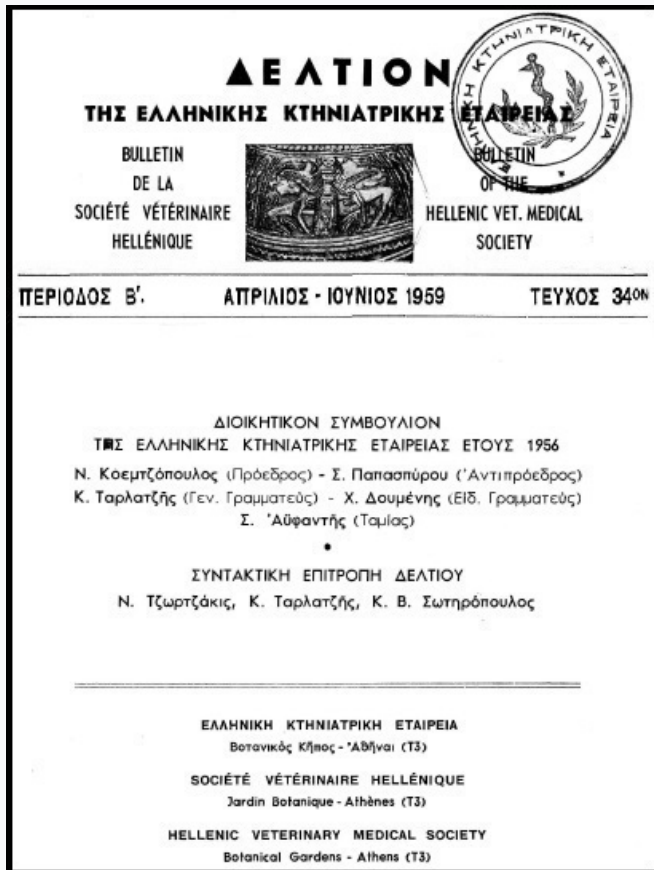


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 10, No 2 (1959)



### ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΔΙΑ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΟΣ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΒΛΑΧΟΣ

doi: [10.12681/jhvms.17780](https://doi.org/10.12681/jhvms.17780)

Copyright © 2018, ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΣ ΒΛΑΧΟΣ



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

#### To cite this article:

ΒΛΑΧΟΣ Κ. (1959). ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΔΙΑ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΟΣ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 10(2), 65–73. <https://doi.org/10.12681/jhvms.17780>

# ΣΥΝΤΗΡΗΣΙΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΔΙΑ ΔΙΟΞΕΙΔΙΟΥ ΤΟΥ ΑΝΘΡΑΚΟΣ

Ἰπὸ

ΚΩΝΣΤΑΝΤΙΝΟΥ ΒΛΑΧΟΥ

ΚΑΘΗΓΗΤΟΥ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Ἡ διατήρησις τῆς γονιμότητος τοῦ σπέρματος ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας καὶ ἡ δυνατότης ἀποστολῆς αὐτοῦ εἰς μακρινὰς ἀποστάσεις σήμερον ἐπιτυγχάνεται διὰ τῆς ὑποβολῆς αὐτοῦ εἰς ψύξιν. Μέχρι πρὸ ὀλίγων ἀκόμη ἐτῶν ὁ μόνος τρόπος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἦτο ἡ ψύξις αὐτοῦ εἰς τοὺς 2-5° C ἐντὸς κοινῶν ἠλεκτρικῶν ψυγείων καὶ ἐν συνεχείᾳ ἡ συσκευασία ἐντὸς περιεχόντων πάγον κυτίων ἀποστελλομένων εἰς τοὺς τόπους προορισμοῦ. Ἡ μέθοδος αὕτη ἡ ὁποία καὶ σήμερον ἀκόμη εἶναι ἡ πλέον ἐν χρήσει διὰ τὴν συντήρησιν τοῦ σπέρματος, παρὰ τὴν ἀπλότητα καὶ τὸ μικρὸν κόστος τῆς, ἐν τούτοις δὲν ἐπιτρέπει νὰ ὑπολογίζωμεν διάρκειαν ζωῆς μὲ καλὴν γονιμότητα πέραν τῶν 24-48 ὥρῶν. Ὅσον δὲ θερμότερον εἶναι τὸ κλίμα μιᾶς χώρας καὶ ὅσον αἱ συνθῆκαι συγκοινωνίας χειρότεραι τόσον ἀνεπαρκεστέρα ἀποδεικνύεται αὕτη.

Ἀπὸ τοῦ ἔτους 1953 ἤρχισε νὰ ἐφαρμόζηται ἡ κατάψυξις τοῦ σπέρματος, καθ' ἣν τὸ σπέρμα ὑποβάλλεται εἰς ψύξιν -79° C. Ἡ μέθοδος αὕτη σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς μεγάλην κλίμακα εἰς πολλὰ κέντρα σπερματεγγύσεως τῆς τε Εὐρώπης καὶ Ἀμερικῆς. Διὰ τῆς καταψύξεως ἐπιτυγχάνεται ἐπὶ ἔτη ἡ διατήρησις τῆς γονιμότητος τοῦ σπέρματος. Ἐν τῇ πράξει ἐπετεύχθη ποσοστὸν γονιμότητος 65% διὰ σπέρματος 2-3 ἐτῶν. Ὡς ψυκτικὰ μέσα χρησιμοποιοῦνται ὁ πάγος διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος, ὁ ὑγροποιημένος ἀῆρ καὶ τὸ ὑγροποιημένον ἄζωτον. Ὁ τρόπος οὗτος συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ τὴν χώραν μας ἔχει ἰδιαιτέραν σημασίαν, δεδομένου ὅτι μὲ τὴν διὰ κοινῆς πάγου ψύξιν, λόγῳ τοῦ θερμοῦ κλίματος καὶ τῶν πρωτογόνων συγκοινωνιακῶν συνθηκῶν, δὲν εἶναι δυνατόν νὰ ἐξυπηρετηθοῦν ἅπασαι αἱ κοινότητες καὶ δὴ αἱ ὄρειναι καὶ ἀπομεμακρυσμένα τοιαῦται.

