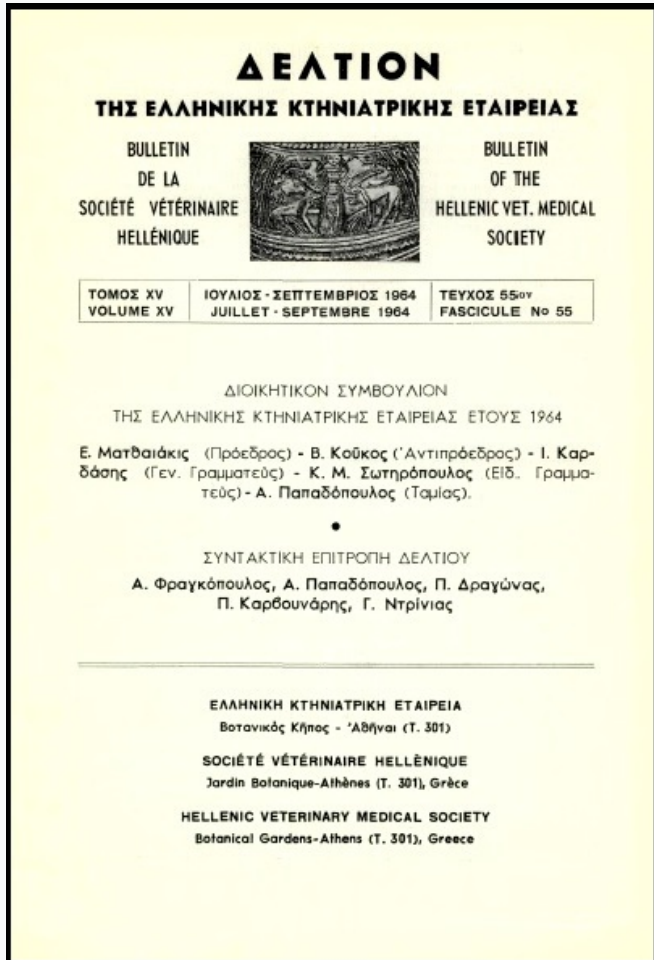


# Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 15, No 1 (1964)



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

C. POLGE, K. ΜΙΝΩΤΑΚΗΣ

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

Copyright © 2018, C. POLGE K. 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 και Κ. ΜΙΝΩΤΑΚΗ

Συμβούλιον Γεωργικής Έρεύνης, Έργαστήριον Φυσιολογίας και Βιοχημείας  
της Άναπαραγωγής, Πανεπιστήμιον Cambridge

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επιτυχής εφαρμογή και εκτεταμένη χρησιμοποίησις του κατεψυγμένου σπέρματος εις την αναπαραγωγήν των βοοειδών εύρισκεται έν έντυπωσιακή αντίθεσει προς την καταφανή έλλειψιν προόδου εις την ανάπτυξιν καταλλήλων μεθόδων καταψύξεως του σπέρματος των άλλων άγροτικών ζώων.

Πολυάριθμα πειράματα διά κατεψυγμένου σπέρματος κάπρου απέληξαν εις πολυ μικρόν αριθμόν συλλήψεων, εις δέ τὰ πρόβατα ή γονιμότης του σπέρματος του κριού έλαττούται εις μεγάλον βαθμόν διά τής καταψύξεως.

Παρά τὸ γεγονός ότι εις τινας χώρας δέν εφαρμόζεται ή τεχνητή γονιμοποίησις εις την αναπαραγωγήν των ίπποειδών, εις άλλας αύτη αναπτύσσεται και καταλαμβάνει σημαντικήν θέσιν. Εις την Ελλάδα επί παραδειγματι αρκετά χιλ άδες φορβάδων και όνοφορβάδων γονιμοποιούνται έτησίως τεχνητώς προς ίπποπαραγωγήν και ήμιονοπαραγωγήν, πλην όμως όλίγαι προσπάθειαι έχουν καταβληθῆ προς την κατεύθυνσιν εφαρμογής καταλλήλου τεχνικής διά την κατάψυξιν του σπέρματος. Έν τούτοις ή δυνατότητες διατηρήσεως του σπέρματος επί μικρόν χρόνον εις είδη με χρονικώς περιορισμένην αναπαραγωγικήν περίοδον, ως τὰ ίπποειδή, δύναται να προσφέρη τὰ μεγαλύτερα πλεονεκτήματα.

