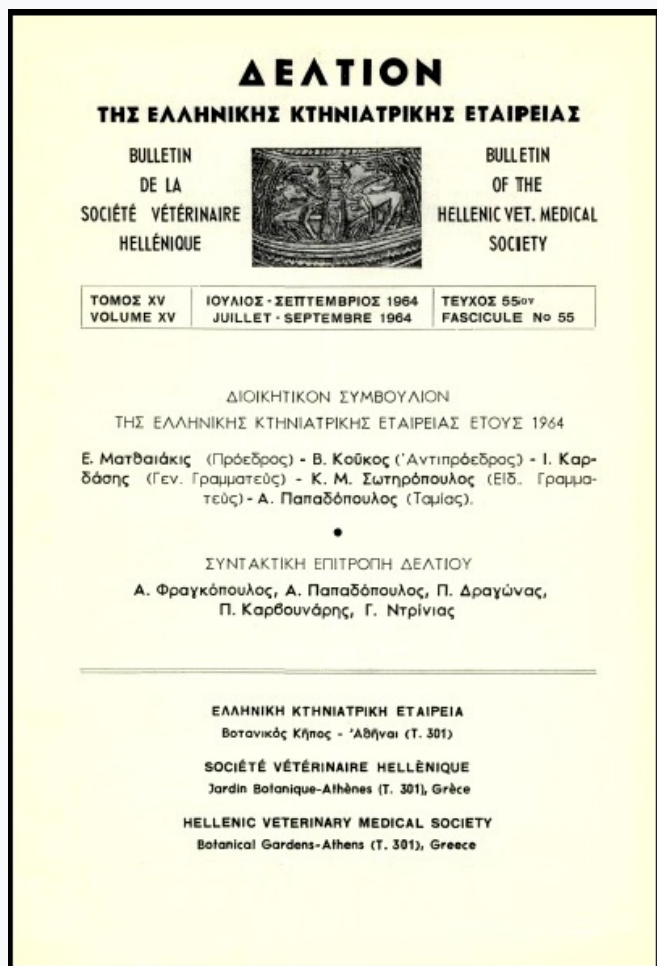


## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 15, No 1 (1964)



### ΕΡΕΥΝΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΒΑΘΕΙΑΣ ΚΑΤΑΨΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΙΠΠΟΥ ΚΑΙ ΟΝΟΥ

C. POLGE, Κ. ΜΙΝΩΤΑΚΗΣ

doi: [10.12681/jhvms.18700](https://doi.org/10.12681/jhvms.18700)

Copyright © 2018, C. POLGE Κ. ΜΙΝΩΤΑΚΗΣ



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

### To cite this article:

POLGE, C., & ΜΙΝΩΤΑΚΗΣ Κ. (1964). ΕΡΕΥΝΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΒΑΘΕΙΑΣ ΚΑΤΑΨΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΙΠΠΟΥ ΚΑΙ ΟΝΟΥ. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 15(1), 191-199. <https://doi.org/10.12681/jhvms.18700>

# ΕΡΕΥΝΑ ΕΠΙ ΤΗΣ ΒΑΘΕΙΑΣ ΚΑΤΑΨΥΞΕΩΣ ΤΟΥ ΣΠΕΡΜΑΤΟΣ ΙΠΠΟΥ ΚΑΙ ΟΝΟΥ\*

Υ π ό

C. POLGE καὶ Κ. ΜΙΝΩΤΑΚΗ

Συμβούλιον Γεωργικῆς Ἑρεῦνης, Ἑργαστήριον Φυσιολογίας καὶ Βιοχημείας  
τῆς Ἀναπαραγωγῆς. Πανεπιστήμιον Cambridge

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ἡ ἐπιτυχὴς ἐφαρμογὴ καὶ ἐκτεταμένη χρησιμοποίησις τοῦ κατεψυγμένου σπέρματος εἰς τὴν ἀναπαραγωγὴν τῶν βοοειδῶν εὐρίσκεται ἐν ἐντυπωσιακῇ ἀντιθέσει πρὸς τὴν καταφανῆ ἔλλειψιν προόδου εἰς τὴν ἀνάπτυξιν καταλλήλων μεθόδων καταψύξεως τοῦ σπέρματος τῶν ἄλλων ἀγροτικῶν ζώων.

Πολυάριθμα πειράματα διὰ κατεψυγμένου σπέρματος κάπρου ἀπέληξαν εἰς πολὺ μικρὸν ἀριθμὸν συλλήψεων, εἰς δὲ τὰ πρόβατα ἡ γονιμότης τοῦ σπέρματος τοῦ κριοῦ ἐλαττοῦται εἰς μεγάλον βαθμὸν διὰ τῆς καταψύξεως.

Παρὰ τὸ γεγονὸς ὅτι εἷς τινὰς χώρας δὲν ἐφαρμόζεται ἡ τεχνητὴ γονιμοποίησις εἰς τὴν ἀναπαραγωγὴν τῶν ἵπποειδῶν, εἰς ἄλλας αὐτὴ ἀναπτύσσεται καὶ καταλαμβάνει σημαντικὴν θέσιν. Εἰς τὴν Ἑλλάδα ἐπὶ παραδείγματι ἀρκεταὶ χιλιάδες φορβάδων καὶ ὄνοφορβάδων γονιμοποιοῦνται ἐτησίως τεχνητῶς πρὸς ἵπποπαραγωγὴν καὶ ἡμιονοπαραγωγὴν, πλὴν ὅμως ὀλίγαι προσπάθειαι ἔχουν καταβληθῇ πρὸς τὴν κατεύθυνσιν ἐφαρμογῆς καταλλήλου τεχνικῆς διὰ τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος. Ἐν τούτοις ἡ δυνατότης διατηρήσεως τοῦ σπέρματος ἐπὶ μικρὸν χρόνον εἰς εἶδη μὲ χρονικῶς περιορισμένην ἀναπαραγωγικὴν περίοδον, ὥς τὰ ἵπποειδῆ, δύναται νὰ προσφέρῃ τὰ μεγαλύτερα πλεονεκτήματα.