Δυστυχῶς διὰ τὴν ἐφαρμογὴν τῆς μεθόδου ταύτης ἀπαιτοῦνται μεγάλαι ποσότητες ξηροῦ πάγου ἢ ὑγροποιημένων ἀερίων, διὰ τὴν παρασκευὴν τῶν ὁποίων εἶναι ἀπαραίτητοι μεγάλαι ἐγκαταστάσεις, ἡ δὲ παρασκευὴ των εἶναι πολυδάπανος. Οὕτω εἰς τὴν χώραν μας μέχρι τῆς ἐγκαταστάσεως τοιούτων ἐργοστασίων παρασκευῆς ξηροῦ πάγου ἢ ὑγρῶν ἀερίων δὲν δύναται νὰ ἐφαρμοσθῇ αὕτη εἰς εὐρείαν κλίμακα.

Ἀπ' ἐναντίας, ἡ ἀνεύρεσις τρόπου συντηρήσεως τῆς γονιμότητος τοῦ

σπέρματος ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου θὰ εἶχε μεγάλην σημασίαν καὶ θὰ ἀπετέλει σταθμὸν εἰς τὴν γενίκευσιν τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως εἰς ὅλας τὰς χώρας καὶ δὴ τὰς ἐχούσας θερμοὺν κλίμα καὶ συγκοινωνιακὰς συνθήκας πῆμμελεῖς.

Τὰ κυριώτερα ἐπιτεύγματα τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως, χάρις εἰς τὰ ὁποῖα σήμερον ἐφαρμόζεται εἰς πολλὰ κράτη εὐρὴ πρόγραμμα βελτιώσεως τῆς κτηνοτροφίας, ὡς γνωστόν, ὀφείλονται εἰς τὴν μελέτην καὶ ἀπομίμησιν τῶν εἰς τὰ γεννητικὰ ὄργανα τοῦ ἄρρενος συμβαινόντων φαινομένων. Οὕτω εἶχε παρατηρηθῆ ὑπὸ τῶν ἐρευνητῶν ὅτι μεταξὺ τῶν ἄλλων αἰτίων σοβαρὸς λόγος τῆς ληθαργικῆς καταστάσεως, εἰς ἣν εὐρίσκονται τὰ σπερματοζωάρια εἰς τὴν ἐπιδιδυμίδα, εἶναι καὶ ἡ μεγάλη πυκνότης  $\text{CO}_2$ , ἥτις ἐπικρατεῖ εἰς αὐτήν.

Αἱ πρῶται ἀπόπειραι μειώσεως τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν σπερματοζωαρίων καὶ διατηρήσεως τῆς γονιμότητος εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου διὰ διοχετεύσεως  $\text{CO}_2$ , ἐγένοντο εἰς τὸ Πανεπιστήμιον τοῦ Illinois. Διὰ τῶν πειραμάτων τούτων ἀπεδείχθη ὅτι εἶναι δυνατόν τὰ σπερματοζωάρια νὰ διατηρήσουν τὴν γονιμότητά των εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας, ἐπενοήθησαν δὲ πρὸς τοῦτο καὶ εἰδικὰ μέσα ἀραιώσεως ὡς καὶ τρόπος προπαρασκευῆς τοῦ σπέρματος, ὡς τοῦτο θέλει ἐκτεθεῖ κατωτέρω.

Ἡ μέθοδος αὕτη στηρίζεται εἰς τὴν διοχέτευσιν διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος εἰς τὸ σπέρμα, τὸ ὁποῖον ἀραιοῦται δι' εἰδικῶν ἀραιωτικῶν μέσων καὶ ἐν συνεχείᾳ κατανέμεται ἐντὸς ἐρμητικῶς κλειομένων υἰαλίνων φουσίγγων τοῦ 1. cc. Τὸ ἀραιωτικὸν μέσον συνίσταται ἀπὸ 20 γραμ. κητρικοῦ νατρίου (μὲ δύο μόρια ὕδατος), 2,1 γραμ. δισανθρακικοῦ νατρίου, 0,4 γραμ. χλωριούχου καλίου, 3 γραμ. γλυκόζης καὶ 3 γραμ. σουλφανιλαμίδην. Ἄπαντα τὰ ἀνωτέρω διαλύονται εἰς μίαν λίτραν ὕδατος, θερμοινομένου μέχρι σχεδὸν βρασμοῦ.

Τὸ διάλυμα ψύχεται εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου, διοχετεύεται ἐντὸς αὐτοῦ τὸ  $\text{CO}_2$  κατὰ φουσαλίδας ἐπὶ 10', μέχρις ὅτου τὸ pH κατέλθῃ εἰς τὸ 6,35. Μετὰ τὴν διοχέτευσιν τοῦ  $\text{CO}_2$  προστίθενται πενικιλίνη καὶ θεικὴ διϋδροστρεπτομυκίνη ὑπολογιζόμενα εἰς 1000 Δ. Μ. ἢ πρώτη καὶ εἰς 1000 mg. ἢ δευτέρα κατὰ κ. ἐκ. τοῦ ἀνωτέρω ἀραιωτικοῦ μέσου, εἰς ὃ ἔχει προστεθῆ καὶ 10% κρόκος ὠοῦ. Τὸ ἀραιωτικὸν τοῦτο μέσον ἐκλήθη ὑπὸ τῶν ἀνωτέρω ἐρευνητῶν Illini Variable Temperature (I.V.T.) ἀραιωτικὸν μέσον.

