

istotnych zabiegów przy leczeniu należy kompresowanie błony śluzowej roztworem antyseptycznym o temperaturze 50°C przez 10 minut, które poprzedza wtarcie maści z barwnikami akrydynowymi.

Piśmiennictwo:

1) Abelein: Die Bekämpfung der Trichomonadenseuche D.T.W. Nr 50 1937 r. (Streszczenie Przegląd Wet. 1938, str. 115). 2) Vereertbrugghen W., Vandeplas-

sche M. and Paredis F.: The Treatment of Trichomoniasis in Bulls. Raport of the II Inter. Congress of Animal Reproduction. Copenhagen 1952 Vol. II. str. 132-142. 3) Szaflarski J., Bielański W., Zaprzal K.: Med. Wet. Nr 10/55 str. 586-588. 4) Hoppe R.: Ustne informacje w czasie kursu zwalczania nieplodności Warszawa 1954 r.

Autor dziękuje Kolegom z W.Z.H.W. Kraków i Katowice za przeprowadzone badania popłuczyn.

HODOWLA I ZOOHIGIENA

T. OLBRYCHT i F. OLBRYCHTOWA

Odporność żywych organizmów na niską temperaturę

(Biologiczne podstawy zamrażania nasienia)

Katedra Ogólnej Hodowli Zwierząt W.S.R. Wrocław
Kierownik: Prof. dr T. OLBRYCHT

Udowodniono, że można żywe komórki oziębic do niskiej temperatury, która wstrzymuje ich aktywność biologiczną, a następnie można je podgrzać do ich temperatury fizjologicznej bez straty ich zdolności do życia.

Niektóre bakterie i organizmy niższego rzędu mogą wznowić swoją działalność fizjologiczną po odtajeniu, gdy poprzednio przechowywano je w temperaturze nawet bliskiej absolutnego zera. Zamrożone organizmy po podniesieniu temperatury do plus kilkunastu stopni lub do temperatury ciała ssaków odzyskują zdolność rozwoju i rozmnażania się.

Sposób zamrażania jest rozmaity w zależności od gatunku komórek. Niektóre bakterie, drożdże i grzyby mogą wrócić do normalnych funkcji fizjologicznych po zamrożeniu bez pozbawienia ich wody wewnątrzkomórkowej bez względu na to, czy były oziębiane szybko czy powoli. Inne organizmy, np.: krętki, rzęśistki, nitkowce, np. larwy nitkowców żyjące we krwi i nicienie pasożytnicze wytrzymują powolne oziębienie do -79°C znacznie lepiej aniżeli szybkie oziębienie (3.16). Dla niektórych organizmów powolne oziębienie jest koniecznym warunkiem przetrzymania niskiej temperatury, np.: dla krwinek białych, dla aktywnych postaci nicieni (*Nematodes*), dla wrotków (*Rotifera*) i niesporczaków (*Tardigrada*).

Zamrażanie plemników

Zjawisko oziębienia organizmów do tak niskiej temperatury, w której wstrzymana jest ich biologiczna aktywność i następne przywracanie ich funkcji życiowych przez podgrzanie nie było znane w odniesieniu do plemników.

Już w XIX wieku Prevost (1840), de Quatrefages (1850) Mante-gazza (1866), Schenk (1870) i inni robili doświadczenia ze spermą wystawioną na działanie temperatury od 0° do -17° (cytowane za T. Mennem, 3, strona 64-66), do niedawna sądzono jednak, że zamrażanie niszczy plemniki. Dopiero w roku

1938 Jahn-el stwierdził, że nasienie człowieka może wytrzymać temperaturę stałego dwutlenku węgla (-79°C), a Luyet i Hodapp wykazali, że plemniki żaby mogą przeżyć zamrożenie do temperatury płynnego powietrza (-192°) pod warunkiem, że są zmieszane ze stężonym roztworem cukru (sacharozy) przed zanurzeniem ich w płynnym powietrzu.

