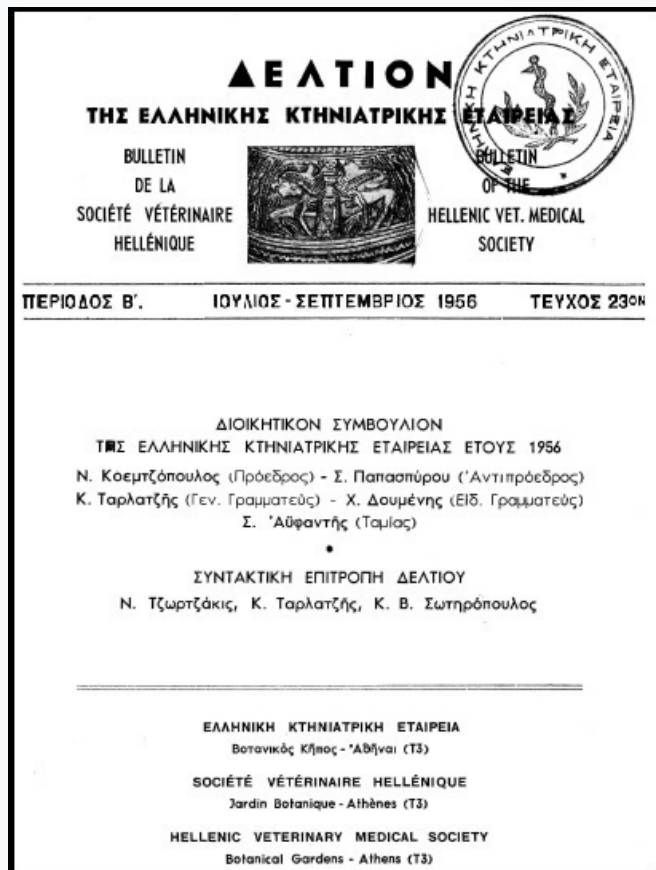


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 7, No 3 (1956)



### ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΟΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΤΑΥΡΟΥ ΕΙΣ ΧΑΜΗΛΗΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΝ (ΚΑΤΑΨΥΞΙΝ)

Ε. ΔΗΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΣ

doi: [10.12681/jhvms.17672](https://doi.org/10.12681/jhvms.17672)

Copyright © 2018, Ε. ΔΗΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΣ



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

#### To cite this article:

ΔΗΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΣ Ε. (1956). ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΟΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΤΑΥΡΟΥ ΕΙΣ ΧΑΜΗΛΗΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΝ (ΚΑΤΑΨΥΞΙΝ). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 7(3), 121-132.  
<https://doi.org/10.12681/jhvms.17672>

## ΜΑΚΡΟΧΡΟΝΙΟΣ ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΤΟΥ ΤΑΥΡΟΥ ΕΙΣ ΧΑΜΗΛΗΝ ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑΝ (ΚΑΤΑΨΥΞΙΝ)\*

Υ π δ

Ε. ΔΗΜΗΤΡΟΠΟΥΛΟΥ

Χάρις εἰς τὴν τεχνητὴν σπερματέγχυσιν ἢ γονιμοποίησιν τῶν ἀγροτικῶν ζῶων ἐσημείωσε σημαντικὴν τεχνικὴν πρόοδον καὶ ἐδημιούργησε νέας δυνατότητας ὡς πρὸς τὴν βελτίωσιν τῆς παγκοσμίου κτηνοτροφίας.

Ἡ ἀνάπτυξις τῆς μεθόδου ταύτης κατὰ τὸ τελευταῖα ἔτη, κυρίως ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὰ βοοειδῆ, ὑπῆρξε καταπληκτικὴ. Ἡ ταχεῖα ἐπέκτασις τῆς Τ.Σ. ἐπέτρεψε μίαν ἀξιόλογον σειρὰν ἐρευνῶν πρὸς τὸν σκοπὸν τῆς ὑπερπηδήσεως τῶν προκυπτουσῶν δυσχερειῶν. Μέγα μέρος τῶν ἐρευνῶν τούτων ἀφιερώθη εἰς τὴν συντήρησιν τοῦ σπέρματος μετὰ τὴν συλλογὴν του καὶ εἶναι σήμερον δυνατὴ εἰς τὴν συνήθη πρᾶξιν ἢ συντήρησις τοῦ σπέρματος ζῶων τινῶν ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας.

Ἄν καὶ ἡ συντήρησις τοῦ σπέρματος ἐπὶ 3 - 4 ἡμέρας ἱκανοποιεῖ τὰς ἡμερησίας ἀνάγκας ἐνὸς κέντρου Τ. Σ., ἡ ἀδυναμία συντηρήσεως τούτου ἐπὶ μεγαλύτερον χρόνον ἐπιφέρει σοβαρὰς ζημίας εἰς σπέρμα προερχόμενον ἐνίοτε ἐκ ταύρων μεγάλης ἀξίας. Ἄφ' ἑτέρου, ἡ ἐφαρμογὴ τοῦ ἐλέγχου τῶν ἀπογόνων θὰ διηκολύνετο τὰ μέγιστα ἐὰν τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου ἠδύνατο νὰ συντηρηθῆ μετὰ τὴν συλλογὴν του ἐπὶ μακρὰν περίοδον καὶ μέχρις ὅτου ἡ πρώτη σειρὰ ἀπογόνων του ἐνηλικιωθῆ. Αὐτὸς εἶναι ὁ λόγος διὰ τὸν ὁποῖον εἶναι προφανὲς ὅτι ἡ ἐφαρμογὴ νέων μεθόδων συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἐπὶ μακρὸν χρονικὸν διάστημα θὰ προσέφερον ὑπηρεσίας ὄχι μόνον εἰς τὴν Τ. Σ. ἀλλὰ θὰ ἐπέτρεπεν ἐπίσης τὴν χρησιμοποίησιν εἰς τὸν μέγιστον βαθμὸν ἐνὸς δεδοκιμασμένης ἀξίας ταύρου διὰ τῆς ἐναποθηκείσεως τοῦ σπέρματός του κατὰ τὴν περίοδον ἀναμονῆς.

Ἐπὶ πλέον ἡ ἀνταλλαγὴ σπέρματος μεταξὺ διαφόρων κέντρων θὰ καθίστατο δυνατὴ πρὸς τὸν σκοπὸν τῆς γονιμοποιήσεως ζῶων ἀποτελούντων νηϊίδα ξένης γενεᾶς. Ἐν περιπτώσει ἀπωλείας τοῦ ταύρου κατὰ τὴν περίοδον κατὰ τὴν ὁποῖαν οὗτος τελεῖ ὑπὸ δοκιμασίαν τὸ σπέρμα ἐναποθηκευ-

\*) Ἀνεκοινώθη εἰς τὴν Ἑλληνικὴν Κτηνιατρικὴν Ἐταιρείαν κατὰ τὴν συνεδρίαν τῆς 13/ΧΙ/1956.

μένον εἰς ἐπαρκῆ ποσότητα θὰ ἠδύνατο νὰ χρησιμοποιηθῆ καὶ μετὰ τὸν θάνατον τοῦ ταύρου. Τοιοῦτοτρόπως θὰ ἐγεννῶντο μόσχοι μὲ σπέρμα ταύρου ἀποθανόντος ἀπὸ μηνῶν ἢ καὶ ἀπὸ ἐτῶν εἰσέτι. Ἐτέρου, ὁ κτηνοτρόφος θὰ ἠδύνατο νὰ ἐπιλέγῃ ἀκωλύτως τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου, τὸν ὁποῖον προτιμᾷ διὰ τὴν ἀγέλην. Τέλος, ἐὰν πορευθεροῦντο ἀπρόβλεπτα γεγονότα, ὡς βαρεῖαι ἐπιζωοῖαι τῶν ζῴων ἐνὸς κέντρου Τ. Σ. ἢ ἔλλειψις τεχνικοῦ προσωπικοῦ, ἀπειλοῦντα τὴν διακοπὴν τῶν ἐργασιῶν τοῦ Κέντρου τούτου, θὰ ἤρκει νὰ καταφύγῃ τις εἰς τὰ ἀποθέματα κατεψυγμένου σπέρματος πρὸς ἀνεφοδιασμὸν τῶν ὑποσταθμῶν.