Μία μέθοδος καταψύξεως τοῦ ἵππειου σπέρματος μετ' ἀραιώσιν εἰς ἀραιωτικά περιέχοντα γλυκόζην καὶ γλυκερίνην, περιεγράφη τὸ πρῶτον ὑπὸ τῶν Smith καὶ Polge τὸ ἔτος 1950. Βραδύτερον, ἱκανοποιητικὴ κινητικότης εἰς σπέρμα ἵππου μετὰ κατάψυξιν καὶ τῆξιν ἀνεφέρθη ὑπὸ τῶν Szumowski (1954), Roy (1955), Ibjinskaya (1956), Smurin (1959, 1961), καὶ Platov & Rombe (1961).

Μικρὸς ἀριθμὸς συλλήψεων ἐπὶ φορβάδων γονιμοποιηθεισῶν τεχνητῶς διὰ κατεψυγμένου σπέρματος ἀνεφέρθη ἐπίσης ὑπὸ τῶν Barker & Garnier (1957) καὶ τοῦ Buell (1963).

Ἡ παροῦσα πειραματικὴ ἐργασία ἀπεσκοπῇ εἰς τὴν ἐξέτασιν τῆς δυνατότητος καταψύξεως τοῦ ὄνειου σπέρματος, συγχρόνως δὲ ἡ χρησιμοποιηθεῖσα τεχνικὴ ἐφηρμόσθη καὶ εἰς τὸ σπέρμα τοῦ ἵππου.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΝ ΥΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗ

Τὴν πειραματικὴν ὁμάδα ζώων ἀπετέλεσεν εἷς ἐπιβήτωρ ὄνος ἡλικίας 12 ἐτῶν καὶ εἷς ἐπιβήτωρ ἵππος ( Welsh Pony ) ἡλικίας 6 ἐτῶν. Ἡ σπερματο-

\* Ἀνακοίνωσις γενομένη εἰς τὸ V Διεθνὲς Συνέδριον ἐπὶ τῆς ἀναπαραγωγῆς τῶν ζώων καὶ τῆς Τεχνητῆς Γονιμοποιήσεως (TRENTO-Ἰταλία) κατὰ τὴν συνεδρίασιν τοῦ III τμήματος τῆς 9ης Σεπτεμβρίου 1964 ὑπὸ Κωνστ. Μινατάκη. Ἑθνικότης: Ἑλληνική. Γεωπόνου, Διευθυντοῦ τοῦ Σταθμοῦ Κτηνοτροφικῆς Ἑρεῦνης Ἀθηνῶν.

συλλογὴ ἐνγριγῆτο διὰ τῆς μεθόδου τῆς « τμηματικῆς ἐκσπερματίσεως » ( Man, Leone & Polge, 1956 ) ἐχρησιμοποιήτο δὲ ἐκάστοτε μόνον τὸ πλούσιον εἰς σπερματοζωάρια τμήμα τοῦ ἐκσπερματίσματος.

Ἡ πυκνότης εἰς σπερματοζωάρια ἐκυμάνθη διὰ μὲν τὸ ὄνειον σπέρμα ἀπὸ 1,7 ἕως 3,9 X 10<sup>8</sup> σπερμ.) κ. ἐκ. διὰ δὲ τὸ ἵππειον ἀπὸ 1.7 ἕως 2.9 X 10<sup>8</sup> σπερμ.) κ. ἐκ. Ἡ ἀρχικὴ κινητικότητα ὅλων τῶν πειραματικῶν δειγμάτων σπέρματος ἦτο ἀνωτέρα τοῦ 80.ο.ο.

Ἐπειδὴ ἐκ προγενεστέρων παρατηρήσεων εἶχεν διαπιστωθεῖ ὅτι τὰ πλέον κατάλληλα ἀραιοτικά διὰ τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος τῶν ἵππειδῶν ἦσαν ἐκεῖνα ἅτινα περιεῖχον μικρὰν ἀναλογίαν ἡλεκτρολυτῶν ἐχρησιμοποιήθησαν βασικῶς διαλύματα γλυκόζης καὶ γλυκερίνης. Ἡ λεπτομερὴς σύνθεσις τῶν χρησιμοποιηθέντων ἀραιοτικῶν κατὰ τὴν διεξαγωγὴν τῶν τριῶν πειραμάτων τῆς παρούσης ἐργασίας, παρέχεται εἰς τὸν συνημμένον ὑπ' ἀριθ.1 πίνακα. Ἐναντιθέσει πρὸς τὰ ἀραιοτικά τὰ ὁποῖα δι' ἐρευνητικούς λόγους ἦσαν διαφόρου συνθέσεως εἰς τὰς διαφόρους πειραματικὰς ομάδας, αἱ μέθοδοι ἀραιώσεως καὶ καταψύξεως τοῦ σπέρματος διετηρήθησαν σταθεραὶ καθ' ὅλην τὴν πειραματικὴν περίοδον.

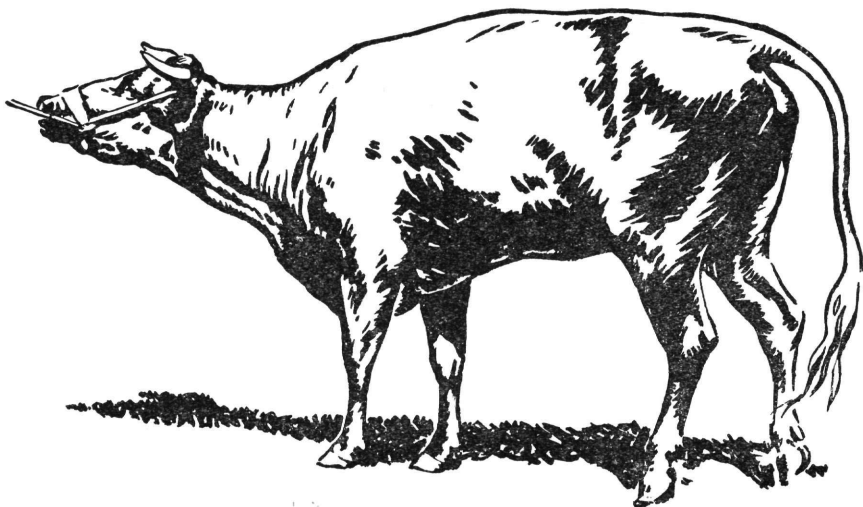
Ἀμέσως μετὰ τὴν σπερματοσυλλογὴν ἴσα μέρη ἐξ ἐκάστου ἐκσπερματίσματος ἡραιούντο εἰς ἀναλ. 1:1 καὶ ὑπὸ θερμ. 32 C διὰ τῶν μὴ γλυκερινούχων ἀραιοτικῶν. Ἐν συνεχείᾳ ἐψύχοντο βαθμιαίως μὲ ρυθμὸν 0,2 C ἀνὰ πρῶτον λεπτὸν τῆς ὥρας μέχρι τῆς θερμοκρασίας 4oC καὶ μετὰ 4ωρον ἐπανηραιούντο εἰς ἀναλογία 1:1 διὰ τῶν ἀντιστοιχῶν γλυκερινούχων ἀραιοτικῶν, τῶν ὁποίων ἡ περιεκτικότης εἰς γλυκερίνην ἦτο διπλασία τῆς προσδιοριζομένης ἐκάστοτε τελικῆς τοιαύτης ἐν τῷ γλυκερινωμένῳ σπέρματι.