Te i późniejsze badania innych autorów, do których należeli Shettless (1940), Shaffner (1942), Hoagland i Pincus (1942) oraz Parkes (1945) dostarczyły dalszych przekonujących dowodów do ogólnego wniosku, opracowanego w szczególności przez Luyeta i Gehenio (1940), w ich publikacji pt. „Życie i śmierć w niskiej temperaturze”, a mianowicie, że plemniki, podobnie jak pewne bakterie i niektóre wiciowce (*Flagellata*) są nadzwyczaj odporne na niską temperaturę i na witrifikację czyli zeszklenie, a zeszkłone przechodzą w odwracalny stan zupełnej nieczynności i spoczynku. Opisał to Becqerel jako „*la vie latente*” i porównał do zachowania się dobrze nakręconego zegarka, zatrzymanego przez mechaniczną przeszkodę; taki zegarek zacznie sam chodzić, gdy się przeszkodę usunie (cyt. za Mennem).

W dalszych badaniach wykazano, że plemniki, zależnie od gatunku zwierząt, wykazują duże różnice odporności na niską temperaturę. Powrót funkcji życiowych, procent odzyskania żywotności plemników u różnych gatunków jest zależny od prędkości oziębienia, od stosowania lub niestosowania rozcieńczalników i od innych dodatkowych warunków.

Np. nierozcieńczone nasienie koguta nie wytrzymuje ani szybkiego, ani powolnego oziębienia. Natomiast rozcieńczone nasienie kogutów w obecności 20% glicerolu, odzyskuje zupełną żywotność po oziębieniu i przechowaniu w temperaturze suchego lodu (10).

Plemniki wielu ssaków wykazują większą wrażliwość na szybkie oziębianie, aniżeli plemniki ptaków. Nasienie człowieka jest wyjątkiem, gdyż nawet nie rozcieńczone wytrzymuje w pewnym procencie działanie temperatury stałego dwutlenku węgla, a nawet temperaturę płynnego azotu lub płynnego helu.

Odzyskanie żywotności nasienia buhaja wymaga takiego rozcieńczalnika, który w końcowej fazie przygotowania zawiera 10% gliceryny w buforze cytrynianu sodu i żółtka jaja kurzego, jak też wymaga oziębiania w ściśle oznaczonym czasie, to jest w 30 minutach od 5°C do -30°C, a w przeciągu 3 do 4 minut od -30°C do -79°C.

Wg White, I. G., Blackshaw, A. W. i Emmens, C. W. (1954) (17) glicerol ochrania znacznie lepiej podczas zamrażania nasienie buhaja, niż nasienie tryka.

Najtrudniej przechowuje się zamrożoną spermę konia i dotychczas nie znamy zadowalającej metody zamrażania i przechowywania spermy konia. Stosuje się tu odwirowywanie plemników i powrotne ich resuspendowanie tj. przywracanie im stanu zawiesiny przez dodanie rozcieńczalnika, a mianowicie buforu fosforanowego, zawierającego 5% glukozy i 30% gliceryny. Oziębianie przeprowadza się powoli. Powoli oziębiane plemniki ogiera odzyskują po odtajaniu żywotność zaledwie w 25%, co dla celów praktycznych jest niewystarczające. Szybko oziębiane plemniki odzyskują po odtajaniu jeszcze mniejszy procent ruchliwości.

Nasienie świnki morskiej szybko mrożone bez dodatku lub z dodatkiem gliceryny nie odzyskuje ruchliwości po odtajaniu. Jeżeli jednak zamrozić nasienie świnki morskiej w rozcieńczalniku, składającym się z glukozowego buforu fosforanowego z dodatkiem 15% gliceryny a następnie powoli oziębiać do -79°C, to po odtajaniu nasienia, około 70% plemników odzyskuje żywotność.

Inne znowu wymagania ma nasienie królika. Po zamrożeniu i odtajaniu odzyskuje pełną ruchliwość tylko 30% plemników, przy czym obniżenie temperatury powinno odbywać się powoli, a ogrzanie powinno być przeprowadzone do 40°C. Nasienie królika nie znosi szybko oziębiania i plemniki szybko oziębiane giną.