Σκοπὸς τῆς παρουσίης μελέτης εἶναι ἡ σκιαγράφησις τῶν ἐπιτευχθεισῶν προόδων ἐν σχέσει πρὸς τὴν μακροχρόνιον συντήρησιν τοῦ σπέρματος, τὰς προσφάτους ἐπιτεύξεις τῆς τεχνικῆς τῆς καταψύξεως ὡς καὶ τὰ ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα.

Ὡς τυγχάνει γνωστὸν ἡ ἐπιβίωσις τῶν σπερματοζωαρίων «in vitro» ἐξαρτᾶται ἐκ πλείστων παραγόντων μεταξὺ τῶν ὁποίων ὁ παράγων τῆς θερμοκρασίας ἔχει κεφαλαιώδη σημασίαν. Κατὰ γενικὸν κανόνα αἱ θερμοκρασίαι, αἱ ὑπερκείμεναι ἐλαφρῶς τοῦ μηδενὸς εἶναι αἱ πλέον εὐνοϊκαί, ἡ δὲ εὐμενῆς ἐπίδρασις τῆς ψύξεως δύναται ν' ἀποδοθῆ κυρίως εἰς τὴν ἐπιβροδυνσίαν τὴν ὁποίαν αὕτη ἐπιφέρει εἰς τὰ φαινόμενα τῆς ἀνταλλαγῆς τῆς ὕλης. Αἱ θερμοκρασίαι, αἱ περιλαμβανόμεναι μεταξὺ 2<sup>ο</sup> καὶ 5<sup>ο</sup> C., εἶναι αἱ εὐνοϊκώτεραι διὰ τὰ σπερματοζωάρια τῶν πλείστων ζῴων, ἐνῶ ἀντιθέτως αἱ θερμοκρασίαι κάτω τοῦ 0<sup>ο</sup> C., αἱ ὁποῖαι ἐπιφέρουν τὴν στερεοποίησιν τοῦ σπέρματος εἶναι κατὰ γενικὸν κανόνα λίαν ἐπικίνδυναι διὰ τὰ σπερματοζωάρια. Ἡ εὐαισθησία αὕτη τῶν σπερματοζωαρίων ἔρχεται εἰς ἀντίθεσιν πρὸς τὴν ἰκανότητα ζώντων τινῶν κυττάρων ὡς καὶ τινῶν μικροοργανισμῶν, νὰ ὑπομένουν ἐξαιρετικῶς ταπεινὰς θερμοκρασίας ὡς τοῦτο ἀπέδειξαν οἱ Luyet καὶ Gehenio (ἀναφερόμενοι ὑπὸ τῶν Polge καὶ Parkes)<sup>15</sup>.

Ἡ βιβλιογραφία ἡ σχετικὴ πρὸς τὰ ἀποτελέσματα τῶν λίαν ταπεινῶν θερμοκρασιῶν ἐπὶ τῶν σπερματοζωαρίων συνεκεντρώθη ὑπὸ τοῦ Parkes τὸ 1945<sup>15</sup>. Ὁ Jahnel τὸ 1935 καὶ ὁ Shettles τὸ 1940<sup>15</sup> σημειοῦν ὅτι μία μερὶς τῶν ἀνθρωπίνων σπερματοζωαρίων ἐπέζη ἐπὶ σχετικῶς μακρὸν χρονικὸν διάστημα, ὅταν τὸ σπέρμα ὑπεβάλλετο εἰς κατάψυξιν διὰ τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακός (—79<sup>ο</sup> C) ἢ εἰς θερμοκρασίας ἕξι ταπεινοτέρας ἐπιτυγχανομένης δι' ὑγροποιημένων ἀερίων. Ταῦτοχρόνως, τὸ 1938, οἱ Luyet καὶ Hodapp<sup>15</sup> ἐφήρμοσαν μέθοδον καταψύξεως τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ βατράχου δι' ὑγροποιηθέντος ἀέρος (—192<sup>ο</sup> C) καὶ εὔρον ὅτι οὐδὲν σπερματοζωάριον ἐπέζη, ἐὰν τὸ σπέρμα εὑρίσκετο ἐν ἐναιωρήσει ἐντὸς ὕδατος· ἀντιθέτως, ἐὰν τὰ σπερματοζωάρια ἀφυδατοῦντο μερικῶς διὰ τῆς προσθήκης πυκνῆς διαλύσεως σακχαροῦς καὶ κατεψύχοντο ταχύτατα διὰ βυθίσεως ἐντὸς ὑγροποιηθέντος ἀέρος λεπτῆς στοιβάδος σπέρματος ἐπὶ πλακὸς ἐκ χα-

λαζίου, μεγάλη αναλογία σπερματοζωαρίων ἐπέζη όταν ταῦτα ἐθερμαίνοντο ἀκολούθως ταχέως. Ἡ τεχνικὴ αὕτη τῆς πλασμούσεως καὶ τῆς ὑπὲρ ταχείας καταψύξεως εἶναι ἡ αὐτὴ μὲ ἐκείνην ἢ ὁποῖα ἐφηρμόσθη ἐπιτυχῶς ἐπὶ τινων φυτικῶν ἰσίων. Βιοσίζεται δέ, ἐπὶ τῆς θεωρίας ὅτι οὐσιώδης συντελεστὴς διὰ τὴν ἐπιβίωσιν τῶν κυττάρων εἰς ταπεινὴν θερμοκρασίαν εἶναι ὁ μὴ σχηματισμὸς κρυστάλλων πάγου καὶ ὅτι τὸ ὕδωρ τὸ εὐρισκόμενον ἐν ἀναμίξει μετὰ τῶν κολλοειδῶν όταν καταψύχεται ταχύτατα δὲν κρυσταλλοῦται.

Οἱ Hoagland καὶ Pinkus<sup>15</sup> τὸ 1942, φρονούντες ὅτι τὰ σπερματοζωάρια ἐβλάπτοντο ὑπὸ τῶν κρυστάλλων τοῦ πάγου προσεπάθησαν νὰ ἐπιτύχουν τὴν ὑλοποίησιν τοῦ σπέρματος πλείστων θηλαστικῶν περιλαμβανομένου καὶ τοῦ ἀνθρώπου, μὲ μέτρια ἀποτελέσματα. Τὸ 1945 ὁ Parkes<sup>15</sup> ἀπέδειξεν ὅτι τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ἀνθρώπου, όταν εὐρίσκοντο εἰς λεπτὴν στοιβάδα ἢ εἰς τριχοειδῆ σωληνάρια δὲν ἐπέζων ἐνῶ ἀντιθέτως ἡ ἐπιβίωσις αὐτῶν ἦτο ἐφικτὴ όταν ἐποθετοῦντο ἐντὸς μεγαλύτερων σωλῆνων. Διεπιστώθη ἀκολούθως ὅτι ἡ ὑπερταχεία κατάψυξις ὅχι μόνον δὲν ἦτο ἀναγκαία ἀλλ' ἀκόμη ἦτο καὶ βλαβερὰ διὰ τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ἀνθρώπου. Τοιοῦτοτρόπος, αἱ πρῶται ἀπόπειραι τῆς πλήρους διακοπῆς τῆς κινητικότητος καὶ τῆς ἀνταλλαγῆς τῆς ὕλης τῶν σπερματοζωαρίων ἀπέτυχον λόγῳ τοῦ σχηματισμοῦ κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς καταψύξεως κρυστάλλων πάγου, οἱ ὁποῖοι ἐβλάπτον τὰ σπερματοζωάρια.