Μία μέθοδος καταψύξεως του ίππειού σπέρματος μετ' άραιώσιν εις άραιωτικά περιέχοντα γλυκόζην και γλυκερίνην, περιεγράφη τὸ πρῶτον υπό των Smith και Polge τὸ έτος 1950. Βραδύτερον, ίκανοποιητική κινητικότης εις σπέρμα ίππου μετὰ κατάψυξιν και τήξιν ανεφέρθη υπό των Szumowski (1954), Roy (1955), Ibjinskaya (1956), Smurin (1959, 1961), και Platov & Rombe (1961).

Μικρός αριθμός συλλήψεων επί φορβάδων γονιμοποιηθεισών τεχνητώς διά κατεψυγμένου σπέρματος ανεφέρθη επίσης υπό των Barker & Garnier (1957) και του Buell (1963).

Η παρούσα πειραματική εργασία άπεσκοπή εις την εξέτασιν τής δυνατότητος καταψύξεως του όνείου σπέρματος, συγχρόνως δέ ή χρησιμοποιηθεΐσα τεχνική εφημεύσθη και εις τὸ σπέρμα του ίππου.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟΝ ΥΛΙΚΟΝ ΚΑΙ ΤΕΧΝΙΚΗ

Την πειραματικήν ομάδα ζώων άπετέλεσεν εις επιβήτωρ όνος ήλικίας 12 ετών και εις επιβήτωρ ίππος ( Welsh Pony ) ήλικίας 6 ετών. Η σπερματο-

\* Άνακοίνωσις γενομένη εις τὸ V Δ εθνές Συνέδριον επί τής αναπαραγωγής των ζώων και τής Τεχνητής Γονιμοποίησεως (TRENTO-Ιταλία) κατά την συνεδρίασιν του ΙΙΙ τμήματος τής 9ης Σεπτεμβρίου 1964 υπό Κωνστ. Μινατάκη. Έθνικότης: Έλληνική. Γεωπόνου, Διευθυντοῦ του Σταθμοῦ Κτηνοτροφικῆς Έρεύνης Αθηνών.

συλλογή 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 κινητικότης ὄλων τῶν πειραματικῶν δειγμάτων σπέρματος ἦτο ἀνωτέρα τοῦ 80.ο).

Ἐπειδὴ ἐκ προγενεστέρων παρατηρήσεων εἶχεν διαπιστωθεῖ ὅτι τὰ πλέον κατάλληλα ἀραιοτικά διὰ τὴν κατάψυξιν τοῦ σπέρματος τῶν ἵππσιδῶν ἦσαν ἐκεῖνα ἅτινα περιεῖχον μικρὰν ἀναλογίαν ἠλεκτρολυτῶν ἐχρησιμοποιήθησαν βασικῶς διαλύματα γλυκόζης καὶ γλυκερίνης. Ἡ λεπτομερὴς σύνθεσις τῶν χρησιμοποιηθέντων ἀραιοτικῶν κατὰ τὴν διεξαγωγὴν τῶν τριῶν πειραμάτων τῆς παρουσίας 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.