Τὰ γλυκερινοῦχα ἀραιοτικά προσετίθεντο εἰς 4 ἴσας δόσεις ἀνὰ 10 λεπτά χρονικὰ διαστήματα. Μετὰ 18ωρον παραμονὴν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 4° C, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐτοποθετοῦντο ἐντὸς ὑαλίνων φυσίγγων χωρητικότητος 1 κ. ἐκ. αἵτινες ἐν συνεχείᾳ ἐσφραγίζοντο καὶ κατεψύχοντο εἰς τὴν θερμοκρασίαν -79 C. Ἡ ὅλη ἐργασία τῆς γλυκερινώσεως τοῦ σπέρματος καὶ τῆς πληρώσεως καὶ σφραγίσεως τῶν φυσίγγων διεξήγετο εἰς τὸν « ψυχρὸν θάλαμον » τοῦ ἐργαστηρίου ( θερμ. 4° C). Ἡ κατάψυξις τῶν φυσίγγων ἐλάμβανε χώραν ἐντὸς λουτροῦ οἰνοπνεύματος διὰ τῆς προσθήκης στερεοῦ CO<sub>2</sub>, ὃ δὲ ρυθμὸς καταψύξεως ἦτο : 1 C ἀνὰ πρῶτον λεπτὸν μεταξὺ τῶν θερμοκρασιῶν -2 C καὶ -10 C, 4oC ἀνὰ πρῶτον λεπτὸν μεταξὺ τῶν θερ. -10 καὶ -26 C καὶ 5 -6 C ἀνὰ πρῶτον λεπτὸν μεταξὺ τῶν θερμοκρασιῶν -26 C καὶ -79 C.

Κατὰ τὴν διεξαγωγὴν πειραμάτων τινῶν προγραμματισθέντων διὰ τὴν σπουδὴν τῆς δυνατότητος μειώσεως τοῦ ἀπαιτουμένου χώρου πρὸς κατάψυξιν καὶ διατήρησιν τῆς συνολικῆς ποσότητος τοῦ ἐκσπερματίσματος, ἐλάμβανε χώραν συμπύκνωσις τῶν σπερματοζωαρίων διὰ φυγοκέντρωσεως. Μετὰ τὴν προσθήκην τοῦ γλυκερινοῦχο ἀραιοτικοῦ, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐφυγοκεντροῦντο εἰς 1000 ἕως 1200 στροφὰς ἀνὰ 1' ἐπὶ 20' - 30' εἰς ψυχομένην φυγόκεντρον καὶ ὑπὸ θερμοκρασίαν 4 C. Μετὰ τὴν φυγοκέντρησιν, τὰ 75.ο.ο τοῦ ὑπερκειμένου ὑγροῦ ἀπεμακρύνοντο τὰ δὲ συμπυκνωμένα σπερματοζωάρια ἐπανηραιούντο εἰς τὸ ἀπομένον ὑγρόν. Ἐν συνεχείᾳ τὸ οὕτω συμπυκνωθὲν σπέρμα ἐτοποθετήτο εἰς τὰς φύσιγγας πρὸς κατάψυξιν.

Δύο ἢ τρεῖς φύσιγγες ἐξ ἐκάστης πειραματικῆς ομάδος ἐτήκοντο ἐκάστοτε καὶ ὑπεβάλλοντο εἰς μικροσκοπικὴν ἐξέτασιν μετὰ διατήρησιν εἰς θὴν θερμ.

Η ΣΠΙΣΙΣ ΤΩΝ ΠΕΛΑΜΑΤΩΝ ΤΩΝ ΒΟΥΒΕΙΔΩΝ . . .



‘Υποχωρεί ταχέως διά μιᾶς ἐφ’ ἅπαξ ἐνέσεως διαλύματος Νατρίουχου ‘ΣΟΥΛΦΑΜΕΖΑΘΙΝΗΣ’ 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>%.

#### ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ

**Ταχεία ἀπορρόφησης :** ‘Η ‘Σουλφαμεζαθίνη’ ἀπορροφᾶται ταχέως καὶ τελείως.

**Τοπικὴ ἀντίδρασις :** Τὸ διάλυμα 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>% Νατρίουχου ‘Σουλφαμεζαθίνης’ δὲν εἶναι πoσῶς ἐρεθιστικὸν καὶ δὲν προκαλεῖ τὸν σχηματισμὸν ἐσχάρas εἰς τὸ σημεῖον τῆς ἐνέσεως.

**Σταθερὰ ἐνέργεια :** Συγκρινομένη πρὸς ἄλλας Σουλφοναμίδας, ἡ ‘Σουλφαμεζαθίνη’ παραμένει ἐπὶ διπλάσιον περὶπου χρόνον εἰς τὸν ὀργανισμόν τῶν βοοειδῶν. Μία ἐφ’ ἅπαξ δόσις ἐξασφαλίζει θεραπευτικὴν ἐπίδρασιν ἐπὶ δλόκληρον εἰκοσιτετράωρον.

**Εὐχερὴς χορήγησις :** Μία ἐφ’ ἅπαξ ἐνεσις 100 περίπου κ. ἐκ διαλύματος 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>% Νατρίουχου ‘Σουλφαμεζαθίνης’ ἀρκεῖ συνήθως διὰ τὴν ἴασιν.

Χορηγεῖται ὑποδορίως, ἐνδοφλεβίως καὶ ἐνδοπεριτοναϊκῶς.