Ἡ μέθοδος αὕτη συντηρήσεως τοῦ σπέρματος ἠλέγχθη καὶ εἰς τὴν πρᾶξιν ἐν ἀντιπαραβολῇ πρὸς σπέρμα συντηρηθὲν διὰ τοῦ συνήθους τρόπου ψύξεως εἰς 2-4° C. Τὸ διὰ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος συντηρηθὲν σπέρμα ἐκρατήθη εἰς κιβώτια ἐκ πολυστερίνης εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 20-23° C. Κατεβλήθη προσπάθεια ὅπως ἀποφευχθοῦν αἱ ἀπότομοι μεταβολαὶ τῆς θερμο-

κρατίας καὶ δὴ ἡ ἀπότομος πτώσις αὐτῆς, εἰς ἣν τὸ διὰ  $\text{CO}_2$  ἐμπλουτισθὲν σπέρμα εἶναι ἔξαιρετικῶς εὐαίσθητον. Τὰ ἐπιτευχθέντα ἀποτελέσματα ἐμφαίνονται εἰς τὸν πίνακα I.

## Π Ι Ν Α Κ Ε Ι

Γονιμότης σπέρματος δύο ταύρων, ὧν τὸ σπέρμα διαιρεθὲν εἰς δύο ἴσα μέρη ἠραιοῦθη συγχρόνως καὶ ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας :

- 1) διὰ I. V. T. καὶ διετηρήθη εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου
- 2) διὰ Κιτρικοῦ-Κρόκου ὡοῦ καὶ διετηρήθη εἰς  $5^\circ \text{C}$ .

Ἡλικία σπέρματος	Ἄρραισις μὲ I. V. T. εἰς Θαν δωματίου		Ἄρραισις διὰ Κιτρικοῦ-Κρόκου εἰς Θαν $5^\circ \text{C}$	
	Ἀριθ. Ἀγελ.	Ποσοστὸν γονιμότητος ἐκ μὴ ἐπιστροφῶν μετὰ 60-90 ἡμέρας %	Ἀριθ. Ἀγελ.	Ποσοστὸν γονιμότητος ἐκ μὴ ἐπιστροφῶν μετὰ 60-90 ἡμέρας %
1-2 ἡμερ.	21	81	419	72
2-3 »	22	72.7	43	41.9
3-4 »	23	78.3	15	40
4-5 »	20	70.0	2	0
5-6 »	20	70.0	6	—
6-7 »	5	100.0	—	—
Σύνολον	111	75.7	535	66.9

Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ ἀνωτέρω πίνακος, τὸ ποσοστὸν γονιμότητος τοῦ διὰ I. V. T. ἀρραιωθέντος καὶ διὰ διοξειδίου τοῦ ἄνθρακος ἐμπλουτισθέντος σπέρματος κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς ἐπὶ 7ῆμερον διατηρήσεώς του εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου μόνον μικρὰν μείωσιν τῆς γονιμότητος του παρουσίασεν (9 %), ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν  $+5^\circ \text{C}$  διατηρηθὲν, τὸ ὁποῖον ἀπὸ τῆς 3ης ἡμέρας παρουσίασε ραγδαίαν πτώσιν (κατὰ 30 %), ἵνα καταστῆ ἔξ ὀλοκλήρου ἄγονον τὴν 5ην ἡμέραν. Ἐκ τῶν ἀνωτέρω πειραμάτων ἀπεδείχθη ὅτι διὰ τοῦ τρόπου τούτου τὸ σπέρμα εἶναι δυνατὸν νὰ διατηρήσῃ τὴν γονιμότητά του εἰς καλὴν κατάστασιν ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας. Διὰ τῶν ἰδίων πειραμάτων ἀπεδείχθη ὅτι δέον νὰ εἴμεθα λίαν προσεκτικοὶ εἰς τὴν διατήρησιν σταθερᾶς θερμοκρασίας. Αἱ ἀπότομοι αὐξομειώσεις τῆς θερμοκρασίας τοῦ περιβάλλοντος εἶναι δυνατὸν νὰ προκαλέσουν ἀνεπανορθώτους ζημίας εἰς τὸ σπέρμα. Ἡ ἀνασταλτικὴ ἐνέργεια τοῦ  $\text{CO}_2$  ἐπὶ τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν σπερματοζωαρίων. Ἐφ' ἧς στηρίζεται ἡ μέθοδος αὕτη συντηρήσεως τοῦ σπέρματος, εἶναι δυνατὸν νὰ ἐνισχυθῇ ἔτι περισσότερον διὰ τῆς προσθήκης σουλφαναμιδης.