Z przytoczonych przykładów wynika, że nasienie zależnie od gatunku zwierząt wymaga różnych rozcieńczalników oraz szybkiego albo powolnego oziębiania. Nie zostało więc potwierdzone zapatrywanie, że szybkie oziębianie jest najważniejszym czynnikiem warunkującym dodatni wynik przechowania nasienia w suchym lodzie. Wyników uzyskanych dla przechowywania nasienia jednego gatunku zwierząt nie można uogólniać dla wszystkich gatunków.

Według Becquerel'a (1936, 1938) głównym niebezpieczeństwem dla utajonego życia

komórki w niskiej temperaturze jest zaburzenie struktury komórkowej, które może wystąpić w strefie temperatury zamrażania z powodu separacji wody i elektrolitów od cząsteczek koloidalnych. To zaburzenie można zmniejszyć, jeżeli zamrażanie odbywa się w obecności niektórych substancji organicznych, takich jak cukier, glukoza, fruktoza, gliceryna, glikol etylowy, żelatyna, albumina i różne gумы, z których wiele używano dotychczas często do doświadczonych zamrażania i osuszającego zamrażania bakterii, drożdży, pierwotniaków i wielu innych komórek i tkanek (cyt. za Mannem) (3).

Zastosowanie wyżej wymienionych substancji do plemników jest stosunkowo nowej daty. W roku 1938 Luyet i Hodapp zaobserwowali, że plemniki żaby nie przeżywiają temperatury płynnego powietrza, ale jeżeli oziębia się je w obecności 40% cukru, to wtedy odżywa conajmniej 20% plemników. Senderson, Shaffner i Cart (1941) utrzymali przy życiu 30% plemników drobiu po zamrożeniu do -79°C: przy użyciu fruktozy. Próbę użycia glicerolu w związku z doświadczeniem nad przeżywaniem plemników żaby wykonał Rostand (1946), lecz dopiero w roku 1949 odkryli ochronne właściwości glicerolu Polge, Smith i Parkas (1949) w badaniach nad odpornością nasienia ptaków na niską temperaturę (3, 9).

Nasienie ptaków rozcieńczone w równej ilości w płynie Ringera i zeszlone w -79°C w ciągu 20 minut, a następnie szybko odtajane nie dało wyraźnego odzyskania plemników. Natomiast gdy rozcieńczono nasienie w płynie Ringera z dodatkiem 40% glicerolu, plemniki po odtajaniu odzyskały zupełną ruchliwość (3, 16).

Te obserwacje wkrótce powtórzono na nasieniu innych zwierząt, nie wyłączając spermy buhajów.

Dużą ilość krów inseminował Polge i Rowson (1952) nasieniem buhaja z glicerolem, które przechowywali w -79°C przez wiele miesięcy i uzyskali świetne wyniki zapłodnień, stwierdzili bowiem 66% zapłodnień u tak inseminowanych krów. (3, 11, 12).

Stwierdzono również, że ludzkie plemniki mrożone z glicerolem i odtajane są ruchliwe i zdolne do zapłodnienia (Bunge i Sherman 1953, cytowane za Mannem 3).

Dotychczas nie ma pewnego wytłumaczenia ochronnego oddziaływania glicerolu na nasienie. Przypuszczenie, że glicerol podnosi metabolizm plemników, Mann (2) uważa za niewystarczający powód. Wykazał bowiem w badaniach z zastosowaniem glicerolu, że w obecności cukru glicerol nie podnosi zużycia tlenu. Natomiast bez cukru glicerol ulega utlenieniu jak to wykazał Mann i White (1956).

Bardziej prawdopodobnym wydaje się Mannowi, że glicerol działa ochraniająco na plemniki, zapobiegając denaturacji i zmianom w

czasie zamrażania. Glicerol bowiem już oddawna używany jest w chemii białek i enzymów jako wygodny czynnik, ustalający rozcieńczenie białek i równocześnie mający zdolność zabezpieczenia go przed denaturacją na skutek zmian temperatury.