‘Η διάλυσις εἶναι ἀποστειρωμένη καὶ ἐτοίμη πρὸς ἄμεσον χρῆσιν.



# 'SULPHAMEZATHINE'

SULPHADIMIDINE

ΣΗΜΑ ΚΑΤΑΤΘΕΝ

**ΝΑΤΡΙΟΥΧΟΝ  
ΔΙΑΛΥΜΑ  
33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>%**

Προϊὸν τοῦ Οἴκου :

**IMPERIAL CHEMICAL INDUSTRIES LIMITED**  
PHARMACEUTICALS DIVISION  
WILMSLOW CHESHIRE ENGLAND

Γενικὸς Ἀντιπρόσωπος διὰ τὴν Ἑλλάδα : Κ. ΚΑΝΑΡΟΓΛΟΥ  
Ἱπποκράτους 12 — Ἀθῆναι 143 — Τηλ. 612.421



Ph. 135



-79°C ἐπὶ διάφορα χρονικὰ διαστήματα ἤτοι 1 ὥραν, 48 ὥρας καὶ 7 ἐβδομάδας.

Διὰ τὸ ἀντικειμενικώτερον τῶν παρατηρήσεων ἐκάστη φύσιγξ ἐλάμβανε ἴδιον κωδικὸν ἀριθμὸν, ἡ δὲ ἐξέτασις τοῦ σπέρματος ἐνεργῆτο πάντοτε ὑπὸ δύο παρατηρητῶν.

Τὰ ἀποτυπούμενα εἰς τὰς συνημμένας σχηματικὰς παραστάσεις τελικὰ ποσοστὰ κινητικότητος ἀποτελοῦν τοὺς μέσους ὅρους τῶν ἐπὶ μέρους ἐκτιμήσεων τῆς κινητικότητος ἐκπεφρασμένων εἰς ο)ο ποσοστὰ τῶν προοδευτικῶ, κινουμένων σπερματοζωαρίων ὑπὸ θερμ. 37°C.

Διὰ τὴν ἔρευναν τῆς ἐπιβιωτικῆς ικανότητος τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ τὴν τῆξιν τοῦ σπέρματος, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐπανεξηάζοντο μετὰ παραμονὴν ἐπὶ 24 ὥρας εἰς τὴν θερμοκρ. τῶν 4°C ἢ μετὰ παραμονὴν ἐπὶ 1 ὥραν, 1.1)2 ὥραν ἢ 2.1)2 ὥρας εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 37°C.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Ἐπίδρασις τῆς ἐκατοστιαίας ἀναλογίας τοῦ κρόκου τῆς γλυκερίνης ἐν τῷ ἀραιωτικῷ.

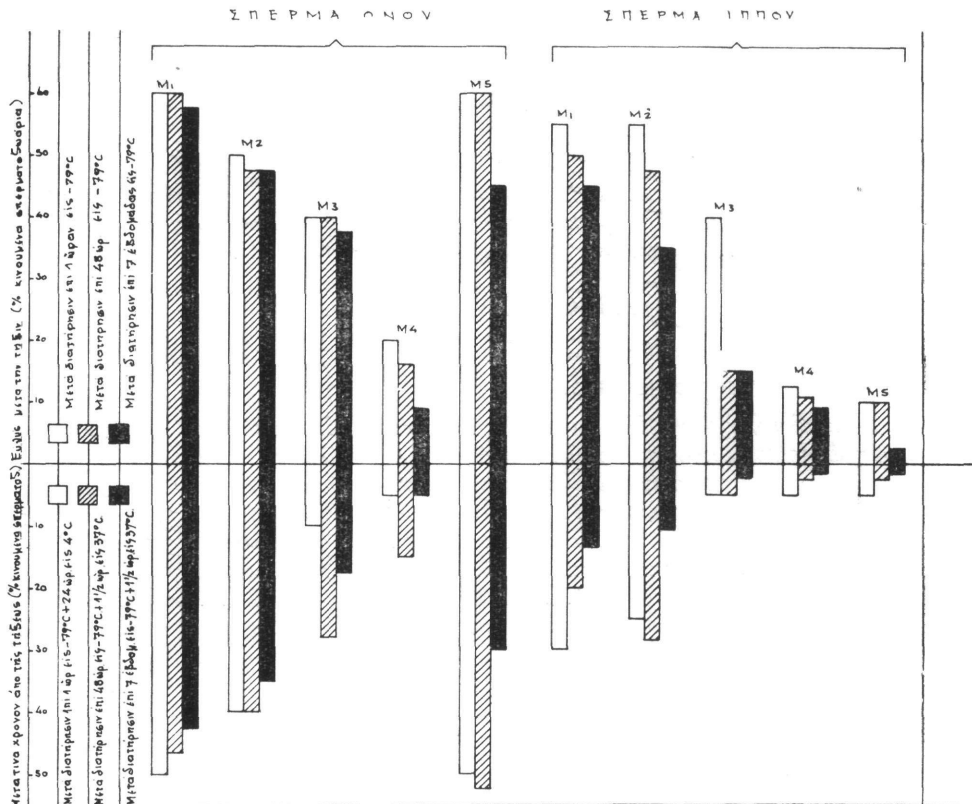
Εἰς τὴν ὑπ' ἀριθ. 1 σχηματικὴν παράστασιν ἀποτυποῦνται τὰ ληφθέντα ἀποτελέσματα ἐκ τοῦ ὑπ' ἀριθ. 1 πειράματος ἡ διεξαγωγή τοῦ ὁποίου ἀπεσκοπῆ εἰς τὴν ἔρευναν τῆς ἐπίδρασεως τῆς περιεκτικότητος τοῦ ἀραιωτικοῦ εἰς κρόκον καὶ γλυκερίνην ἐπὶ τῆς ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ ὄνου καὶ ἵππου μετὰ τὴν κατάψυξιν. Ὡς ἐμφαίνεται εἰς τὸ ἐν λόγῳ σχῆμα ὑπ' ἀριθ. 1 τὰ καλλίτερα ἀποτελέσματα ἐλήφθησαν διὰ τῆς χρησιμεποιήσεως ἀραιωτικοῦ περιέχοντος 7.5.ο)ο κρόκον ὡς ὄρνιθος καὶ 7.5.ο)ο γλυκερίνην.