Ἐν τούτοις, σημαντικαὶ πρόοδοι ἐπετεύχθησαν τὸ 1949 ὑπὸ τῶν Polge, Smith καὶ Parkes<sup>15</sup> διὰ τῆς ἀνακαλύψεως τοῦ γεγονότος ὅτι, ἡ φυσικὴ κατάστασις τοῦ ὕδατος μετεβάλλετο κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς καταψύξεως διὰ τῆς προσθήκης ἐντὸς τοῦ ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ τοῦ σπέρματος γλυκερίνης, ἣτις παρουσίαζεν τὴν ἀξιοσημεῖωτον ιδιότητα νὰ προστατεύῃ τὰ σπερματοζωάρια ἔναντι τῆς βλαβεροῦς ἐπιδράσεως τῶν χαμηλῶν θερμοκρασιῶν. Τὰ πειράματά των ἔλαβον κατ' ἀρχὰς χώραν ἐπὶ σπέρματος πτηνῶν, τὸ ὁποῖον διελύετο μὲ ὑγρὸν Ringer καὶ κατεψύχετο διὰ τοποθετήσεως τοῦ δοκιμαστικοῦ σωλῆνος κατ' εὐθείαν ἐντὸς μίγματος διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος καὶ οἴνοπνεύματος, θερμοκρασίας—79°C. Οἱ ἀνωτέρω ἐρευνηταὶ δὲν ἀνεῦρον ζῶντα σπερματοζωάρια μετὰ τὴν ἀναθέρμανσιν τοῦ σπέρματος. Ἐάν, ἀντιθέτως, τὸ σπέρμα ἀνεμυγνύετο μὲ ποσότητα 15 - 20% γλυκερίνης καὶ ἀκολούθως κατεψύχετο εἰς τοὺς —79° C, τὰ σπερματοζωάρια, ἀναθερμαινόμενα, ἐπανελάμβανον πλήρως τὴν προτέραν κινητικότητα αὐτῶν, ἔστω καὶ ἐάν ἡ περίοδος καταψύξεως εἰς τοὺς —79° C διήρκει ἐπὶ ἐννέα μῆνας.

Ἡ ἐφαρμογὴ ὅμως τῆς μεθόδου ταύτης τῆς καταψύξεως τοῦ σπέρματος τῶν θηλαστικῶν μετὰ γλυκερίνης εἶναι πολὺπλοκος, καθ' ὅσον, ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ σπέρμα τῶν πτηνῶν, δὲν ἐπιτυγχάνεται ἐπιβίωσις τῶν σπερματοζωαρίων τούτων μετὰ ταχείαν κατάψυξιν αὐτῶν. Ἀντιθέτως, ἐάν ἡ

ταχύτης τῆς ψύξεως εἶναι σχετικῶς μικρὰ σημαντικὸν μέρος τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ ταύρου καὶ τοῦ τράγου δύνανται νὰ ἐπαναλάβουν τὴν κινητικότητά των μετὰ κατάψυξιν εἰς  $-79^{\circ}\text{C}$ .

Οἱ Smith καὶ Polge<sup>15</sup> τὸ 1950 ἐπεχείρησαν ἐπίσης τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος τοῦ ἵππου, ἀλλὰ τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ζῴου τούτου εἶναι λίαν εὐπαθῆ καὶ ἡ ἐπιβίωσις αὐτῶν μετὰ κατάψυξιν δὲν δύναται νὰ ἐπιτευχθῆ, εἰμὴ μόνον ἐὰν ἀποχωρισθῆ διὰ φυγοκεντρώσεως τὸ σπερματικὸν πλάσμα ἀπὸ τῶν σπερματοζωαρίων, τὰ δὲ τελευταῖα ταῦτα ἐναιωρηθῶν ἐντὸς φωσφορούχου ὀρθμιστικοῦ διαλύματος περιέχοντος 5 % γλυκόζης καὶ 30 % γλυκερίνης. Ὅταν ἡ κατάψυξις εἰς τοὺς  $-79^{\circ}\text{C}$  ἐνεργεῖται βραδέως 25 % περίπου τῶν σπερματοζωαρίων δύνανται νὰ ἐπανακτήσουν τὴν πλήρη κινητικότητά των ὅταν ἀναθερμαίνονται, ἐνῶ ἐλάχιστα ἐπιζοῦν τῆς ταχείας καταψύξεως.

Οἱ Emmens καὶ Blackshan<sup>15</sup> τὸ 1950 εὗρον ὅτι τὰ σπερματοζωάρια τοῦ ταύρου δύνανται νὰ ἀνακτήσουν τὴν ζωτικότητά των, ἀκόμη δὲ καὶ νὰ δεῖξουν περιστροφικὰς κινήσεις, μετὰ βραδείαν κατάψυξιν εἰς τοὺς  $-79^{\circ}\text{C}$  καὶ παρουσία 7,5 - 10 % γλυκερίνης. Σημειωτέον ὅτι ἡ προσθήκη 1,25 % πεντόζης αὐξάνει τὸ ποσοστὸν ἐπιβιώσεως. Παρόμοιαι συνθῆκαι ἀπεδείχθησαν ἱκανοποιητικαὶ καὶ διὰ τὸ σπέρμα τοῦ κριοῦ.

Μεταξὺ τῶν ζῴων τοῦ ἐργαστηρίου, ὁ κόνικλος εἶναι κατάλληλος δι' αὐτὸ τὸ εἶδος τῶν πειραμάτων, τὰ δὲ σπερματοζωάρια αὐτοῦ εἶναι λίαν εὐαίσθητα εἰς τὴν γλυκερίνην: 2 - 4 % εἶναι ἡ μεγίστη ἀνεκτὴ ἀναλογία γλυκερίνης ἢ μὴ προκαλοῦσα ἀκίνητοποίησιν τῶν σπερματοζωαρίων· ὡς ὅμως ἀπέδειξαν τὸ 1949 οἱ Polge, Smith καὶ Parkes<sup>15</sup>, ἡ πυκνότης αὕτη, ἐλάχιστα προστατεύει τὰ σπερματοζωάρια κατὰ τὴν κατάψυξιν.

Αἱ ἀνωτέρω πληροφορίες, ἀφοροῦν ἀποκλειστικῶς εἰς τὴν κινητικότητα τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ τὴν κατάψυξιν· εἶναι ὅμως γνωστὸν ὅτι ἡ κινητικότης δὲν ἐπηρεάζει τὴν ἱκανότητα τῶν σπερματοζωαρίων πρὸς γονιμοποίησιν τοῦ ὄου.

Ἡ γονιμοποιητικὴ ἱκανότης τοῦ καταψυχθέντος εἰς  $-79^{\circ}\text{C}$  σπέρματος, ἐμελετήθη ὑπὸ τῶν Polge καὶ Rowson<sup>16</sup>, οἱ ὅποιοι ἀπέδειξαν ὅτι ἡ προσθήκη γλυκερίνης ἄνευ καταψύξεως οὐδεμίαν τοξικότητα παρουσιάζει διὰ τὰ σπερματοζωάρια. Τοιουτοτρόπως, τὸ ποσοστὸν γονιμοποιήσεως τῶν ἀγελάδων εἰς ἃς ἐγένετο ἔγχυσις σπέρματος, περιέχοντος 15 % γλυκερίνης, ἀνῆλθεν εἰς 76 % ἐν συγκρίσει πρὸς τὸ ποσοστὸν γονιμοποιήσεως τὸ ἐπιτευχθὲν διὰ τοῦ αὐτοῦ σπέρματος, μὴ περιέχοντος ὅμως γλυκερίνην, τὸ ὅποιον ἀνῆλθεν εἰς 50 %.