Teoretyczne interpretacje procesu zamrażania żywych komórek i tkanek

Hipotezy tłumaczące przyczyny niszczenia żywych komórek przez zamrażanie i odtajanie, jak również wyjaśniające możliwość przeżywania komórek zamrożonych bez zatury ich właściwości biologicznych nie wyjaśniły dotychczas wystarczająco tego zagadnienia.

Luyet i Gehenio (3) przypuszczają, że zachowanie zdolności życia w niskich temperaturach zależy u jednych gatunków od utraty wody wewnątrzkomórkowej i zupełnego odwodnienia (dehydratacji), a u innych organizmów, zamrażanych w stanie wilgotnym — od niewytwarzania się kryształków lodu na skutek szybkiego oziębiania i „zeszklenia“, to jest przejścia w formę bezpostaciową. Według tych badaczy, wiele komórek, np. plemniki buhaja nie znoszą zupełnego odwodnienia. Natomiast zamrożone w odpowiedni sposób przechodzą w stan szklisty, który w ścisłym tego słowa znaczeniu jest stanem bezpostaciowym. Szkło bowiem w swojej mikrostrukturze jest substancją nieuporządkowaną, gdyż składa się z cząsteczek ustawionych bezładnie (nieuporządkowanych względem siebie). Uporządkowanie następuje podczas starzenia się szkła.

Podobny proces może zachodzić w białku, np. przy gwałtownym oziębianiu plemnika.

Odpowiednio przygotowany i gwałtownie oziębiony plemnik ulega zeszkleniu a jego substancja (plazma) przybiera strukturę podobną do struktury szkła. Kryształki lodu jakie powstały we wnętrzu plemnika są niezmiernie małe i nieuporządkowane wskutek czego nie wywierają, jak można przypuszczać, niszczącego działania na strukturę białka plemnika.

Gdy jednak zastosować powolne oziębianie plemników, wówczas kryształy lodu mają czas wzrósć do dużych rozmiarów, niszcząc nieodwracalnie strukturę białka. Samo bowiem białko, jak wiadomo, posiada pewien stopień uporządkowania cząsteczek, czyli pewnego rodzaju strukturę krystaliczną (liquid crystal), nawet jeżeli jest w stanie półpłynnym.

Najprostszym wytłumaczeniem więc niszczącego działania zamrożonych komórek jest hipoteza, według której tworzą się w czasie zamrażania pozakomórkowe i wewnątrzkomórkowe kryształki lodu, występujące w większej objętości, aniżeli wynosiła poprzednio tam znajdująca się woda. Niszczą one komórki przez ucisk, rozciąganie, przemieszczenie, a nawet rozer-

wanie ich, podczas gdy tworzenie się lodu wewnątrzkomórkowego uszkadza nieodwracalnie mikroanatomie komórek.

Na podstawie tej hipotezy sądzono, że uszkodzenia można uniknąć przez takie oziębianie komórek, które zapobiega lub zmniejsza tworzenie się kryształów lodu. Próbowano w tym celu dwa sposoby zamrażania. Pierwszy — to jaknajszybsze oziębianie, tak, aby woda jaknajszybciej przebyła strefę temperatury, w której wykrystalizowanie najłatwiej występuje, to jest —10 do —40°C. Wtedy woda nie ma czasu na wykrystalizowanie ale raczej ulegnie witrifikacji (zeszkleniu). Ten sposób oziębiania można uzyskać przez umieszczenie materiału w gazach płynnych w temperaturze bliskiej —200°C. Ważny jest również sposób przeprowadzenia odtajania dlatego, że ze stanu witrifikacji badany materiał znów przechodzi w niebezpieczną strefę, gdy w czasie podnoszenia temperatury odtajanie przedłuża się w strefie tworzenia się kryształów. Drugi sposób zapobiegania tworzeniu się kryształów polega na odwodnieniu komórek przez zanurzenie zamrażanego materiału w silnych roztworach cukru lub podobnych nieszkodliwych lecz hipertonicznych roztworach.