Ἡ Σουλφαναμιδὴ ἐν ἀρχῇ εἶχε προστεθῆ εἰς τὰ ἀρραιωτικά μέσα μό-

νον διὰ τὴν βακτηριοστατικὴν αὐτῆς ἐνέργειαν, τοὔτέστιν πρὸς ἀναχαίτησιν πολλαπλασιασμοῦ τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος τοῦ σπέρματος, ἐκ τῆς ὁποίας εἶναι ἀδύνατον, ὡς γνωστόν, ν' ἀπαλλαγῶμεν παρ' ὅλας τὰς προφυλάξεις μας. Κατόπιν ἀπεδείχθη ὅτι ἡ εὐεργετικὴ ἐπίδρασις τῆς σουλφανιλαμίδης ἐπὶ τῆς μακροβιότητος τοῦ σπερματοζωαρίου ὠφείλετο κυρίως εἰς τὴν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν, τὴν ὁποίαν ἔχει αὕτη ἐπὶ τῆς ἀναπνοῆς τοῦ σπερματοζωαρίου, τοὔτέστιν τῆς ἀεροβίου διασπάσεως τῶν ὕδατανθράκων καὶ δὴ ἐκείνων τοῦ ἰδίου αὐτοῦ πρωτοπλάσματος. Οὕτω σήμερον ἡ σουλφανιλαμίδη ἀποτελεῖ ἀπαραίτητον συστατικὸν τῶν περισσοτέρων ἀραιοτικῶν μέσων εἰς τὴν ἐφαρμογὴν τῆς τεχνητῆς σπερματεγγύσεως. Τελευταίως ὅμως ἀπεδείχθη ὅτι ἡ ἀνασταλτικὴ αὐτῆς ἐνέργεια δὲν περιορίζεται μόνον εἰς τὴν ἀερόβιον γλυκόλυσιν, ἥτις ἄλλωστε κατὰ τὴν συσκευασίαν τοῦ σπέρματος δι' ἀποκλεισμοῦ Ο μειοῦται εἰς τὸ ἐλάχιστον, ἀλλ' ἐπεκτείνεται καὶ εἰς τὴν ἀναερόβιον καὶ δὴ εἰς τόσον ἐντονώτερον βαθμὸν, ὅσον ἡ πυκνότης τοῦ CO<sub>2</sub> εἰς τὸ σπέρμα εἶναι μεγαλύτερα.

Ἐχει ἀποδειχθῆ ὅτι ἡ σουλφανιλαμίδη συντιθεμένη μετὰ τοῦ Ρ-ἀμινοβενζοϊκοῦ ὀξέος ἀναστέλλει τὴν δρασίν τούτου (Competitive Inhibitor), παρακωλύουσα τὴν ἐνέργειαν τῆς φωσφατάσης καὶ τῆς ζωϊκῆς φύσεως καρβοανυδράσης. Ἡ ὑπαρξίς ἰόντων Ζη, ἀποτελούντων σταθερὸν συστατικὸν τῆς καρβοανυδράσης καὶ φωσφατάσης, ἔχει διαπιστωθῆ εἰς τὸ βόειον σπέρμα. Ἐτέρα οὐσία, ἥτις ἐνισχύει τὴν ἀνασταλτικὴν ἐνέργειαν τοῦ CO<sub>2</sub> εἰς τὸν μεταβολισμόν τῶν ὕδατανθράκων τοῦ σπερματοζωαρίου, εἶναι τὸ Diamox (2-Acetyloamino - 1, 3, 4 - Thiotiasole-Sulfonamide). Τοῦτο θεωρεῖται ὡς εἰδικὴ ἀνασταλτικὴ οὐσία διὰ τὴν καρβοανυδράσιν (Specific Inhibitor). Αὕτη ἀναστέλλει τὴν γλυκόλυσιν εἰς χαμηλοτέρας πυκνότητος CO<sub>2</sub> παρὰ ἡ σουλφανιλαμίδη.

Σπέρμα διατηρηθὲν διὰ τοῦ τρόπου τούτου παρουσιάζει ἐλάχιστην κινητικότητα. Κατὰ τὴν ἐκτίμησίν του, ὅθεν, μετὰ τὴν διάνοιξιν τῆς φύσιγγος, δέον ὅπως περιμένωμεν ἐπὶ τινα λεπτὰ μέχρις ὅτου ἀπομακρυνθῆ τὸ μεγαλύτερον μέρος τοῦ CO<sub>2</sub> καὶ κατόπιν ὑποβάλλωμεν τοῦτο εἰς μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν.

## II. Συνδυασμὸς CO<sub>2</sub> μὲ ψύξιν.

Συμφώνως πρὸς νεωτέρας παρατηρήσεις, τὰ ὑπὸ τῶν ἐρευνητῶν τοῦ Πανεπιστημίου τοῦ Illinois (Van Demark, Sulsbury, Sharma) προστιθέμενα ἀντιβιοτικά δὲν εἶναι ἱκανὰ νὰ ἀναστείλουν τελείως τὴν ἀνάπτυξιν τῶν μικροοργανισμῶν εἰς σπέρμα διατηρούμενον μὲ CO<sub>2</sub> εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου. Τὰ προϊόντα τοῦ μεταβολισμοῦ τῶν μικροοργανισμῶν προκαλοῦν πολλάκις τὸν θάνατον τοῦ σπερματοζωαρίου παρὰ τὴν προσθήκην ἀντιβιοτικῶν. Διὰ τὸν λόγον τοῦτον ὁ Van Demark τὸ 1958 συνέστησε τὴν

χρησιμοποίησιν τῆς μεθόδου ταύτης με σύγχρονον ὑποβολὴν τοῦ σπέρματος εἰς ψῦξιν (2°-5° C) ἀντὶ δὲ τοῦ I.V.T. ἀραιωτικοῦ συνιστᾷ τὴν χρησιμοποίησιν τοῦ κάτωθι μίγματος :

Δισαπεσταγμένον ὕδωρ	100 γρ.
NaHCO <sub>3</sub>	0,83 γρ.
Κιτρικὸν Νάτριον	0,09 γρ.
Καταλάση	0,01 γρ.
KCL	0,04 γρ.
Γλυκόζη	1,20 γρ.
Σουλφαναμιδίη	0,30 γρ.