Πλείσται μεταβολαὶ ἐπενέχθησαν εἰς τὴν ἀρχικὴν τεχνικὴν τῆς ἀραιώσεως τοῦ σπέρματος πρὸ τῆς καταψύξεως. Παρατηρήθη δὲ ὅτι δείγματα σπέρματος παραμείναντα ἐπὶ μίαν νύκτα μετὰ γλυκερίνης εἰς ἀναλογίαν

10 % και καταψυχέντα εις τούς  $-79^{\circ}\text{C}$ , ἐπεδείκνυον τὴν ἐπομένην ὑψηλὸν ποσοστὸν κινητικότητος μετὰ ἀναθέρμανσιν. Εἰς τὸ ἀρχικὸν πείραμα τῶν Smith και Polge τὸ 1950, ἡ ψῦξις ἐλάμβανε χώραν προοδευτικῶς διὰ τῆς χρησιμοποίησεως σειρᾶς ἰσοθέρων φιαλῶν μειουμένης θερμοκρασίας. Βραδύτερον οἱ Polge και Rowson<sup>16</sup> ἔψυχον προοδευτικῶς τὸ σπέρμα διὰ συνεχοῦς προσθήκης ξηροῦ πάγου εἰς μίαν μοναδικὴν ἰσόθερον φιάλην.

Ἡ σήμερον ἐφαρμοζομένη τεχνική, ὡς ἐμελετήσαμεν ταύτην εἰς Cambridge\*, εἶναι ἡ ἑξῆς: 1) τὸ πρὸς κατάψυξιν σπέρμα ἀραιοῦται εἰς τὸ ἥμισυ τῆς τελικῆς διαλύσεως με ρυθμιστικὸν διάλυμα κιτρικοῦ νατρίου (pH 6,7) σὺν 15 % λεκίθου ὄου και ἀκολούθως τοποθετεῖται εἰς τὸ ψυγεῖον μέχρις ἐπιτεύξεως θερμοκρασίας  $5^{\circ}\text{C}$ . ἀφ' ἐτέρου, διάλυσις περιέχουσα 20 % γλυκερίνης, 15 % λεκίθου ὄου και 65 % κιτρικοῦ νατρίου, διατηρεῖται ἐπίσης εἰς τὸ ψυγεῖον εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν  $5^{\circ}\text{C}$ . 2) Μετὰ ἐξάωρον ψῦξιν τὸ σπέρμα ἀραιοῦται ἐκ νέου διὰ τῆς διαλύσεως τῆς γλυκερίνης, διὰ τῆς βραδείας προσθήκης ταύτης εἰς τὸ σπέρμα και τῆς ἠπίας ἀναμίξεως με ρυθμὸν 5 κ. ὑφ. ἀνὰ δέκα λεπτά τῆς ὥρας. Ἡ τελικὴ ἀραίωσις τοῦ σπέρματος εἶναι  $1/10$ — $1/20$ , ἀναλόγως τῆς ποιότητος αὐτοῦ. 3) Τὸ σπέρμα ἀναμεμιγμένον μετὰ τῆς γλυκερίνης, ἀφίεται καθ' ὅλην τὴν νύκτα (18 ὥρας περίπου) ἐντὸς τοῦ ψυγείου, διὰ τὴν ἰσορρόπησιν αὐτοῦ μέσῳ τῆς γλυκερίνης. Τὸ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν δὲν περιέχει πενικιλλίνην, στρεπτομυκίνην ἢ σουλφανιλαμίδην. 4) Τὴν ἐπομένην τὸ σπέρμα τοιουτοτρόπως ἰσορροπημένον διαμοιράζεται ταχέως εἰς φύσιγγας τοῦ ἐνὸς κ. ὑφ. (10 γλμ.  $\times$  75 γλμ. περίπου). Αἱ φύσιγγες κλείονται εἰς τὴν φλόγα. 5) Εἰς μεγάλην ἰσόθερον φιάλην χωρητικότητος 5 λίτρων, περιέχουσαν ἀπόλυτον οἰνόπνευμα θερμοκρασίας  $5^{\circ}\text{C}$ ., τοποθετεῖται συρμάτινον κἀνιστρον διηρημένον εἰς τέσσαρα διαμερίσματα, ἐντὸς τῶν ὁποίων τίθενται καθέτως αἱ φύσιγγες. 6) Ἡ προϋοῦσα κατάψυξις ἄρχεται διὰ τῆς τοποθετήσεως ἐντὸς τοῦ οἰνοπνεύματος τεμαχιδίων ξηροῦ πάγου. Ἡ δὲ κατάψυξις λαμβάνει χώραν διὰ τῆς μειώσεως τῆς θερμοκρασίας κατὰ ἥμισυ βαθμὸν κατὰ λεπτὸν μέχρις ἐπιτεύξεως θερμοκρασίας  $-10^{\circ}\text{C}$  και ἀκολούθως ταχύτερον με ρυθμὸν μειώσεως τεσσάρων βαθμῶν κατὰ λεπτὸν μέχρι θερμοκρασίας  $-79^{\circ}\text{C}$ . 7) Μετὰ τὴν κατάψυξιν και τὸν ἔλεγχον τῆς ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων, τὸ περιέχον τὰς φύσιγγας συρμάτινον κἀνιστρον μεταφέρεται τάχιστα εἰς τὸ κιβώτιον καταψύξεως, τοῦ ὁποίου ἡ θερμοκρασία διατηρεῖται σταθερῶς μεταξὺ  $-75^{\circ}$  και  $-79^{\circ}\text{C}$  χάρις εἰς τὴν περιοδικὴν προσθήκην ξηροῦ πάγου.

\* Εὐχαριστοῦμεν θερμῶς τὸν Dr. Rowson και τοὺς συνεργάτας του, οἱ ὁποιοὶ εὐηρεστήθησαν νὰ ἐπιδείξωσιν ἡμῖν τὴν τεχνικὴν τῆς καταψύξεως τοῦ σπέρματος τοῦ ταύρου.

Τὸ κατεψυγμένον σπέρμα μεταφέρεται εἰς τοὺς ὑποσταθμοὺς T. Σ. ἐντὸς ἰσοθέρων φιαλῶν περιεκτικότητος 1 λίτρου, περιεχουσῶν μικρὰν ποσότητα οἴνοπνεύματος καὶ μεγάλην τοιαύτην ξηροῦ πάγου. Τοιοῦτοτρόπως ἡ θερμοκρασία διατηρεῖται σταθερῶς καθ' ὅλην τὴν ἡμέραν εἰς τοὺς  $-79^{\circ}\text{C}$ . Ἡ σπερματέγχυσις ἐπιτελεῖται διὰ τῆς ρευστοτοίσεως τοῦ στερεοῦ σπέρματος, διὰ τῆς ἐμβυθίσεως τῶν φυσίγγων ἐντὸς ὕδατος θερμοκρασίας  $38^{\circ}\text{C}$ , εὐθὺς μετὰ τὴν ἀφιξιν εἰς τὸ ἀγρόκτημα.

Τοιοῦτοτρόπως, τὸ χρησιμοποιούμενον ὑπὸ τῶν Polge καὶ Rowson ἀραιοτικὸν ὑγρὸν περιέχει τελικῶς 15 % λέκιθον ὄου, 10 % γλυκερίνην, 75 % διαλύσεως κιτρικοῦ νατρίου 2,92 % + 2 H<sub>2</sub>O (pH 6,7). Χρόνος ἰσορροπήσεως 15 - 20 ὥραι.