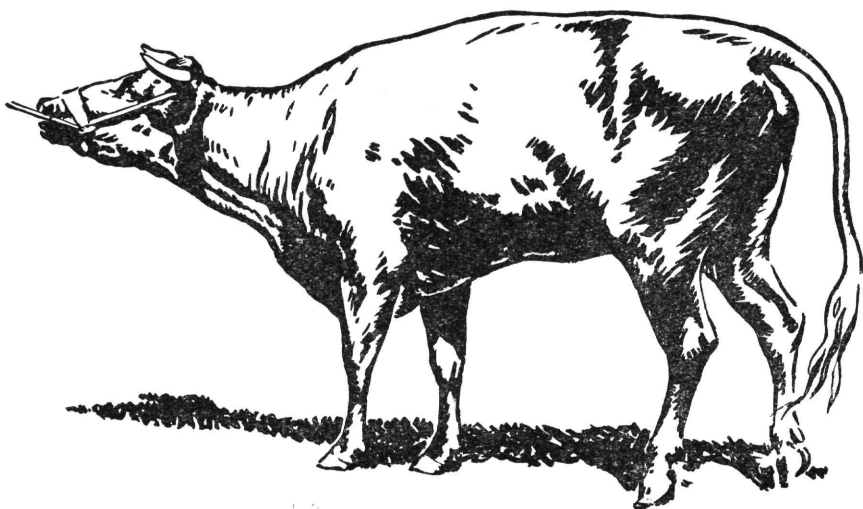
Ἀμέσως μετὰ τὴν σπερματοσυλλογὴν ἴσα μέρη ἐξ ἐκάστου ἐκσπερματίσματος ἠραιοῦντο εἰς ἀναλ. 1:1 καὶ ὑπὸ θερμ. 32 C διὰ τῶν μὴ γλυκερινούχων ἀραιοτικῶν. Ἐν συνεχείᾳ ἐψύχοντο βαθμιαίως μὲ ρυθμὸν 0,2 C ἀνὰ πρῶτον λεπτὸν τῆς ὥρας μέχρι τῆς θερμοκρασίας 40C καὶ μετὰ 4ωρον ἐπανηραιοῦντο εἰς ἀναλογία 1:1 διὰ τῶν ἀντιστοιχῶν γλυκερινούχων ἀραιοτικῶν, τῶν ὁποίων ἡ περιεκτικότης εἰς γλυκερίνην ἦτο διπλασία τῆς προσδιοριζομένης ἐκάστοτε τελικῆς τριαύτης ἐν τῷ γλυκερινωμένῳ σπέρματι.

Τὰ γλυκερινοῦχα ἀραιοτικά προσετίθεντο εἰς 4 ἴσας δόσεις ἀνὰ 10 λεπτα χρονικὰ διαστήματα. Μετὰ 18ωρον παραμονὴν εἰς τὴν θερμοκρασίαν τῶν 4° C, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐποθετοῦντο 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, 40C 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 γλυκερινοῦχου ἀραιοτικοῦ, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐφυγοκέντροντο 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 ἐπανηραιοῦντο εἰς τὸ ἀπομένον ὑγρὸν. Ἐν συνεχείᾳ τὸ οὕτω συμπυκνωθὲν σπέρμα ἐποθετῆτο εἰς τὰς φύσιγγας πρὸς κατάψυξιν.

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

Η ΣΠΙΖ ΤΟΥ ΠΕΛΜΑΤΟΣ ΤΩΝ ΒΟΥΞΙΔΩΝ . . .



Ύποχωρεί ταχέως διά μιας έφ' άπαξ ένεσεως διαλύματος Νατριούχου 'ΣΟΥΛΦΑΜΕΖΑΘΙΝΗΣ' 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>%.

**ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ**

**Ταχεία απορρόφησης :** Η 'Σουλφαμεζαθίνη' απορροφάται ταχέως και τελείως.

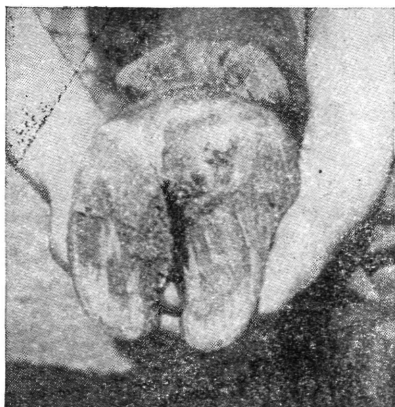
**Τοπική αντίδρασις :** Το διάλυμα 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>% Νατριούχου 'Σουλφαμεζαθίνης' δέν είναι ποσώς έρεθιστικόν και δέν προκαλεί τόν σχηματισμόν έσχάρας εις τó σημεϊον τής ένεσεως.

**Σταθερά ένεργεια :** Συγκρινομένη πρós άλλας Σουλφοναμίδας, ή 'Σουλφαμεζαθίνη' παραμένει επί διπλάσιον περιπού χρόνον εις τόν όργανισμόν τών βοοειδών. Μία έφ' άπαξ δόσις έξασφαλίζει θεραπειτικήν επίδρασιν επί δλόκληρον είκοσιτετράωρον.

**Εύχερης χορήγησις :** Μία έφ' άπαξ ένεσις 100 περίπου κ. εκ. διαλύματος 33<sup>1</sup>/<sub>3</sub>% Νατριούχου 'Σουλφαμεζαθίνης' άρκει συνήθως διά τήν ίασιν.

Χορηγείται ύποδοριώς, ένδοφλεβίως και ένδοπεριτοναϊκώς.