Εἰς τὸ διάλυμα τοῦτο διοχετεύεται CO<sub>2</sub> καὶ προστίθεται κρόκος ὄου εἰς ἀναλογίαν 15%. Κατόπιν προστίθενται 1000 μονάδες πενικιλίνης κρυσταλλικῆς καὶ 1000 μγ Διϋδροοστρεπτομυκίνης κατὰ κ. ἐκ. Ἡ ἀραίωσις τοῦ σπέρματος καὶ ἡ πλήρωσις τῶν φυσίγγων δι' αὐτοῦ ἐνεργεῖται εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου· μετὰ τὴν ἐργασίαν ταύτην τὸ σπέρμα ὑποβάλλεται εἰς βαθμιαίαν ψῦξιν μέχρι τῶν 2°-5° C. Διὰ τοῦ τρόπου τούτου διατηρεῖται ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας ἡ ζωτικότης τοῦ σπέρματος, ἡ ὁποία τὴν πρώτην ἡμέραν εἶναι 71%, τὴν τρίτην 65%, τὴν 10ην 68%, τὴν 14ην 63% καὶ τὴν 60ην ἡμέραν 40%.

Οἱ ἐρευνηταὶ οὗτοι καταλήγουν εἰς τὰ κάτωθι συμπεράσματα ὅσον ἀφορᾷ εἰς τὴν ἐφαρμογὴν τῆς τροποποιημένης ταύτης μεθόδου συντηρήσεως τοῦ σπέρματος με CO<sub>2</sub> :

1. Τὸ σπέρμα τοῦ ταύρου εἶναι δυνατόν νὰ περιέλθῃ εἰς ληθαργικὴν κατάστασιν καὶ νὰ ἀναβιώσῃ πλήρως, ἐὰν ἀραιωθῇ με ἑλαφρῶς ἀλκαλικὸν ἀραιωτικὸν μέσον ἐμπλουτισμένον εἰς CO<sub>2</sub>. Ὁ βαθμὸς τῆς ληθαργικῆς καταστάσεως, εἰς ἣν περιπίπτουν τὰ σπερματοζωάρια, ἐξαρτᾶται ἀπὸ τὴν ποσότητα τοῦ διοχετευομένου CO<sub>2</sub>. Αἱ μεγάλαι δόσεις CO<sub>2</sub> ἐνδέχεται νὰ προκαλέσουν τὸν θάνατον αὐτῶν. Ἡ ζωτικότης καὶ ἡ κινητικότης τῶν ἀναβιούντων σπερματοζωαρίων εἶναι ἀνάλογος πρὸς τὸν βαθμὸν τῆς ἐπιτευχθείσης ληθαργικῆς καταστάσεως. Πυκνότης CO<sub>2</sub> ἀντιπροσωπεύουσα κορεσμόν τοῦ ἀραιωτικοῦ μέσου ὑπὸ θερμοκρασίαν 30°-35° C εἶναι ἀρκετὴ διὰ τὴν ἐπὶ μίαν ἐβδομάδα συντήρησιν τοῦ σπέρματος με πλήρη ἀναβιωτικὴν ἰκανότητα.

2. Ἡ διοχέτευσις τοῦ ἀπαιτουμένου CO<sub>2</sub> εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον καὶ ἡ ἀνάμιξις τοῦ σπέρματος εἶναι δυνατόν νὰ γίνων ἀβλαβῶς διὰ τὸ σπέρμα εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου.

3. Ἡ ληθαργικὴ κατάστασις καὶ ἀναβίωσις τῶν σπερματοζωαρίων σπέρματος διατηρουμένου εἰς ψῦξιν γίνεται κατὰ ἐντελῶς ὁμαλὸν τρόπον, ἐφ' ὅσον διοχετεύεται τὸ CO<sub>2</sub> εἰς τὴν ἐνδεδειγμένην πυκνότητα.

4. Τὰ ἀντιβιοτικά οὐδεμίαν δυσμενῆ ἐπίδρασιν ἔχουν ἐπὶ τῶν σπερμα-

τοξωαρίων, ἐφ' ὅσον ταῦτα προστίθενται εἰς πυκνότητα ἐπαρκοῦσαν, ὥστε νὰ παρεμποδίζηται ὁ πολλαπλασιασμός τῶν μικροοργανισμῶν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ ψυγείου. Ἡ ὑπεροχὴ τῆς τροποποιημένης αὐτῆς μεθόδου συντηρήσεως τοῦ σπέρματος μὲ  $\text{CO}_2$  καὶ ψύξιν εἶναι ἀναμφισβήτητος.

5. Τὸ διὰ τοῦ τρόπου τούτου συντηρούμενον σπέρμα μέχρι τῆς τετάρτης μὲν ἡμέρας ἔχει ποσοστὸν γονιμότητος ἀσυγκρίτως ὑψηλότερον, ἀπὸ δὲ τῆς 5ης μέχρι καὶ τῆς 7ης ἔχει τὸ αὐτὸ ποσοστὸν γονιμότητος μὲ σπέρμα 3 ἡμερῶν συντηρηθὲν μὲ τοὺς μέχρι τοῦδε γνωστοὺς τρόπους.