Πολύριθμοι πειραματικαὶ ἐργασίαι ἔλαβον χώραν πρὸς τὸν σκοπὸν τῆς μελέτης τῆς ἀρίστης περιεκτικότητος τοῦ ἀραιοτικοῦ ὑγροῦ εἰς λέκιθον ὄου, γλυκερίνην καὶ κιτρικὸν νάτριον, τοῦ ἀρίστου χρόνου ἰσορροπήσεως, τῆς προσθήκης ἢ οὐ πενικιλίνης, στρεπτομυκίνης καὶ σουλφαναμιδης, ὡς ἐπίσης καὶ τῆς χρησιμοποιήσεως τοῦ γάλακτος ἀντὶ τοῦ κιτρικοῦ νατρίου.

Κατὰ τοὺς Saroff καὶ Mixner <sup>17</sup> ἀραιοτικὸν ὑγρὸν περιέχον 20 % λεκίθου ὄου καὶ 7 % γλυκερίνης ἔδωσαν ἄριστα ἀποτελέσματα, ἐκφραζόμενα διὰ τῆς ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ ἀναθέρμανσιν, μὲ αὔξησιν ὅμως τοῦ χρόνου ἰσορροπήσεως ἀπὸ 2 ἕως 18 ὥρας.

Οἱ Cragle, Myers, Waugh, Hunter καὶ Anderson <sup>8</sup>, μελετῶντες σπέρμα κατεψυγμένον διατηρηθὲν ἐπὶ πέντε ἡμέρας καὶ περιέχον 20 ἑκατομμύρια σπερματοζωαρίων κατὰ κ. ὑφ. διεπίστωσαν τὰ καλλίτερα ἀποτελέσματα μὲ κιτρικὸν νάτριον 2,9 %, γλυκερίνην 7,6 % καὶ χρόνον ἰσορροπήσεως 14,9 ὥρας.

Οἱ O'Dell καὶ Almquist <sup>11</sup> χρησιμοποίησαντες ἀποβουτυρωμένον θερμομανθὲν γάλα ὡς ἀραιοτικόν, δὲν διεπίστωσαν σημαντικὰς διαφορὰς εἰς τὴν ἑκατοστιαίαν ἀναλογίαν ζώντων σπερματοζωαρίων μετὰ κατάψυξιν καὶ μὲ χρόνον ἰσορροπήσεως  $\frac{1}{2}$ , 4 καὶ 18 ὥρων.

Ἡ πλειονότης τῶν συγγραφέων συμφωνεῖ ἐπὶ τῆς χρησιμοποιήσεως 25 % λεκίθου ὄου, 7 - 10 % γλυκερίνης καὶ χρόνον ἰσορροπήσεως 6—18 ὥρων, ἐνῶ οἱ O'Dell καὶ Hurst <sup>12</sup> χρησιμοποίησαντες ὡς ἀραιοτικὸν τὸ μίγμα λεκίθου ὄου καὶ κιτρικοῦ νατρίου καὶ τὸ ἀποβουτυρωμένον γάλα, διεπίστωσαν ὅτι δι' ἀμφοτέρω τὰ ἀραιοτικὰ τὰ σπερματοζωάρια παρουσίασαν στατιστικῶς μεγαλύτεραν ἐπιβίωσιν ὅταν ὁ χρόνος ἰσορροπήσεως ἦτο μηδὲν ἢ ὅταν οὗτος ἀνῆρχετο εἰς 18 ὥρας.

Τέλος, διαφωνίαι μικροτέρας σημασίας παρατηροῦνται μετὰ τῶν διαφόρων ἐρευνητῶν ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν ταχύτητα καταψύξεως. Τοιοῦτοτρόπως, ὁ Bratton καὶ οἱ συνεργάται <sup>2</sup> καταψύχουν τὸ σπέρμα μὲ ρυθμὸν

0,8° C κατὰ λεπτόν, ἀπὸ 5° ἕως —15° C καὶ ἀπὸ τῆς θερμοκρασίας ταύτης ὁ ξηρὸς πάγος προστίθεται ὅσον τὸ δυνατόν ταχύτερον εἰς τρόπον ὥστε ἡ θερμοκρασία τῶν —79° C νὰ ἐπιτευχθῆ ἔντὸς 15 λεπτῶν, ἐνῶ ὁ Cragle καὶ οἱ συνεργάται \* καταψύχουν μὲ ρυθμὸν 3° κατὰ λεπτόν ἀπὸ 5° ἕως —20° C, ἀπὸ δὲ τῆς θερμοκρασίας ταύτης μέχρι τῶν —50° C ἡ ταχύτης καταψύξεως εἶναι ἀνεξέλεγκτος.

Οἱ Miller καὶ Vandemark<sup>10</sup> τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Illinois, κατόπιν ἀξιοσημειώτων πειραμάτων ἐξάγουν τὰ κάτωθι συμπεράσματα : 1ον. Ἡ γλυκερίνη (0 - 30 %) προστιθεμένη βραδέως εἰς σπέρμα ταύρου ἀραιωθὲν μὲ λεκίθον ὄου καὶ κιτρικὸν νάτριον, μικρὰν ἔχει ἐπίδρασιν ἐπὶ τοῦ ποσοστοῦ κινητικότητος τοῦ σπέρματος διατηρουμένου εἰς θερμοκρασίαν 5° C. 2ον. Δὲν παρετήρησαν σημαντικὰς διαφορὰς ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν ἐπιβίωσιν τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ κατάψυξιν, ὅταν τὰ δείγματα τοῦ σπέρματος ἠραιωθῶντο εἰς τρόπον ὥστε νὰ περιέχουν 10, 30, 90 ἑκατομμύρια σπερματοζωάρια κατὰ κ. ὑφ. 3ον. Ποσότης 7 % (6 - 8) γλυκερίνης ἦτο ἡ ἀρίστη διὰ τὴν ἐπιβίωσιν τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ κατάψυξιν καὶ συντήρησιν εἰς τοὺς —79° C. 4ον. Τὸ ποσοστὸν ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων ἦτο ὑψηλότερον ὅταν τὰ δείγματα ἐθερμαίνοντο εἰς ὑδατόλουτρον 5° C μᾶλλον ἢ 38° C. 5ον. Ἡ προσθήκη γλυκερίνης εἰς σπέρμα ἠραιωμένον διὰ κιτρικοῦ νατρίου καὶ λεκίθου ὄου εἰς θερμοκρασίαν 4° - 5° C ἔδιδε ἔλαφρῶς καλλίτερα ἀποτελέσματα μᾶλλον ἢ εἰς θερμοκρασίαν 10°-15,5° C. 6ον. Ἡ γλυκερίνη προστιθεμένη εἰς 3 ἴσα μέρη ἀνὰ δεκάλεπτα διαλείματα ἔδιδε ποσοστὸν ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων ἔλαφρῶς ἀνώτερον ἐκείνου, τὸ ὁποῖον ἐπετυγχάνετο ὅταν ἡ γλυκερίνη προσετίθετο ὁλόκληρος ἐφ' ἅπαξ. 7ον. Εὖρον ἐπίσης ὅτι ὁ ἀριστος χρόνος ἰσορροπήσεως διὰ σπέρμα ταύρου περιέχον γλυκερίνην καὶ καταψυχθὲν ἦτο ἐξ ὄραι. 8ον. Καλλίτερα ἀποτελέσματα ἐπετυγχάνοντο ὅταν ὁ ρυθμὸς ψύξεως ἦτο ἀπὸ 1° -- 4° C κατὰ λεπτόν ἀπὸ τῆς θερμοκρασίας τῶν + 5° ἕως — 20° C. 9ον. Δείγματα κατεψυγμένου σπέρματος συντηρούμενα εἰς διαφόρους θερμοκρασίας μεταξὺ — 23° καὶ — 79° C, ἔδεικνουν κατὰ προσέγγισιν τὴν αὐτὴν κινητικότητα ὅταν ἀνεθερμαίνοντο μίαν ὥραν μετὰ τὴν κατάψυξιν. Ἐν τούτοις ὅταν ἡ συντήρησις ἦτο μακροτέρα τὰ δείγματα τὰ συντηρούμενα εἰς ὑψηλότερας θερμοκρασίας (— 23° ἕως — 51° C) ἔδεικνουν μείωσιν τῆς κινητικότητος πολὺ ταχύτερον ἐκείνων τὰ ὁποῖα διετηροῦντο εἰς χαμηλοτέρας θερμοκρασίας (— 72° ἕως — 79° C).