Η διάλυσις είναι άποστειρωμένη και έτοιμη πρós άμεσον χρήσιν.



**'SULPHAMEZATHINE'**

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

SULPHADIMIDINE

ΣΗΜΑ ΚΑΤΑΤΘΕΩΝ

Προϊόν του Οίκου :

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

Γενικός Άντιπρόσωπος διά τήν Έλλάδα : Κ. ΚΑΝΑΡΟΓΛΟΥ  
Ήποκράτους 12 — Άθήναι 143 — Τηλ. 612.421



Ph. 135



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

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

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

Διὰ τὴν ἔρευναν τῆς ἐπιβιωτικῆς ικανότητος τῶν σπερματοζωαρίων μετὰ τὴν τῆξιν τοῦ σπέρματος, τὰ πειραματικὰ δείγματα ἐπανεξητάζοντο 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.

## Α Π Ο Τ Ε Λ Ε Σ Μ Α Τ Α

**Ἐπίδρασις τῆς ἑκατοστιαίας ἀναλογίας τοῦ κρόκου τῆς γλυκερίνης ἐν τῷ ἀραιωτικῷ.**

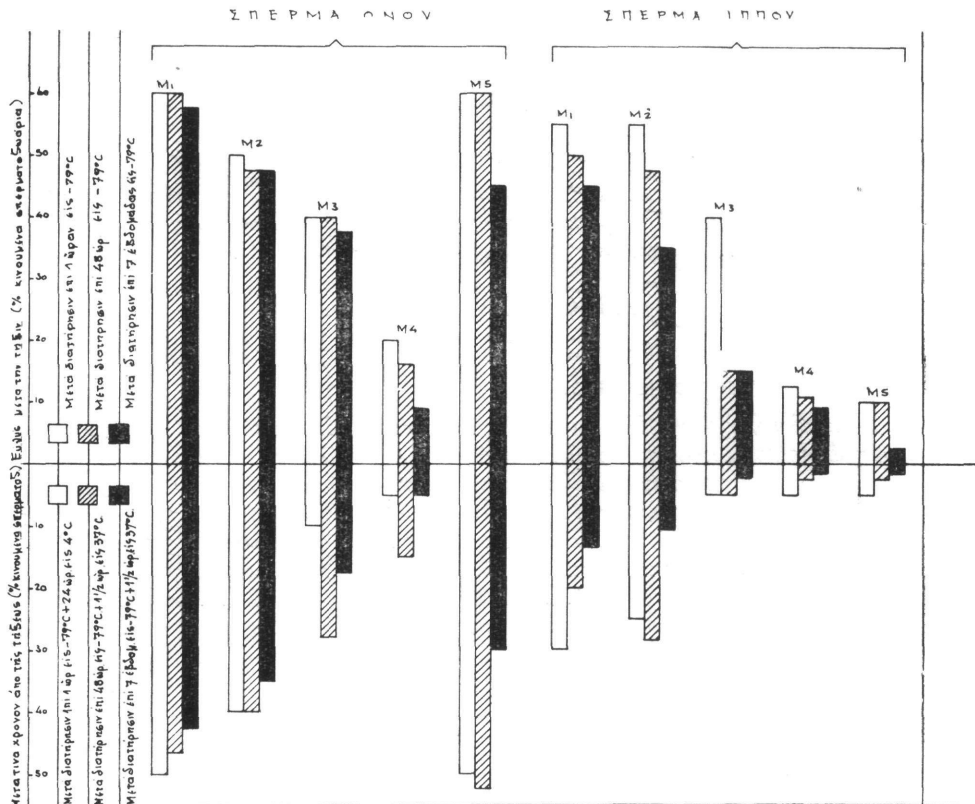
Εἰς τὴν ὑπ' ἀριθ. 1 σχηματικὴν παράστασιν ἀποτυποῦνται τὰ ληφθέντα ἀποτελέσματα ἐκ τοῦ ὑπ' ἀριθ. 1 πειράματος ἢ διεξαγωγῆ τοῦ ὁποιοῦ ἀπεσκόπη εἰς τὴν ἔρευναν τῆς ἐπίδρασεως τῆς περιεκτικότητος τοῦ ἀραιωτικοῦ εἰς κρόκον καὶ γλυκερίνην ἐπὶ τῆς ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως τῶν σπερματοζωαρίων τοῦ ὄνου καὶ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

Ἡ ἐπιβλαβὴς ἐπίδρασις μεγαλυτέρας ἀναλογίας γλυκερίνης ὑπῆρξεν πλέον ἔντονος εἰς τὰ ἀραιωτικὰ τὰ περιέχοντα μικροτέραν ἀναλογίαν κρόκου.