6. Διὰ τῆς μεθόδου ταύτης εἵμεθα εἰς θέσιν νὰ μειώσωμεν τὸν ἀριθμὸν τῶν σπερματοληψιῶν καὶ δὴ προκειμένου περὶ ταύρων παραγόντων σπέρμα μικρᾶς μακροβιότητος. Ἐξ ἄλλου οἱ σπερματεγγῆται δύνανται νὰ ἐξοικονομοῦν σπέρμα τοῦ αὐτοῦ ταύρου ἐπὶ 2-7 ἡμέρας, κατορθώνοντες οὕτω, πρὸς αὔξησιν τοῦ ποσοστοῦ γονιμότητος, νὰ ἐκτελοῦν τὰς ἐπαναληπτικὰς τῶν σπερματεγγύσεις κατὰ τὴν διάρκειαν τοῦ αὐτοῦ ὄργανοῦ, χωρὶς νὰ εἶναι ὑποχρεωμένοι νὰ ἐκτελοῦν ταύτας μὲ σπέρμα ἄλλων ταύρων.

7. Εἰς πλείστας περιπτώσεις χρησιμοποιοῦντες τὴν μέθοδον ταύτην δὲν εἵμεθα ὑποχρεωμένοι νὰ προσφεύγωμεν εἰς τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος, ἦτις καὶ μεγάλας δαπάνας ἀλλὰ καὶ χαμηλότερον ποσοστὸν γονιμότητος προϋποθέτει.

### III. Τεχνικὴ συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος

Ἡ ἐπὶ περισσοτέρας ἡμέρας συντήρησις τοῦ σπέρματος εἰς τὴν θερμοκρασίαν τοῦ δωματίου διὰ διοχετεύσεως διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος χωρὶς ψύξιν, ὡς ἀνεφέρθη καὶ ἀνωτέρω, δὲν κατωρθοῦται εἰς τὴν πρᾶξιν, λόγῳ πολλαπλασιασμοῦ τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος. Διὰ τῆς προσθήκης ὁμως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον δισανθρακικοῦ νατρίου, καταλάσης καὶ κρόκου ὠοῦ, ἐλαττώσεως τῶν κιτριῶν ἀλάτων καὶ ὑποβολῆς τῶν φυσίγγων εἰς ψύξιν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν  $4^{\circ}\text{C}$ , κατωρθώθη ἡ συντήρησις αὐτοῦ εἰς ἀρίστην κατάστασιν ἐπὶ 40 ἡμέρας. Τὸ σπέρμα τῶν περισσοτέρων ταύρων διὰ τοῦ τρόπου τούτου διατηρεῖ τὴν γονιμότητά του εἰς καλὴν κατάστασιν ἐπὶ 6-7 ἡμέρας. Παρ' ὅλον ὅτι δὲ ἡ μέθοδος αὕτη δὲν ἔχει τελειοποιηθῆ ἀκόμη εἰς ὅλας τῆς τὰς λεπτομερείας, ἐν τούτοις ἀποτελεῖ οἰκονομικὸν καὶ πολλὰ ὑποσχόμενον διὰ τὸ μέλλον τρόπον συντηρήσεως τοῦ σπέρματος.

Σημεῖα εἰς τὰ ὁποῖα δεόν ὅπως γίνουιν περαιτέρω ἔρουναι πρὸς τελειοποίησιν τῆς μεθόδου ταύτης, εἶναι: 1) ἡ ἀνεύρεσις ἔτι καταλληλοτέρων διὰ τὰ σπερματοζῶαρια ρυθμιστῶν, 2) ἡ βελτίωσις τῶν ἀραιωτικῶν μέσων καὶ τοῦ τρόπου πληρώσεως τῶν φυσίγγων, 3) ἡ βελτίωσις τοῦ τρόπου συντηρήσεως τῶν πεπληρωμένων φυσίγγων καὶ ἡ ἐξασφάλισις ἐντὸς αὐτῶν ὁμοιομόρφου πυκνότητος  $\text{CO}_2$  κατὰ τὴν διάρκειαν τῆς εἰς τὸ ψυγεῖον συντηρή-

σεῶς των. Ἡ τεχνικὴ συντηρήσεως τοῦ σπέρματος διὰ τῆς μεθόδου ταύτης εὐρίσκεται εἰσέτι ἐν ἐξελίξει.

### 1. Ἐπιλογή σπέρματος.

Πάν σπέρμα κρινόμενον κατάλληλον πρὸς χρησιμοποίησιν μὲ τὸν συνήθη τρόπον ἀραιώσεως καὶ συντηρήσεως εἶναι δυνατὸν νὰ συντηρηθῆ, καὶ διὰ τῆς μεθόδου ταύτης.

### 2. Παρασκευὴ ἀραιωτικοῦ ὑγροῦ.

Τὰ ἀραιωτικά μέσα καλὸ εἶναι νὰ ἀγοράζωνται ἔτοιμα ἀπὸ τὰς φαρμακευτικὰς βιομηχανίας, καθ' ὅσον ἡ παρασκευὴ των καὶ δὴ ἀσπτικῶς εἰς τὸ ἐργαστήριον ὄχι μόνον χρόνον πολὺν ἀπαιτεῖ ἀλλὰ εἶναι καὶ δύσκολος. Εἰς τὸ ὑπὸ ψῦξιν σπέρμα δέον τὸ ἀραιωτικὸν μέσον νὰ ἐμπλουτίζεται μὲ πολὺν περισσότερον  $\text{CO}_2$ , εἰς τρόπον ὥστε τὸ pH νὰ κατέρχεται χαμηλότερα ἀπὸ τὸ εἰς συνήθη θερμοκρασίαν συντηρούμενον. Διὰ τὴν μείωσιν τῆς κινητικότητος καὶ προστασίαν τοῦ σπερματοζωαρίου καὶ δὴ κατὰ τὴν ἀραίωσιν καὶ διοχέτευσιν τοῦ  $\text{CO}_2$ , δέον ὅπως προσθέτωμεν κολλοειδῆ. Πρὸς τὸν σκοπὸν τοῦτον πρὸ τῆς ἀραιώσεως δέον νὰ προστίθενται 30 μέρη κρόκου ὠοῦ εἰς 70 μέρη ἀραιωτικοῦ διαλύματος. Ἡ ἀνάμιξις δέον νὰ ἐνεργῆται τὸ πολὺ εἰς  $18^\circ \text{C}$ ., ἡ δὲ προσθήκη τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος ὀλίγον πρὸ τῆς ἀραιώσεως.