Ἡ ἐπιβλαβὴς ἐπίδρασις μεγαλυτέρας ἀναλογίας γλυκερίνης ὑπῆρξεν πλεον ἐντονος εἰς τὰ ἀραιωτικὰ τὰ περιέχοντα μικροτέραν ἀναλογίαν κρόκου.

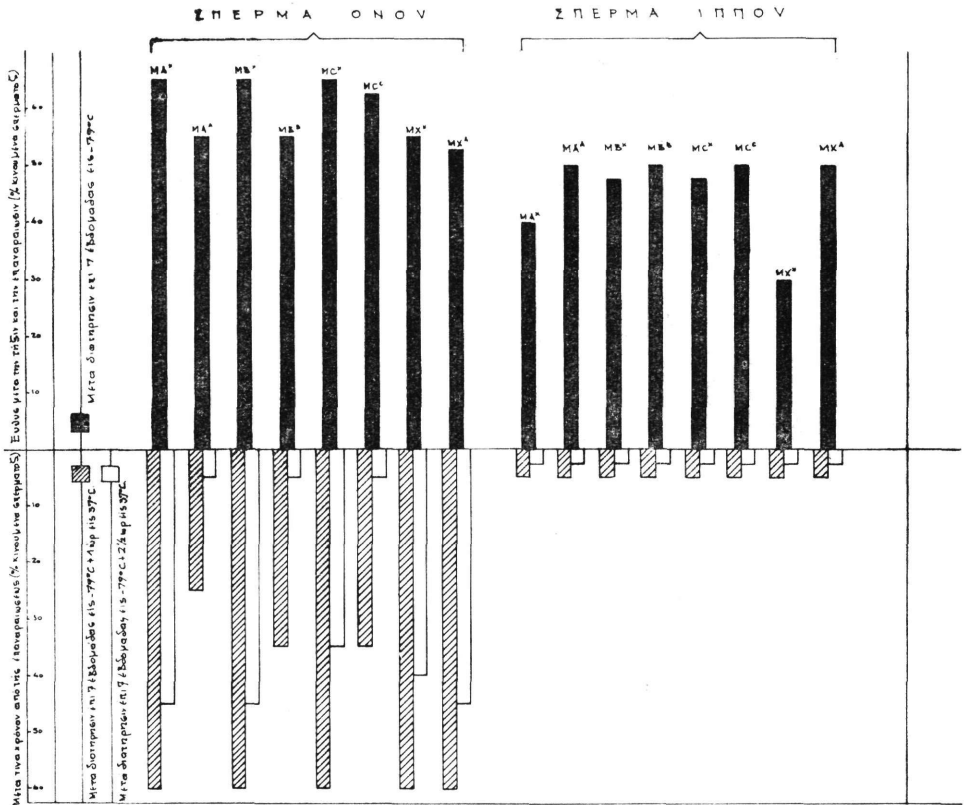
Ἐκ τοῦ αὐτοῦ ὡς ἄνω σχήματος προκύπτει ὅτι ἡ προσθήκη 0,166.ο)ο διττανθρακικοῦ Νατρίου εἰς τὸ ἀραιωτικὸν εἶχεν εὐνοϊκὴν ἐπίδρασιν ἐπὶ τοῦ σπέρματος τοῦ ὄνου ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ σπέρμα τοῦ ἵππου τὸ ὁποῖον ἐνεφάνισεν τὴν μικροτέραν ἐπιβιωτικὴν καὶ ἐπιβιωτικὴν ικανότητα εἰς τὸ ἀραιωτικὸν τοῦτο.

Ἐπίδρασις : α) τῆς περιεκτικότητος τοῦ ἀραιωτικοῦ εἰς γλυκόζη καὶ β) τῆς ἐπαναβιώσεως τοῦ κατεψυγμένου σπέρματος μετὰ τὴν τῆξιν.

Τὰ ληφθέντα ἀποτελέσματα ἐκ τοῦ ὑπ' ἀριθ. 2 πειράματος ἄτινα ἀποτυποῦνται εἰς τὴν ὑπ' ἀριθ. 2 σχηματικὴν παράστασιν δεικνύουν ὅτι : α) Αἱ διάφοροι ἀναλογίαι γλυκόζης μεταξὺ 3.75.ο)ο καὶ 5 0.ο)ο ἐν τῷ ἀραιωτικῷ, ἐλαχίστην ἐπίδρασιν ἔσχον ἐπὶ τῆς ἀναβιωτικῆς καὶ ἐπιβιωτικῆς ικανότητος τῶν σπερμ)ρίων ἀμφοτέρων τῶν εἰδῶν μετὰ τὴν κατάψυξιν. β) Ἐνῶ τὰ πειραματικὰ δείγματα ὀνείου κατεψυγμένου σπέρματος ἠννοήθησαν ἐκ τῆς ἐπαναβιώσεως διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ MX περιέχοντος 0,078.ο)ο διττανθρακικὸν Νάτριον, τὰ τοιαῦτα τοῦ ἵππειου σπέρματος ἐνεφάνισαν τὸ μικρότερον ποσοστὸν ἀναβιώσεως μετὰ τὴν ἐπαναβίωσιν διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ τούτου καὶ γ) Τὰ ποσοστὰ ἐπιβιώσεως τοῦ ἵππειου κατεψυγμένου σπέρματος ὅλων τῶν πειραματικῶν ομάδων μετὰ τὴν τῆξιν ἦσαν πράγματι, πολὺ ἡλαττωμένα. Τοῦτο ὀφείλετο εἰς τὴν παρατηρηθεῖσαν ἰσχυρὰν αὐτοσυγκόλλησιν τῶν σπερματοζωαρίων, μετὰ τὴν τῆξιν καὶ τὴν τοποθέτησιν τῶν δειγμάτων σπέρματος ἐντὸς τοῦ θερμολού-