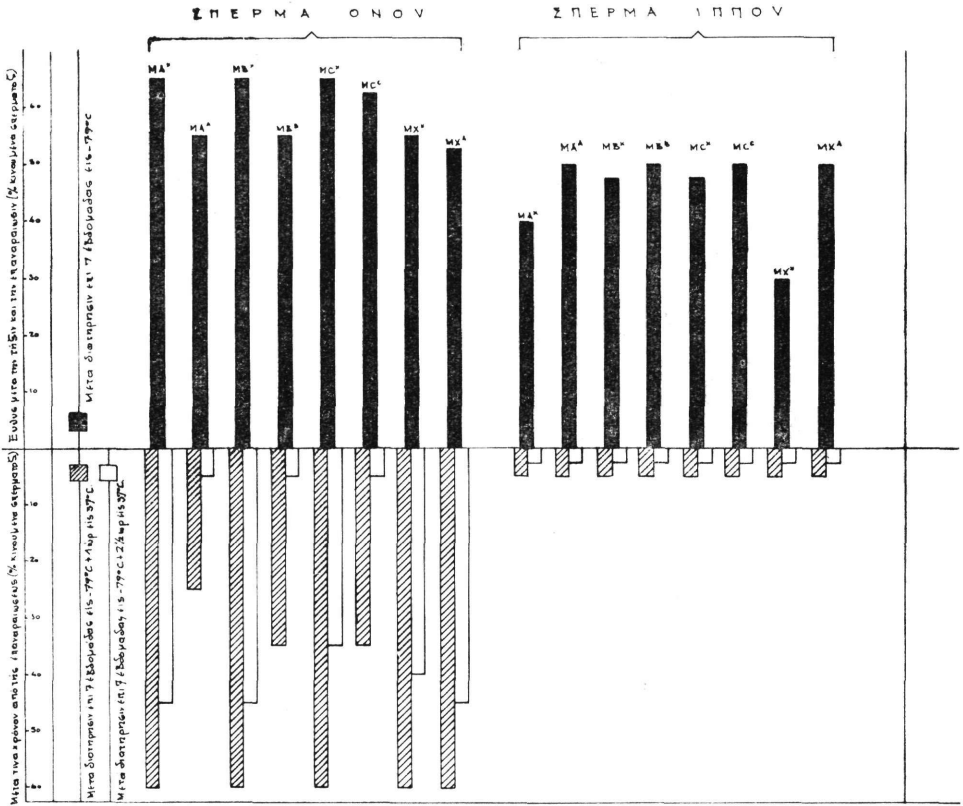
Ἐκ τοῦ αὐτοῦ ὡς ἄνω σχήματος προκύπτει ὅτι ἢ προσθήκη 0,166.ο)οδιττανθρακικοῦ Νατρίου εἰς τὸ ἀραιωτικὸν εἶχεν εὐνοϊκὴν ἐπίδρασιν ἐπὶ τοῦ σπέρματος τοῦ ὄνου ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸ σπέρμα τοῦ ἵππου τὸ ὁποῖον ἐνεφάνισεν τὴν μικροτέραν ἀναβιωτικὴν καὶ ἐπιβιωτικὴν ικανότητα εἰς τὸ ἀραιωτικὸν τοῦτο.

**Ἐπίδρασις :** α) τῆς περιεκτικότητος τοῦ ἀραιωτικοῦ εἰς γλυκόζην 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 μεταξύ 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 ὄνειου κατεψυγμένου σπέρματος ἠγνοήθησαν 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 ὄλων τῶν πειραματικῶν ομάδων μετὰ τὴν τῆξιν ἦσαν πράγματι, παλὺ ἡλαττωμένα. Τοῦτο ὀφείλετο εἰς τὴν παρατηρηθεῖσαν ἰσχυρὰν αὐτοσυγκόλλησιν τῶν σπερματοζωαρίων, μετὰ τὴν τῆξιν καὶ τὴν τοποθέτησιν τῶν δειγμάτων σπέρματος ἐντὸς τοῦ θερμολού-

