світі ягнята, а в 1951 р. — телята, які походили від сперматозоїдів, що перенесли глибоке заморожування до температури -78°C .

Безумовно, наукові розробки І.В. Смирнова щодо виявлення властивостей сперматозоїдів ссавців зберігати біологічну повноцінність після швидкого заморожування є золотим скарбом біологічної науки, відкриттям світового рівня. На основі саме наукових праць І.В. Смирнова 1947—1950 рр. у 1972 р. було зареєстровано наукове відкриття під номером 103, яке назавжди затвердило його пріоритет.

Наукові розробки І.В. Смирнова дали можливість розв'язати проблему тривалого збереження сперми плідників сільськогосподарських тварин поза організмом, максимально їх використовувати, забезпечувати індивідуальні закріплення незалежно від місця і часу їхнього перебування, впровадження найсучасніших методів великомасштабної селекції.

Слід відмітити, що автор сам не стверджував закінченості цих наукових розробок. У 1949 р., після успішних досліджень щодо запліднення кролиць з використанням глибокозамороженої сперми, І.В. Смирнов пише: "Зрозуміло, що наша робота —

лише перший крок в галузі збереження сперми при надто низьких температурах і вимагає подальшого продовження".

Науково обгрунтовані передбачення автора методу глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин здійснилися. Нині його метод вдосконалено як вітчизняними, так і зарубіжними вченими. Вже у 1952 р. англійські вчені С. Полдж, О. Сміт, Л. Роусон запропонували заморожувати сперму бугаїв у середовищах із гліцерином. Розроблено різні технології кріоконсервації сперми: японська у відкритих гранулах (Нагазе і Нива, 1964), французька в пайетах (Р. Касу, 1964), українська в облицьованих гранулах (Ф.І. Осташко та ін., 1969), німецька в міні-тюбах (К. Зіммет, 1972), литовська в пайетах (П. Пакенас, 1972) та інші.

В Україні створено кращу в колишньому СРСР галузь дьюаробудування. Для подальшого вдосконалення існуючих і розробки нових методів біотехнології відтворення тварин було створено Інститут розведення і штучного осіменіння сільськогосподарських тварин.

Через 25 років після всесвітньовідомого відкриття І.В. Смирнова було успішно заморожено ембріони сільськогосподарських тварин (Д. Вітінгам та ін., 1972). Саме метод тривалого зберігання сперми плідників сільськогосподарських тварин у глибокозамороженому стані, розроблений І.В. Смирновим, відкрив новий етап науково-технічної революції у селекції і розведенні тварин практично в усіх країнах світу. Почали будувати великі міжрайонні, обласні та державні плеємстанції (нинішні племпідприємства), заморожувати сперму від кращих плідників, що забезпечило швидке поліпшення існуючих та виведення багатьох спеціалізованих порід сільськогосподарських тварин, насамперед великої рогатої худоби та овець. Тільки завдяки цьому відкриттю в багатьох країнах створено генофондні банки сперми видатних тварин та локальних зникаючих порід, налагоджено систему транспортування її в будь-яку країну; незалежно від відстані стало реально можливим втілення індивідуальних якостей видатних плідників у групі. Від окремих бугаїв-поліпшувачів одержу-

ють десятки і навіть сотні тисяч високопродуктивних нащадків. У результаті роль спадковості плідників у генетичному поліпшенні молочних порід великої рогатої худоби сягнула 90—95%, у вівчарстві — 70—80.

Таким чином, плідники-поліпшувачі у прямому розумінні стали золотим фондом тваринництва. Продуктивність 17321 дочки бугая Лінкольна 384785 голштинської породи становила 9416 кг молока, 4,0% жиру та 377 кг молочного жиру.

Творчий внесок автора глибокого заморожування сперми плідників сільськогосподарських тварин І.В. Смирнова у біологічну науку має неоціненне значення і залишається основним методом відтворення великої рогатої худоби, овець, свиней та інших видів тварин у третьому тисячолітті більш ніж у 100 країнах світу.

Українська академія аграрних наук

Інститут розведення і генетики тварин УААН

УДК 636.453.53

Н.З. ЖИЛЬЦОВ, А.Д. СУБОТИН, А.С. ГОЛУБЬ, А.В. ЧИЧИЛОВ

УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ГЛУБОКОГО ЗАМОРАЖИВАНИЯ СЕМЕНИ БЫКА

В последние годы исследователи в области глубокого замораживания семени сельскохозяйственных производителей направили свои усилия на разработку методов замораживания семени барана, хряка, жеребца, в то же время совершенствование метода замораживания семени быка, особенно в технологии разбавления и охлаждения (синтетические среды, эквивибрация), просто прекратилось.

Отсюда среда ГЛЦЖ (В.Ф. Турбин, 1967) до сих пор является основной для разбавления и замораживания семени быка.

© Н.З. Жильцов, А.Д. Суботин, А.С. Голубь, А.В. Чичилов, 2001

Розведення і генетика тварин. 2001. Вип. 34