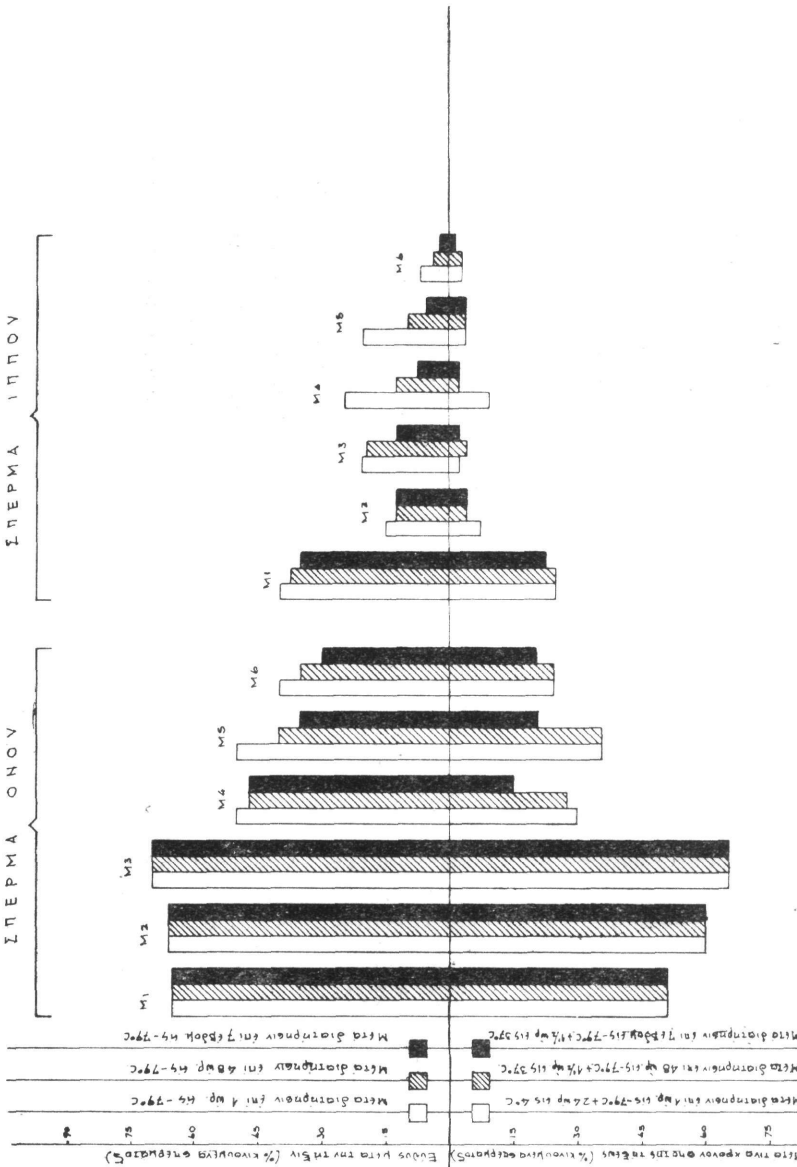


Σ χ ή μ α 1 — Σύγκρισις ποσοστών ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως μετὰ τὴν τήξιν σπέρματος ὄνου καὶ ἵππου ματαψυχθέντος μετ' ἀραιώσιν εἰς ἀραιωτικὰ περιέχοντα 3,75 % γλυκόζην καὶ διαφόρους ἀναλογίας κρόκου ὡοῦ ὄρνιθος καὶ γλυκερίνης. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 1 (M1) περιέχει 7,5 % κρόκον καὶ 7,5 % γλυκερίνην. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 2 (M2) περιέχει 7,5 % κρόκον καὶ 10 % γλυκερίνην, τὸ ἀραιωτικὸν Νο 3 (M3) περιέχει 0,75 % κρόκον καὶ 7,5 % γλυκερίνην. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 4 (M4) περιέχει 0,75 % κρόκον, καὶ 10 % γλυκερίνην. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 5 (M5) περιέχει 7,5 % κρόκον 7,5 % γλυκερίνην καὶ 0,16 % διττανθρακικὸν Νάτριον.



Σ χ ῆ μ α 2.—Σύγκρισις ποσοστῶν ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως μετὰ τὴν τήξιν, σπέρματος ὄνου καὶ ἵππου καταψυχθέντος μετ' ἀραίωσιν εἰς ἀραιωτικά περιέχοντα 7,5 % κρόκον, 7,5 % γλυκερίνην καὶ διαφόρους ἀναλογίας γλυκόζης: (MA: 3,75 %, MB 4,5 % MC 5 % γλυκόζη, MX: 4,5 % γλυκόζη + 0,078 % διττανθρακικὸν Νάτριον). Τὰ δείγματα ἐπαναραιώθησαν εἰς ἀναλογίαν 1:1 εὐθὺς μετὰ τὴν τήξιν, ἀφ' ἐνὸς μὲν διὰ τῶν ἀρ. MA (MA<sup>A</sup>), MB (MB<sup>A</sup>), MC (MC<sup>A</sup>), MX (MX<sup>A</sup>) καὶ καὶ ἀφ' ἐτέρου διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ MX (MA<sup>x</sup>, MB<sup>x</sup>, MC<sup>x</sup> ἀντιστοίχως); Δείγματα καταψυχθέντα μετ' ἀραίωσιν εἰς τὸ ἀρ. MX ἐπαναραιώθησαν διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ MA (MX<sup>A</sup>).





Σ χ η μ α β.—Σύνκρισις ποσοστών αναβιώσεως και επιβιώσεως μετά την τήξιν, σπέρματος ὄνου και ἔλλου καταψυχθέντος μετ' ἀραιώσιν εἰς ἀραιωτικά περιέχοντα 4,5% γλυκόζη, 3,75% ζάχαρον, 7,5% γλυκερίνην και διαφόρους ἀνταλογίας κητολικῶν ὀξέων, διασύνθου φωσφορικῶ Νάτριου και Λιτανθρακικοῦ Νάτριου. Τὸ ἀραιωτικὸν No 1 (M1) δὲν περιείχεν προσθέτους ὁυσίας (κητολικὸν ὀξύ, διοξεί. φωσφ. Na η διτανθρ. Na) και ἐχρησιμεῖται ὡς «ισοτῆς». Τὸ ἀρ. No 2 (M2) περιείχεν 0,078% διτανθρ. Νάτριου. Τὸ ἀρ. No 3 (M3) περιείχεν τὴν αὐτὴν ἀναλογία διτανθρ. Νάτριου ἀλλὰ ἐν διαλυματι κεκορησμένῳ διὰ CO<sub>2</sub>. Τὸ ἀρ. No 4 (M4) περιείχεν 0,0918% κητολικὸν ὀξύ και 0,2953% διασύνθου φωσφορικὸν Νάτριον (PH: 6,4). Τὸ ἀρ. No 5 (M5) περιείχεν 0,0556% κητολικὸν ὀξύ και 0,2508% διασύνθου φωσφ. Νάτριον (PH: 7,0). Τελοσ το ἀρ. No 6 (M6) περιείχεν 0,020% κητολικὸν ὀξύ και 0,398% διασύνθου φωσφ. Νάτριον. (PH: 7,6).