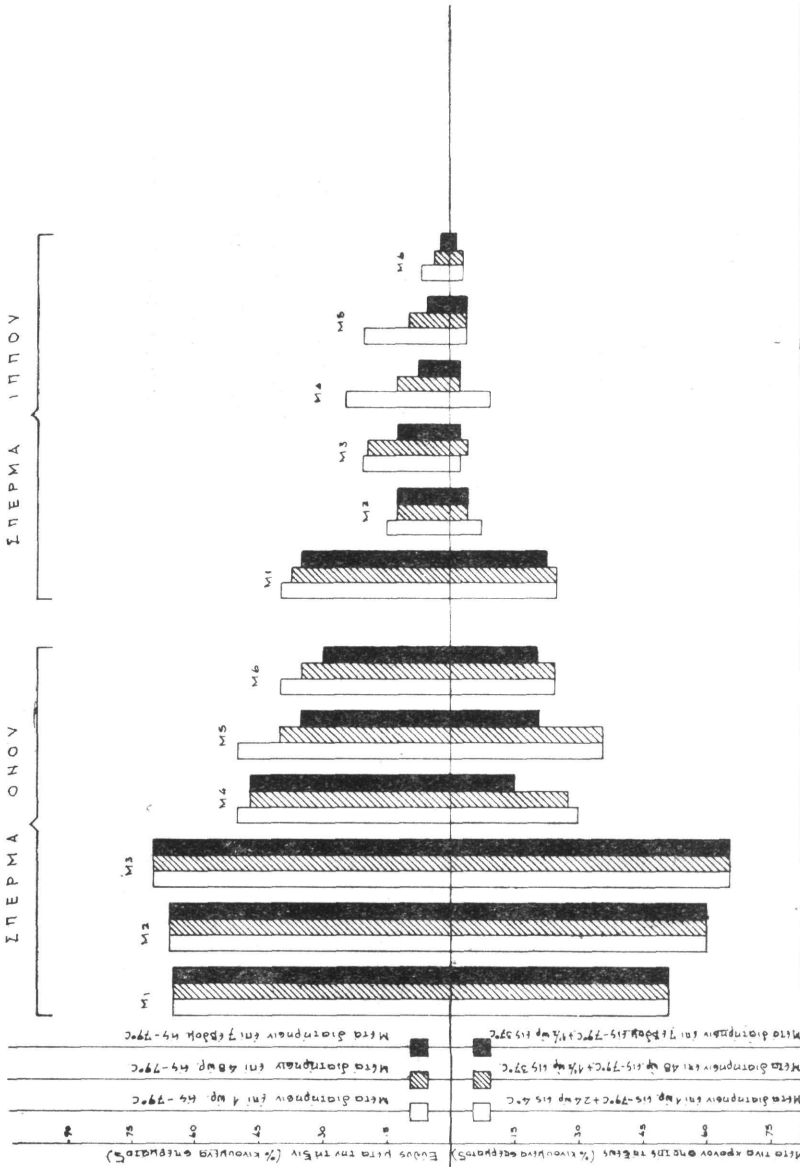


Σχήμα 1—Σύγκρισις ποσοστῶν ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως μετὰ τὴν τήξιν σπέρματος ὄνου καὶ ἵππου ματαψυχθέντος μετ' ἀραιώσιν εἰς ἀραιωτικά περιέχοντα 3,75% γλυκόζη καὶ διαφόρους ἀναλογίας κρόκου ὄου ὄρνιθος καὶ γλυκερίνης. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 1 (M1) περιέχει 7,5% κρόκον καὶ 7,5% γλυκερίνην. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 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' ἀραιώσιν εἰς ἀραιωτικά περιέχοντα 7,5 % κρόκον, 7,5 % γλυκερίνην καὶ διαφόρους ἀναλογίας γλυκόζης: (MA : 3,75 %, MB 4,5 % MC 5 % γλυκόζην, MX : 4,5 % γλυκόζην + 0,078 % διττανθρακικὸν Νάτριον). Τὰ δείγματα ἐπαναραιώθησαν εἰς ἀναλογίαν 1 : 1 εὐθὺς μετὰ τὴν τήξιν, ἀφ' ἑνὸς μὲν διὰ τῶν ἀρ. MA (MA<sup>A</sup>), MB (MB<sup>B</sup>), MC (MC<sup>C</sup>), MX (MX<sup>X</sup>) καὶ καὶ ἀφ' ἑτέρου διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ MX (MA<sup>X</sup>, MB<sup>X</sup>, MC<sup>X</sup> ἀντιστοίχως); Δείγματα καταψυχθέντα μετ' ἀραιώσιν εἰς τὸ ἀρ. MX ἐπαναραιώθησαν διὰ τοῦ ἀραιωτικοῦ MA (MX<sup>A</sup>).