Οἱ Hafs καὶ Elliott<sup>8</sup> συνέκριναν τὰ ἀποτελέσματα ἐκ τῆς προσθήκης τῆς λεκίθου ὄου ἀφ' ἑνὸς μὲν εἰς τὰ δύο μέρη τοῦ ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ (δηλαδὴ 25 % εἰς τὸ τμήμα τοῦ ἀραιωτικοῦ τὸ μὴ περιέχον γλυκερίνην, καὶ 25 % εἰς τὸ τμήμα τὸ περιέχον γλυκερίνην), ἀφ' ἑτέρου δὲ τῆς προσθήκης τῆς

λεκίθου ῥοῦ εἰς ποσότητα 50 % μόνον εἰς τὸ τμήμα ἄνευ γλυκερίνης, εἰς τρόπον ὅστε ἡ τελικὴ σύνθεσις τῶν δύο ἀρραιωτικῶν ἦτο ἡ αὐτή.

Τὸ μέσον ποσοστὸν κινητικότητος τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ κατάψυξιν καὶ ἀναθέρμανσιν ἦτο ἀντιστοιχῶς 30,5 % καὶ 22,3 % διὰ τὰς δύο μεθόδους προσθήκης τῆς λεκίθου ῥοῦ ἐντὸς τοῦ ἀρραιωτικοῦ ὑγροῦ. Ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὸ μέσον ποσοστὸν γονιμοποιήσεως μετὰ 60 καὶ 90 ἡμέρας, ἐπὶ 1.515 πρῶτων σπερματεγγύσεων τοῦτο ἀνῆλθεν ἀντιστοιχῶς εἰς 68 % καὶ 59,7 %, παρουσιάζον τοιουτοτρόπως ἐξόχως σημαντικὴν διαφορὰν εἰς ὄφελος τῆς προσθήκης τῆς λεκίθου ῥοῦ καὶ εἰς τὰ δύο τμήματα τοῦ ἀρραιωτικοῦ ὑγροῦ.

Ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν προσθήκην βακτηριοστατικῶν ἐντὸς τοῦ ἀρραιωτικοῦ ὑγροῦ, οἱ Dunn, Larson καὶ Wilett<sup>5</sup> συμπεραίνουν ὅτι ἡ προσθήκη 3 ‰ σουλφαναμιίδης ἐντὸς τοῦ κατεψυγμένου σπέρματος, ἔχει ὡς ἀποτέλεσμα τὴν μείωσιν τῆς ζωικότητος τῶν σπερματοζωαρίων εἰς ποσοστὸν 29 ‰ - 43 ‰, ἐνῶ ἡ πενικιλίνη καὶ ἡ στρεπτομυκίνη οὐδεμίαν δυσμενῆ ἐπίδρασιν παρουσιάζουν ἐπὶ τῆς κινητικότητος καὶ τῆς ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων. Φρονοῦν δὲ ὅτι μόνη ἡ χρησιμοποίησις εἰς τὴν προᾶξιν δειγμάτων σπέρματος περιεχόντων ἀντιβιοτικά ἐπιτρέπει τὴν μόρφωσιν γνόμης, ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν σκοπιμότητα τῆς προσθήκης αὐτῶν ἐντὸς τοῦ πρὸς κατάψυξιν σπέρματος. Ἀντιθέτως, οἱ Hafs καὶ Elliott<sup>8</sup> προσθέτοντες 500 γ/1 κ. ὑφ. στρεπτομυκίνης εἰς τὸ κατεψυγμένον σπέρμα, ἐπέτυχον ἀρίστην γονιμοποίησιν. Ἡ προσθήκη ἐν τούτοις ἀντιβιοτικῶν εἰς τὸ θρυστὸν σπέρμα ἀπεδείχθη λίαν ἐπωφελῆς ὑπὸ τῶν Foote καὶ Bratton<sup>7</sup> (ἀναφερομένων ὑπὸ τοῦ S. A. Asdell<sup>1</sup>), ὡς τοῦτο ἐμφαίνεται ἐκ τῶν ἐπομένων στοιχείων :

α) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 28 - 35 ἡμερῶν 79,1% (ἄνευ ἀντιβιοτικῶν).

β) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 28 - 35 ἡμερῶν 82,5% (προσθήκη 500 Δ. Μ. πενικιλίνης + 500γ στρεπτομυκίνης ἐντὸς τοῦ ἀρραιωτικοῦ ὑγροῦ τοῦ περιέχοντος κτρικὸν - σουλφαναμιίδην-λέκιθον ῥοῦ).

γ) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 60 - 90 ἡμερῶν 64,1% (ἄνευ ἀντιβιοτικῶν).

δ) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 60 - 90 ἡμερῶν 73% (μετ' ἀντιβιοτικῶν ὡς ἄνω).

ε) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 150 - 180 ἡμερῶν 60,3% (ἄνευ ἀντιβιοτικῶν).

στ) Ποσοστὸν μὴ ἐπιστρεψασῶν ἀγελάδων ἐντὸς 150 - 180 ἡμερῶν 69,7% (μετ' ἀντιβιοτικῶν ὡς ἄνω).

Ἡ συμβολὴ τῶν ἀντιβιοτικῶν ἔγκειται ὄχι μόνον εἰς τὴν πρόληψιν τῶν νόσων, ἀλλὰ ἐπὶ πλέον εἰς τὴν προστασίαν τῆς γονιμοποιήσεως καὶ τῆς ἀναπτύξεως τοῦ ἐμβρύου.

Ἡ ἀναλογία ἀραιώσεως τοῦ πρὸς κατάψυξιν σπέρματος εἶναι κατωτέρα ἐν συγκρίσει πρὸς τὰς συνήθεις ἀραιώσεις τοῦ νωποῦ σπέρματος. Ἡ ἀραιώσις αὕτη ἀνέρχεται εἰς 1 : 10 ἕως 1 : 20, εἰς τρόπον ὥστε ἕκαστον κ. ὑφ. σπέρματος ἡραιωμένον νὰ περιέχη 40 ἕως 20 ἑκατομμύρια ζώντων σπερματοζωαρίων. Πάντες οἱ ἐρευνηταὶ ὁμοφώνως ἀποφαίνονται ὅτι κατὰ τὴν ἐπακολουθοῦσαν τὴν κατάψυξιν ἀναθέρμανσιν, ἢ κινητικότης τῶν σπερματοζωαρίων ποικίλλει μεταξὺ 40 % ἕως 50 %, ἔξ οὗ προκύπτει ἡ ἀνάγκη ὅπως προβαίνομεν εἰς ἀσθενεῖς ἀραιώσεις τοῦ πρὸς κατάψυξιν σπέρματος.