τροῦ ἐπὶ τινὰ λεπτὰ τῆς ὥρας ἢ ἐπὶ τῆς θερμῆς τραπέζης τοῦ μικροσκοπίου πρὸς ἐξέτασιν.

Ἐπίδρασις τῆς προσθήκης ἐν τῷ ἀραιωτικῷ: α) διαλύματος διττανθρακικοῦ Νατρίου κεκορεσμένου διὰ  $\text{CO}_2$  καὶ β) διαφόρων ποσοτήτων κιτρικοῦ ὀξέως καὶ δισοξύνου φωσφορικοῦ Νατρίου

Ὡς ἐμφαίνεται εἰς τὴν ὑπ' αἰθ. 3 σχηματικὴν παράστασιν ἐν ᾗ ἀποτυποῦνται τὰ ἀποτελέσματα ἐκ τοῦ ὑπ' ἀρ. 3 πειράματος τὰ καλλίτερα ποσοστὰ ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως τοῦ ὀνείου κατεψ. σπέρματος ἐλήφθησαν διὰ τῆς χρησιμοποιοῦσας ἀραιωτικῶν περιεχόντων διάλυμα 0,078.ο)ο διττανθρακικοῦ Νατρίου κεκορεσμένου διὰ  $\text{CO}_2$ . Εἰς τὴν περίπτωσιν τοῦ ἵππειου κατεψ. σπέρματος τὰ καλλίτερα ἀραιωτικά ἦσαν ἐκεῖνα ἅτινα δὲν περιῆχον διττανθρακικὸν Νάτριον. Ἡ προσθήκη τοῦ κιτρικοῦ ὀξέος καὶ δισοξύνου φωσφορικοῦ Νατρίου ὑπῆρξεν ἐπιβλαβὴς διὰ τὸ σπέρμα ἀμφοτέρων τῶν εἰδῶν.

## Π Ι Ν Α Ξ 1

Τελικὴ περιεκτικότης τῶν διαφόρων συστατικῶν ἐν τῷ ἀραιωμένῳ σπέρματι

Περιεχόμενα συστατικά	Ἀραιωτικά					
Πείραμα ὑπ' ἀριθ. 1	M1 PH6.60	M2 PH6.40	M3 PH6.35	M4 PH6.30	M5 PH8.30	
Γλυκόζη: γρ./100 κ.έκ.	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	
Κρόκος ὡοῦ ὄρν.: κ.έκ./100 κ.έκ.	7.50	7.50	0.75	0.75	7.50	
Γλυκερίνη: κ.έκ./100 κ.έκ.	7.50	10.00	7.50	10.00	7.50	
Διττανθρακ. Νάτρ.: γρ./100 κ.έκ.	—	—	—	—	0.166	
Στρεπτομυκίνη: χιλστ./100 κ.έκ.	37.50	37.50	37.50	37.50	37.50	
Πενικιλίνη: χιλ. Δ.Μ./100 κ.έκ.	37.50	37.50	37.60	37.50	37.50	
Πείραμα ὑπ' ἀριθ. 2	MA PH6.62	MB PH6.60	MC PH6.61	MX PH7.38		
Γλυκόζη: γρ./100 κ.έκ.	3.72	4.50	5.00	4.50		
Κρόκος ὡοῦ ὄρν.: κ.έκ./100 κ.έκ.	7.50	7.50	7.50	7.50		
Γλυκερίνη: κ.έκ./100 κ.έκ.	7.50	7.50	7.50	7.50		
Διττανθρακ. Νάτρ.: γρ./100 κ.έκ.	—	—	—	0.078		
Στρεπτομυκίνη: χιλστ./100 κ.έκ.	37.50	37.50	37.50	37.50		
Πενικιλίνη: χιλ. Δ.Μ./100 κ.έκ.	37.50	37.60	37.50	37.50		
Πείραμα ὑπ' ἀριθ. 3.	M1 PH6.69	M2 PH7.49	M3 PH7.40	M4 PH6.62	M5 PH7.00	M6 PH7.30
Γλυκόζη: γρ./100 κ.έκ.	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50	4.50
Κρόκος ὡοῦ ὄρν.: κ.έκ./100 κ.έκ.	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.74
Γλυκερίνη: κ.έκ./100 κ.έκ.	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50
Διττανθρακ. Νάτρ.: γρ./100κ.έκ.	—	0.078	—	—	—	—
Διττανθρακ. Νάτρ. κεκορεσμένον διὰ CO <sub>2</sub> : γρ./100 κ.έκ.	—	—	0.078	—	—	—
Κιτρικὸν ὀξύ: γρ./100 κ.έκ.	—	—	—	0.0918	0.0556	0.0200
Δισόξυν. Φωσφ. Νά γρ./100 κ.έκ.	—	—	—	0.2953	0.3508	0.3989
Στρεπτομυκίνη: χιλστγρ./100 κ.έκ.	37.50	37.50	37.50	37.50	37.50	37.50
Πενικιλίνη: χιλ. Δ.Μ./100 κ.έκ.	37.50	37.50	37.50	37.50	37.50	37.50

## Ἐπίδρασις τῆς φυγοκεντρήσεως

Ἀπαντα τὰ πειραματικά δείγματα, συμπεπυκνωμένου διὰ φυγοκεντρήσεως σπέρματος ἵππου καὶ ὄνου ἐνεφάνισαν τὰ αὐτὰ περίπου ποσοστὰ ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως σπερματοζωαρίων ὥς καὶ τὰ ἀντίστοιχα μὴ φυγοκεντρηθέντα δείγματα κατεψυγμένου σπέρματος, ἰδίως ὅταν ἐπανηραιοῦντο διὰ προσφάτως παρασκευασθέντος ἀραιωτικοῦ.