Σχ. η' μ. ε. — Σύνγκρισις ποσοτῶν ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως μετὰ τὴν τῆξιν, σπέρματος ὄνου καὶ ἵππου καταψυχθέντος μετ' ἀορίστων εἰς ἀραιωτικὰ περιέχοντα 4,5% γλυκόζην, 3,75% χοκόλον, 7,5% γλυκερίνην καὶ διαφόρους ἀναλογίας κτρινοῦ ὀξέους, διασώζοντον φωσφορικῶ Νάτριου καὶ Διττανθρακικοῦ Νάτριου. Τὸ ἀραιωτικὸν Νο 1 (M1) δὲν περιεῖχεν προσθέτους οὐσίας κτρινοῦ ὀξέου, διασώξ. φωσφ. Να ἢ διττανθ. Να) καὶ ἐχρησίμευεν ὡς «μάρτυρ». Τὸ ἀφ. Νο 2 (M2) περιεῖχεν 0,078% διττανθ. Νάτριον. Τὸ ἀφ. Νο 3 (M3) περιεῖχεν τὴν αὐτὴν ἀναλογίαν διττανθ. Νάτριου ἀλλὰ ἐν διαληήματι κεκοφεσμένῳ διὰ CO<sub>2</sub>. Τὸ ἀφ. Νο 4 (M4) περιεῖχεν 0,0918% κτρινοῦ ὀξέου καὶ 0,2953% διασώζοντον φωσφορικῶν Νάτριον (PH: 6,4). Τὸ ἀφ. Νο 5 (M5) περιεῖχεν 0,0566% κτρινοῦ ὀξέου καὶ 0,2508% διασώζοντον φωσφ. Νάτριον (PH: 7,0). Τέλος τὸ ἀφ. Νο 6 (M6) περιεῖχεν 0,020% κτρινοῦ ὀξέου καὶ 0,398% διασώζοντον φωσφ. Νάτριον. (PH: 7,6).



## Ἐπίδρασις τῆς φυγοκεντρήσεως

Ἀπαντα τὰ πειραματικά δείγματα, συμπετυκνωμένου διὰ φυγοκεντρήσεως σπέρματος ἵππου καὶ ὄνου ἐνεφάνισαν τὰ αὐτὰ περίπου ποσοστὰ ἀναβιώσεως καὶ ἐπιβιώσεως σπερματοζωαρίων ὡς καὶ τὰ ἀντίστοιχα μὴ φυγοκεντρηθέντα δείγματα καταψυγμένου 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' ἀραιωτικῶν περιέχοντος 4.5.0% γλυκόζη, 3.75.0% κρόκον ὠοῦ ὄρνιθος, 7.5.0% γλυκερίνην καὶ 0.078.0% διττανθρακικὸν Νάτριον (ἐν διαλύματι κεκορησμένῳ διὰ  $\text{CO}_2$ ). Μόνον τὸ πλοῦσιον εἰς σπερματοζώαρια τμήμα τοῦ ἐκσπερματίσματος ἐχρησιμοποίηθη 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.

Λόγω τοῦ μεγάλου ὄγκου τοῦ ὄνειου καὶ ἵππειου σπέρματος, συμφέρουσα οἰκονομικῶς διατήρησις αὐτοῦ ἐν καταψύξει δὲν θὰ ἦτο 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' ἀραιωτικῶν προσφάτου παρασκευῆς.

Κατὰ τὴν διεξαγωγὴν ἀπάντων τῶν ἀνωτέρω πειραμάτων διεπιστώθη ὅτι ἡ ἀντοχὴ τοῦ ὄνειου σπέρματος εἰς τὴν κατάψυξιν εἶναι, ὅπωςδὴποτε, πολὺμεγαλύτερα ἐκείνης τοῦ ἵππειου ὅπερ συχνώτατα ἐνεφάνιζεν ἰσχυρὰν 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.

#### B I B Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- 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) : « Storage 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 to -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. J. 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.