Τὰ ἐπιτυγχανόμενα ἀποτελέσματα ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν γονιμοποίησιν ἀγελάδων διὰ κατεψυγμένου σπέρματος ταύρου ποικίλλουν ἀναλόγως τῶν ἐρευνητῶν καὶ τῶν χωρῶν· πάντως ὁμως, τὸ ποσοστὸν γονιμοποιήσεως, τὸ ἐπιτυγχανόμενον κατὰ τὴν πρώτην σπερματέγχυσιν εἶναι κατώτερον τοῦ συνήθως ἐπιτυγχανομένου διὰ τοῦ ρευστοῦ σπέρματος. Ἐν τούτοις, ὁ Snyder καὶ οἱ συνεργάται του<sup>12</sup>, χρησιμοποιοῦσαντες σπέρμα καταψυχθὲν καὶ διατηρηθὲν ἀπὸ 10 ἕως 140 ἡμέρας, ἀναθερμανθὲν δὲ εἰς τοὺς 5° C πρὸ τῆς σπερματεγχύσεως, ἐπέτυχον ποσοστὸν γονιμοποιήσεως 67 % ἐπὶ 904 πρώτων ἐπεμβάσεων, ἐνῶ μὲ σπέρμα νωπὸν τῶν αὐτῶν ταύρων ἐπέτυχον ποσοστὸν γονιμοποιήσεως 64 % ἐπὶ 3.990 πρώτων ἐπεμβάσεων. Οἱ Poore καὶ Brugman<sup>13</sup> διεπίστωσαν διαφορὰς ὀφειλομένας εἰς τὴν γενεάν, ὡς ἐπίσης καὶ διαφορὰς μεταξὺ ταύρων τῆς αὐτῆς γενεᾶς, ἀκόμη δὲ καὶ μεταξὺ ἐκσπερματώσεων τῶν αὐτῶν ταύρων. Ἐπίσης ὁ Rowson εἰς τὸ Cambridge (προσωπικὴ ἀνακοίνωσις), S. W. J. Van Dieten εἰς τὴν Ὀλλανδίαν (προσωπικὴ ἀνακοίνωσις), ὑπολογίζουσι τὸ ποσοστὸν γονιμοποιήσεως κατώτερον κατὰ 8 %. Ὁ Dunn καὶ οἱ συνεργάται του<sup>5</sup> διαπιστώνουσι ποσοστὸν γονιμοποιήσεως 71 % ἐπὶ 6.663 σπερματεγχύσεων, ἐνῶ μὲ τὸ αὐτὸ σπέρμα καταψυχθὲν καὶ διατηρηθὲν εἰς τοὺς — 79° C ἀπὸ μιᾶς ἡμέρας μέχρι 14 ἑβδομάδων, 59 % γονιμοποιήσεως ἐπὶ 2.163 σπερματεγχύσεων.

Ἡ μέχρι τοῦδε περιγραφεῖσα μέθοδος καταψύξεως ἐπιτυγχάνεται διὰ μίγματος στερεοποιηθέντος διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος καὶ οἴνοπνεύματος. Ἐγένοντο ὁμως ἐπίσης καὶ πειράματα καταψύξεως τοῦ σπέρματος, εἴτε διὰ μηχανικῆς καταψύξεως εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν — 96° C, εἴτε δι' ὑγροῦ ἀέρος, ὅστις ἐπιτρέπει ἡμῖν τὴν ἐπίτευξιν θερμοκρασιῶν ἀπὸ — 100° C ἕως — 192° C. Τὰ ἀνωτέρω πειράματα εἶναι ἐνδιαφέροντα καθ' ὅσον ἐπιλύουσι τὰ κάτωθι δύο προβλήματα : δηλαδή, α) τὴν ὑψηλὴν τιμὴν τοῦ στερεοποιηθέντος διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος, τοῦ ὁποῦ ἀπαιτεῖται μεγάλη ποσότης καὶ β) τὴν ἀδυναμίαν ἐπιτεύξεως δι' αὐτοῦ θερμοκρασιῶν κατωτέρων τοῦ — 75° C ἕως — 79° C. Δεδομένου δὲ ὅτι οἱ πλείστοι τῶν ἐρευνητῶν συμφωνοῦν εἰς τὴν γνώμην, ὅτι δὲν πρέπει ἡ θερμοκρασία καταψύξεως νὰ εἶναι ἀνωτέρα τοῦ — 70° C, καθ' ὅσον ὑπάρχει κίνδυνος μειώσεως τοῦ ποσοστοῦ ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων, τὸ ὄριον ἀσφαλείας τῶν — 70° C

καὶ  $-75^{\circ}\text{C}$  ἕως  $-79^{\circ}\text{C}$  δὲν εἶναι ἐπαρκές. Οἱ Etgen καὶ Ludwick<sup>ο</sup> τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Ohio, εἰς τὸ Columbus, συνέκρινον τὸ ποσοστὸν ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων κατὰ τὴν κατάψυξιν εἰς μίγμα  $\text{CO}_2$  καὶ οἰνοπνεύματος θερμοκρασίας  $-72^{\circ}\text{C}$  περίπου καὶ κατὰ τὴν μηχανικὴν τοιαύτην εἰς θερμοκρασίαν  $-96^{\circ}\text{C}$ , καὶ διεπίστωσαν ὅτι κατὰ τὴν δευτέραν τὸ ποσοστὸν ἐπιβιώσεως ἦτο σημαντικῶς ἀνώτερον. Ὁ S. W. J. Van Dieten, εἰς Ὀλλανδίαν, πειραματίζεται νῦν ἐπὶ τῆς καταψύξεως τοῦ σπέρματος δι' ὑγροῦ ἀέρος καὶ τῆς συντηρήσεως αὐτοῦ εἰς τοὺς  $-100^{\circ}\text{C}$  καὶ πλέον καὶ συγκρίνει τὸν τρόπον τοῦτον καταψύξεως μὲ τὸν ἐπιτυγχανόμενον διὰ  $\text{CO}_2$ .

Ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὸν χρόνον συντηρήσεως τοῦ κατεψυγμένου σπέρματος, θεωρητικῶς, τοῦτο δύναται νὰ συντηρηθῇ ἐπ' ἄπειρον, καθ' ὅσον πᾶσα ἀνταλλαγὴ τῆς ὕλης εἰς τὴν θερμοκρασίαν αὐτὴν διακόπτεται.

Ἡδη, σπέρμα κατεψυγμένον ταύρου συντηρεῖται ἀπὸ πενταετίας εἰς τὸ Cambridge, ἀπὸ τεσσάρων ἐτῶν εἰς Ἀμερικὴν, ἀπὸ τριῶν ἐτῶν εἰς Γαλλίαν καὶ πλέον τῶν δύο ἐτῶν εἰς Ὀλλανδίαν. Εἰς τὸ ἐν Namur Κέντρον T. Σ., εἴμεθα ἔτοιμοι νὰ ἐφαρμόσωμεν τὴν μέθοδον αὐτήν, ἐπετύχομεν δὲ ἤδη τὴν γέννησιν ἐξαιρέτων μόσχων διὰ κατεψυγμένου σπέρματος.

Περαίνοντες τὴν παροῦσαν ἐπιθυμοῦμεν νὰ τονίσωμεν τὴν καταστρεπτικὴν ἐπίδρασιν τῆς μεθόδου τῆς καταψύξεως ἐπὶ τῆς τριχομονάδος τῆς ἐμβρυϊκῆς, χάρις εἰς τὸν συνδυασμὸν γλυκερίνης καὶ χαμηλῆς θερμοκρασίας. Πράγματι, ὁ L. P. Joyner<sup>ο</sup> προσέθεσεν εἰς σπέρμα τριχομονάδας ληφθείσας δι' ἐκπλύσεως γεννητικῶν ὀργάνων μεμολυσμένου ταύρου ὡς καὶ εἰς ἕτερον ποσότητα καλλιεργήματος τριχομονάδων. Μετὰ κατάψυξιν τοῦ σπέρματος εἰς  $-79^{\circ}\text{C}$ , παρουσίᾳ 10% γλυκερίνης, αἱ περιεχόμεναι ἐν τῷ σπέρματι τριχομονάδες ἀπενεκρώθησαν· συνεπαίραναν δέ, ὅτι τὸ τελειότερον μέσον ἀποστειρώσεως σπέρματος μεμολυσμένου διὰ τριχομονάδων εἶναι ἡ κατάψυξις.