## Π Ε Ρ Ι Α Η Ψ Ι Σ

Πρὸς τὸν σκοπὸν διερευνήσεως τῆς δυνατότητος ἐπιτυχοῦς καταψύξεως τοῦ σπέρματος ἵππου καὶ ὄνου, διεξήχθη μία σειρά πειραμάτων.

Διεπιστώθη ὅτι ἐξαιρετικῶς ἱκανοποιητικὴ κινητικότης εἰς ὄνειον σπέρμα (μεγαλύτερα τοῦ 70.0%) δύναται νὰ ἐξασφαλισθῇ ἐὰν τοῦτο καταψυχθῇ εἰς θερμοκρ.  $-79^{\circ}\text{C}$  μετ' ἀραιώσιν δι' ἀραιωτικοῦ περιέχοντος 4.5.0% γλυκόζη, 3.75.0% κρόκον ὠοῦ ὄρνιθος, 7.5.0% γλυκερίνην καὶ 0.078.0% διττανθρακικὸν Νάτριον (ἐν διαλύματι κεκορεσμένῳ διὰ  $\text{CO}_2$ ). Μόνον τὸ πλούσιον εἰς σπερματοζωάρια τμήμα τοῦ ἐκσπερματίσματος ἐχρησιμοποιήθη πρὸς κατάψυξιν. Ποσοστιαῖα ἀναλογία γλυκερίνης ἐν τῷ ἀραιωτικῷ μεγαλύτερα τῆς προαναφερθείσης εἶχεν δυσμενῆ ἐπίδρασιν ἰδίως ἐπὶ παρουσίᾳ μειωμένης περιεκτικότητος τοῦ ἀραιωτικοῦ εἰς κρόκον.

Ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ σπέρμα τοῦ ὄνου, τὸ ἵππειον σπέρμα δὲν ἐπεβίωνεν καλῶς εἰς τὸ ἀνωτέρω ἀραιωτικὸν ἐκτὸς ἐὰν παρελείπετο ἡ προσθήκη τοῦ διττανθρακικοῦ Νατρίου.

Λόγῳ τοῦ μεγάλου ὄγκου τοῦ ὄνείου καὶ ἵππειου σπέρματος, συμφέρουσα οἰκονομικῶς διατήρησις αὐτοῦ ἐν καταψύξει δὲν θὰ ᾔτο δυνατὴ ἢ μὴ μόνον εἰς περίπτωσιν καθ' ἣν θὰ ἐπετυγχάνετο μείωσις τοῦ συνολικοῦ ὄγκου τοῦ ἐκσπερματίσματος. Εἰς τινὰ πειράματα συνεπυκνώσαμεν διὰ φυγοκεντρήσεως τὸ σπέρμα τοῦ ἵππου καὶ ὄνου πρὸ τῆς καταψύξεως. Τὰ οὕτω συμπυκνωθέντα πειραματικά δείγματα ἐνεφάνισαν ἀνάλογον ἀναβιωτικὴν καὶ ἐπιβιωτικὴν ἱκανότητα τῶν σπερματοζωαρίων πρὸς ἐκείνην τοῦ μὴ φυγοκεντρηθέντος σπέρματος, ἰδίως ὅταν ἐπανηραιοῦντο δι' ἀραιωτικοῦ προσφάτου παρασκευῆς.

Κατὰ τὴν διεξαγωγὴν ἀπάντων τῶν ἀνωτέρω πειραμάτων διεπιστώθη ὅτι ἡ ἀντοχὴ τοῦ ὄνείου σπέρματος εἰς τὴν κατάψυξιν εἶναι, ὅπωςδήποτε, πολὺμεγαλύτερα ἐκείνης τοῦ ἵππειου ὅπερ συγχῶτα ἐνεφάνιζεν ἰσχυράν αὐτοσυγκόλλησιν τῶν σπερματοζωαρίων.

## S U M M A R Y

A series of experiments were carried out in order to examine the possibility of successful freezing of Jackass and Stallion Semen. We found that extremely good motility of jackass semen could be obtained (over 70.0%) if it was frozen to  $-79^{\circ}\text{C}$  in a medium containing 4.5.0% glucose, 3.75.0% egg yolk, 7.5.0% glycerol - 0.078.0% sodium bicarbonate. The spermrich fraction only was used for freezing. Higher glycerol concentration was harmful especially in the presence of reduced yolk concentration. By contrast, stallion semen did not survive well in this medium unless sodium bicarbonate was omitted. Owing to the large vo-

lume of jackass and stallion semen, economic storage would not be possible unless the total volume could be reduced. In some experiments we concentrated jackass and stallion semen by centrifugation prior to freezing. Samples treated in this way showed similar recovery and survival rates to unconcentrated semen, especially when they were rediluted in freshly prepared diluent.

In all treatments, however, jackass semen withstood freezing much better than stallion semen which often showed heavy agglutination of the sperm.

# BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Smith, A.V. & Polge, C. (1950) : « Survival of spermatozoa at low temperature » Vet. Rec., 42, 115.
- Szumowski, P. (1954) : « Essais de congélation du sperme de cheval ». Anim. Breed. Abst. V 23, No. 523.
- Roy, A. (1955) : « RStorage of Boar and Stallion Spermatozoa in Glycine-Egg-Yolk medium », Vet. Rec. 67.330 (1955).
- Iljinskaysa, T. (1956) : « The effect of various factors on stallion spermatozoa frozen to -79 C. ». Anim. Breeding Abstracts, V. 25, No. 57.
- Zmurin, L. M. (1959) : « The storage of stallion semen by freezing ». Animal Breed. Abstr., V 27, No. 1223.
- Zmurin ; L. M. (1961) : « Diluents for stallion semen frozen rto -20 C ». Trud. Vsesojnz. nanc. issled. Indt. Konevod. A.B.A. V30, No. 804.
- Platov, E.M. & Rombe, S.M. (1961) : « Freezing semen diluted in lactose yolk with 2.0% glycerol ». Zivotnovodsko, 23 (8) : 84.
- Barker, C.A.V. & Gandier, J.C.C. (1957) : « Pregnancy in a mare resulted from frozen epididymal spermatozoa » Canad. I : Comp. Med., V 21, 47-51 (A.B.A. 25, No. 571).
- Buell, J. R. (1963) : « A method for freezing stallion semen and tests of its fertility ». Vet. Rec. 75 : 600-902.