### 3. Διοχέτευσις $\text{CO}_2$ καὶ ἀραίωσις.

Τὸ διάλυμα ἀναμιγνύεται καλῶς μὲ τὸν κρόκον ὠοῦ ἐντὸς εἰδικῆς φιάλης ἐπικοινωνούσης μὲ ἑτέραν τοιαύτην διὰ σωλῆνος ἐφωδιασμένον μὲ διακόπτην. Ἀκολουθῶς εἰσάγεται βραδέως εἰς τὸ ἀραιωτικὸν μέσον ἀπεστερωμένον  $\text{CO}_2$ , μέχρις ὅτου τὸ pH τοῦ εἰς τὴν δευτέραν φιάλην συγκεντρομένου ἀραιωτικοῦ μέσου κατέλθῃ εἰς τὸ 6.20—6.35. Ἐν συνεχείᾳ εἰσάγεται ἡ ἀπαιτουμένη ποσότης ἀντιβιοτικῶν. Πρὸς ἀποφυγὴν θερμοκῆς καταπληξίας, μετὰ τὴν λήψιν τοῦ πρὸς ἐκτίμησιν τοῦ σπέρματος ἀπαιτουμένου δείγματος, ἀραιοῦται τὸ σπέρμα εἰς ἀναλογίαν 1 : 1 μὲ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν περιέχον 10 % κρόκον ὠοῦ καὶ κιτρικόν. Κατόπιν ψύχεται εἰς τοὺς  $+20^\circ \text{C}$ . Κατὰ τὴν τελικὴν ἀραίωσιν, πρὸς ἀποφυγὴν ἀπωλείας  $\text{CO}_2$ , τὸ σπέρμα διὰ προχοῦδος εἰσάγεται εἰς τὸν πυθμένα τῆς περιεχοῦσης τὸ ἀραιωτικὸν ὑγρὸν φιάλης, ἐνῶ συγχρόνως διὰ προσεκτικῶν κινήσεων τῆς προχοῦδος ἐπιτυγχάνομεν τὴν ἀνάμιξιν αὐτοῦ. Ἡ φιάλη πρέπει νὰ κρατῆται ἐρμητικῶς κλειστὴ καὶ νὰ περιέχῃ εἰ δυνατόν ὀλιγώτερον ἀέρα.

### 4. Πλήρωσις φυσίγγων.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἀραίωσιν τὸ σπέρμα διανέμεται ἀνὰ 1 κ. ἐκ. εἰς ἑκάστην φύσιγγα χωρητικότητος 1,3 κ.ἐκ. Ἡ ἐργασία αὕτη γίνεται εἰς ᾧρον θερμοκρασίας  $20^\circ \text{C}$ . Ἡ σχέσις τοῦ ὄγκου τοῦ σπέρματος πρὸς τὴν χωρητι-



κότητα τῆς φύσιγγος δέον νὰ εἶναι 4 : 5. Κατὰ τὴν πλήρωσιν δέον νὰ εἴμεθα πάντοτε προσεκτικοί, ὥστε νὰ μὴν δημιουργηταί οὔτε ὑπερβολικὴ ἀλλ' οὔτε καὶ χαμηλὴ πίεσις εἰς τὰς φύσιγγας, καὶ νὰ μὴ σχηματίζωνται φουσαλίδες. Ἡ πλήρωσις ἐπιβάλλεται ὅπως ἐνεργῆται δι' εἰδικῆς συσκευῆς.

### 5. Σφράγις τῶν φύσιγγων.

Ἡ σφράγις δέον νὰ γίνηται ἀμέσως μετὰ τὴν ἀραιώσιν ἢ τὸ πολὺ ἐντὸς ἡμισεῖας ὥρας καὶ νὰ ἀποφεύγηται κατ' αὐτὴν ὁ ἐξ ἐλαστικοῦ ἢ φελοῦ πωματισμός, νὰ προτιμῶνται δὲ ὑάλινοι φύσιγγες, αἱ σφραγιζόμεναι διὰ τήξεως. Ἐπειδὴ ὅμως ὑπάρχει φόβος νὰ δημιουργηθοῦν φουσαλίδες λόγῳ θερμάνσεως τοῦ περιεχομένου τῶν φύσιγγων κατὰ τὴν τήξιν, εἶναι ἀνάγκη ἀφ' ἑνὸς μὲν αὕτη νὰ ἐνεργῆται ταχύτατα, ἀφ' ἑτέρου δὲ αἱ φύσιγγες νὰ ψύχωνται προηγουμένως διὰ τῆς τοποθετήσεώς των ἐντὸς ὕδατος θερμοκρασίας  $+10^{\circ}$  C ἢ διὰ τῆς διοχετεύσεως ψυχροῦ ἀέρος. Κατόπιν ἐλέγχονται μετὰ προσοχῆς κατὰ πόσον ἡ σφράγις εἶναι τελεία.