Βεβαίως, πλεῖσται δυσχέρειαι ὑπάρχουσιν εἰσέτι, καθ' ὅσον ἡ μέθοδος αὕτη παρὰ τὰς πραγματοποιηθείσας προόδους, εἶναι εἰσέτι κοπιώδης καὶ δαπανηρά. Ὑπάρχει ὁμως βᾶσιμος ἐλπίς ὅτι ὑπερνικουμένων ὀσονούπω τῶν οἰκονομικῆς φύσεως δυσχερειῶν, ἡ γενίκευσις τῆς μεθόδου θὰ καταστῇ ἐφικτὴ πρὸς μέγα ὄφελος τῆς κτηνοτροφίας.

#### BIBLIOΓΡΑΦΙΑ

- 1) Asdell S. A. : Cattle Fertility and Sterility. 1955 Boston, Little, Brown and Company. Toronto.
- 2) Braffton R. W., Foote R. H. and Cruthers Joan C. : Jour. Dair. Scien. 1955. 38. p. 40.
- 3) Cragle R. G., Myers R. M., Waugh R. K., Hunter J. S. and Anderson R. L. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38. p. 508.

- 4) Dunn H. O., Hafs H. D., Bukner P. J., Young G. F., Conrad E. O., Willeff E. L. and Larson G. L. : Jour. Dair. Scien. 1954, 37. p. 1429.
- 5) Dunn H. O., Larson G. L. and Willeff E. L. : Jour. Dair. Scien. 1953. 36 p. 728.
- 6) Etgen W. M. and Ludwick T. M. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38 p. 604.
- 7) Foote R. H. and Bratton R. W. : Jour. Dair. Scien. 1952, 35 p. 261.
- 8) Hafs H. D. and Elliott F. I. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38 p. 811.
- 9) Joyner L. P. : Vet. Rec. 1954, 66, 47 : 727 et Jour. Dair. Scien. 1955, 38 No 2, p. A. 24.
- 10) Miller W. J. and Vandemark N. L. : Jour. Dair. Scien. 1954, 37 p. 45.
- 11) O'Dell W. T. and Almquist J. O. : Jour. Dair. Scien. 1954, 37 p. 652. P. 13.
- 12) O'Dell G. D. and Hurst V. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38 p. 623.
- 13) Poore M. E. and Brugman H. H. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38 p. 623 P. 92.
- 14) Polge C. and Lovelock : The Veter. Rec. 1952, 64. p. 396.
- 15) Polge C. and Parkers A. S. : Anim. Breed. Abstr. Mars 1952 (Elevage - In-sémination 1952, No 14).
- 16) Polge C. and Rowson L. E. A. : Nature, 1952, 169 : 626.
- 17) Saroff Jack and Mixner J. P. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38. p. 292.
- 18) Snyder J. W., Rutz W. D. and Marion G. B. : Jour. Dair. Scien. 1955, 38, p. 622.

## R É S U M É

Conservation de longue durée des spermatozoides du taureau  
à basse température (Deep - Freezing).

p a r

E. D i m i t r o p o u l o s

Centre de l'insémination artificielle de le Province de Namur.  
(Belgique)

Historique et bref aperçu des progrès récents sur le problème de conservation du sperme pendant de très longues périodes.

Technique de congélation du sperme du taureau d'après Polge et Rowson : le sperme est dilué à 5° C avec le tampon citrate-jaune d'oeuf et contenant suffisamment de glycérol pour avoir une concentration finale de 10 % dans le sperme.

Equilibration du sperme et du dilueur pendant 12 à 20 h, à 5° C avant le deep - freezing.

Répartition en ampoules à raison de 1 cm<sup>3</sup> de sperme ainsi dilué et équilibré.

Refroidir le sperme lentement avec CO<sub>2</sub> solide dans l'alcool à

raison de 0,5° C par minute de 5° C à —10° C et après, en raison de 4° C par minute de —10° C à —79° C.

Variantes dans la composition du dilueur et la technique de congélation d'après les auteurs.

Résultats obtenus :

Avantages d'utilisation du sperme congelé (stockage du sperme des taureaux destinés au Progeny Test, utilisation au maximum d'un taureau de grande valeur, échanges de semences entre Centres et pays, choix possible par les éleveurs de la semence des reproducteurs, approvisionnement régulier du Centre, en cas d'épizootie, avec de la semence stockée, etc...).

Quelques inconvénients d'ordre économique qui empêchent, à l'heure actuelle, l'utilisation de la semence congelée sur une échelle industrielle.

---

## ΕΠΙ ΤΗΣ ΧΡΗΣΕΩΣ ΤΟΥ ΥΠΕΡΜΑΓΓΑΝΙΚΟΥ ΚΑΛΙΟΥ ΕΝ ΤΗ ΘΕΡΑΠΕΥΤΙΚΗ ΤΗΣ ΚΕΤΩΣΕΩΣ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΟΦΟΡΩΝ ΑΓΕΛΑΔΩΝ

Υ π ό

I. ΚΑΡΔΑΣΗ

Εἰς τὴν δημοσιευθεῖσαν προσφάτως ἐν τῷ Δελτίῳ τῆς Ἑλληνικῆς Κτηνιατρικῆς Ἑταιρείας μελέτην ἡμῶν ἐπὶ τῆς θεραπευτικῆς τῆς Κετώσεως τῶν Γαλακτοφόρων Ἀγελάδων ἐκάμαμεν διάκρισιν μεταξὺ ἀντικετογόνου καὶ κετολυτικῆς θεραπείας.

Εἶναι, νομίζομεν, ἡ πρώτη φορά, καθ' ἣν, ἐν τῇ θεραπευτικῇ τῆς συνδρομῆς, ἐπιχειρεῖται μία τοιαύτη διάκρισις. Ἡ γλυκόζη, ἡ ὁποία καὶ σήμερον ἀκόμη ἀποτελεῖ τὴν βάσιν τῆς ἐναντίον τῆς συνδρομῆς θεραπευτικῆς ἀγωγῆς, εἶναι ὁ τύπος τῶν ἀντικετογόνων φαρμάκων. Διὰ ταύτης, χρησιμοποιουμένης παρεντερικῶς, ἀνυψοῦται ἡ στάθμη τῆς γλυκαιμίας καὶ παρεμποδίζεται ὁ σχηματισμὸς νέων κετονικῶν σωμάτων ἐν τῷ ὄργανισμῷ, ἐνῶ τὰ ὑπάρχοντα καταναλίσκονται φυσιολογικῶς πρὸς παραγωγὴν ἐνεργείας. Οὕτω δὲ ἡ γλυκόζη δύναται νὰ θεωρηθῇ ὡς ἔχουσα ἄμεσον ἀντικετογόνον ἐνέργειαν, ἐνῶ ἡ κετολυτικὴ ταύτης ἐνέργεια εἶναι ἔμμεσος καὶ συνέπεια τῆς ἀντικετογόνου τοιαύτης.

Ἄμεσον κετολυτικὴν ἐνέργειαν ἐξασκεῖ ὁ ἐν ὑπαίθρῳ περίπατος τῶν ζώων, ὅστις, διὰ τῆς αὐξήσεως τῶν ὀργανικῶν καύσεων, συνεπεία τοῦ