### 6. Ἀποστολὴ σπέρματος.

Αἱ διὰ σπέρματος πληρωθεῖσαι φύσιγγες χρησιμοποιοῦνται περαιτέρω πρὸς σπερματέγχυσιν ὅπως καὶ αἱ εἰς ἀπλὴν ψύξιν ὑποβληθεῖσαι. Διὰ τῆς διοχετεύσεως εἰς τὸ σπέρμα  $\text{CO}_2$  καὶ ἀποστερήσεως αὐτοῦ ἐκ τοῦ O ἐπιτυγχάνεται πλήρης ἀκίνησις εἰς τὰ σπερματοζωάρια. Ταῦτα ὅμως ἀπεδείχθη ὅτι καθίστανται πολὺ περισσότερον εὐαίσθητα εἰς τὰς μεταβολὰς τῆς θερμοκρασίας. Ἡ ὑποβολὴ αὐτῶν εἰς ψύξιν, ὡς ἐλέγχθη καὶ ἀνωτέρω, ἔχει σκοπὸν τὴν ἀναστολὴν ἀναπτύξεως τῆς μικροβιακῆς χλωρίδος καὶ τὴν κατὰ τὸ δυνατὸν προφύλαξιν ἀπὸ τὰς μεταβολὰς τῆς θερμοκρασίας.

### 7. Ἐξέτασις τοῦ σπέρματος.

Τὰ ἐν ἀκίνησίᾳ σπερματοζωάρια τοῦ οὕτω συντηρουμένου σπέρματος συσσωρεύονται εἰς τὸ κατώτερον σημεῖον τῆς φύσιγγος. Πρὸ τῆς ἐξετάσεως τῆς ζωτικότητος αὐτῶν εἶναι ἀνάγκη ὅπως ἡ φύσιγγα ἀναταραχθῆ καλῶς. Ἐπίσης πρὸ τοῦ ἀνοίγματος τῆς φύσιγγος δέον ὅπως αὕτη θερμοανθῆ ἐπαρκῶς, ἵνα ἐξουδετερωθῆ ἕξ ὀλοκλήρου ἢ ἐπίδρασις τοῦ διοξειδίου τοῦ ἀνθρακος. Ἄνευ τῆς προετοιμασίας ταύτης ἡ κινητικότης τῶν σπερματοζωαρίων εἶναι πολὺ χαμηλὴ. Μετὰ τὴν τελείαν διαφυγὴν τοῦ  $\text{CO}_2$ , τὰ σπερματοζωάρια ἀποκτοῦν ζωηρὰν κινητικότητα, πολὺ καλυτέραν ἐκείνης τοῦ δι' ἀπλῆς ψύξεως ἄνευ  $\text{CO}_2$  διατηρηθέντος σπέρματος. Τὸ πλεονέκτημα τοῦτο, ὡς ἀνεφέρθη καὶ ἀνωτέρω, διατηροῦν ἐπὶ πολλὰς ἡμέρας.

### 8. Ἐξασφάλισις τῆς ἐνδεδειγμένης θερμοκρασίας κατὰ τὴν παρασκευὴν τοῦ σπέρματος.

Ἐφ' ὅσον ἡ παρασκευὴ τοῦ σπέρματος (διοχέτευσις  $\text{CO}_2$ , ἀνάμιξις, ἀραιώσις κ.λ.π.) γίνεται εἰς περιβάλλον θερμότερον τῶν  $20^{\circ}$  C, ὁ σχηματι-

σμός φυσαλίδων και άφρου είναι αναπόφευκτος. Προς άποφυγήν αυτού και έκλύσεως CO<sub>2</sub>, κατά τους θερμοὺς κυρίως μῆνας, εἶναι άπαραίτητον ὅπως ἡ παρασκευὴ τοῦ σπέρματος γίνηται εἰς χῶρον τοῦ ἐργαστηρίου διαθέτονα ἐξοπλισμὸν κλιματισμοῦ. Ἐλλὰ καὶ αἱ χαμηλαὶ θερμοκρασίαι εἶναι δυνατόν κατά τὴ παρασκευὴν τοῦ σπέρματος νὰ ἐπιδράσουν δυσμενῶς, λόγω τῆς θερμικῆς καταπληξίας τὴν ὁποίαν εἶναι εἰς θέσιν νὰ προκαλέσουν.

### 9. Συντήρησης καὶ χρησιμοποίησις τοῦ δια CO<sub>2</sub> διατηρηθέντος σπέρματος.

Εὐθὺς μετὰ τὴν ἐξεργασίαν τῶν φυσίγγων, αὐταὶ τοποθετοῦνται εἰς τὸ ψυγεῖον, εἰς θερμοκρασίαν 4° C. Τὸ δια CO<sub>2</sub> διατηρούμενον σπέρμα ἵνα διατηρήσῃ τὴν μακροβιότητά του, δέον ὅπως 2-3 φορὰς τὴν ἡμέραν ἀναταράσσεται, ἵνα μὴ καθιζάνουν εἰς τὸν πυθμένα τὰ σπερματοζῶαρια. Αἱ φύσιγγες δέον νὰ ἀποσφραγίζωνται μόνον ὀλίγον πρὸ τῆς χρησιμοποίησεώς των, καθ' ὅσον διὰ τῆς διαφυγῆς τοῦ CO<sub>2</sub> καὶ τῆς ἀποτόμου ἀνυψώσεως τοῦ pH τὰ σπερματοζῶαρια ἀποτόμως ἀποκτοῦν μεγάλην κινητικότητα καὶ γάνουν εἰς βραχύτερον χρονικὸν διάστημα τὴν γονιμότητά των.

## R É S U M É

### CONSERVATION DU SPERME DE TAUREAU PAR LE CO<sub>2</sub>

Par

CONSTANTIN VLACHOS

Professeur de la Faculté Vétérinaire de l'Université de Thessaloniki

L'auteur dans la présente étude examine la possibilité de conservation du sperme de taureau par le CO<sub>2</sub> combinée à la réfrigération.