Podana hipoteza, którą można nazwać hipotezą mechanicznych przyczyn uszkodzeń nie daje wystarczającego wytłumaczenia występowania uszkodzeń zamrażanych komórek. Dlatego hipoteza ta, jako dająca zbyt jednostronną interpretację procesów zamrażania żywych organizmów została zastąpiona innymi hipotezami, to jest hipotezą podaną przez Lovelocka i Polge'go (1954) i przez Parkesa (1956).

Okazało się, że prócz mechanicznych uszkodzeń, mogą uszkadzać i niszczyć zamrażane komórki i inne czynniki. Zamrażanym komórkom grożą dwa główne niebezpieczeństwa: 1) szok termiczny, który może wystąpić w ciepocie powyżej zera, jeżeli obniżenie temperatury jest zbyt szybkie, oraz 2) działanie letalne silnej koncentracji elektrolitów przy zbytnim zagęszczeniu soli. Sole w płynach resztkowych, gdy woda wykrystalizuje są tak silnie skoncentrowane, że stają się coraz bardziej hipertoniczne aż do osiągnięcia punktu nasycenia dla danego elektrolitu i dla danej temperatury.

A więc podczas gdy woda zamraża, komórki są wystawione na zwiększenie się koncentracji elektrolitów i na silny osmotyczny ucisk. Nie wszystkie gatunki komórek są czułe na obydwie te niebezpieczeństwa. U jednych komórek przy bardzo szybkim oziębieniu zapobiega się wprowadzie zgubnemu działaniu hipertonicznych płynów resztkowych, ale przez szybkie oziębianie niszczy je szok termiczny. Żywe organizmy innych gatunków muszą być oziębiane powoli, gdyż są wrażliwe na szok ter-

miczny, ale przy powolnym oziębianiu uszkadza je silna koncentracja elektrolitów.

Plemniki buhaja są wrażliwe na obydwie te niebezpieczeństwa. Można je jednak ochronić przed szokiem termicznym przez dodanie żółtka do rozcieńczalnika, a szczególnie jego frakcji zawierającej lecytynę. Glicerol natomiast dodany w odpowiedniej ilości ma działanie ochronne, gdyż zapobiega zwiększeniu się koncentracji elektrolitów.

Nasienie buhaja wymaga odpowiednich warunków do zamrożenia nie pozbawiającego plemników ich wartości biologicznych. Jednym z tych warunków jest zachowanie korzystnego stężenia jonów wodorowych przez zastosowanie buforu, np. cytrynianu sodu. Również takim warunkiem jest umieszczenie spermy przeznaczonej do konserwowania w roztworze wodnym gliceryny na czas tak zwanej ekwilibracji, to jest wytworzenia się stanu równowagi co do zawartości wody w białku wewnątrz komórki i na zewnątrz niej — w roztworze wodnym gliceryny. Dlatego potrzebne jest pozostawienie rozcieńczonej spermy z dodatkiem gliceryny na kilkanaście godzin w temperaturze 5°C, co zapewnia ekwilibrację. W czasie tego procesu, to jest ustalania się równowagi wyżej opisanej, plemnik zostaje częściowo odwodniony. Wpływa to korzystnie na mający po tym nastąpić proces zamrażania, gdyż zawartość wody a tym samym, mającego powstać z niej, lodu spada poniżej granicy jego szkodliwości dla zamrażanej komórki, którą w tym przypadku jest plemnik. Dodatek zaś glicerolu zapobiega szkodliwej koncentracji elektrolitów.

Czerwone ciała krwi człowieka są wrażliwe na silną koncentrację elektrolitów, ale stosunkowo odporne na szok termiczny i mogą być szybko zamrażane.

Komórki, które są wrażliwe na szok termiczny, ale odporne na wysoką koncentrację elektrolitów mogą być zamrażane powoli bez wyraźnego uszkodzenia.

Koncentracja elektrolitów, ponad którą występuje nieodwracalne uszkodzenie komórek, jest różna i charakterystyczna dla poszczególnych gatunków organizmów. Ochronna działalność glicerolu polega na zdolności zapobiegania koncentracji soli ponad ten niebezpieczny poziom. Z początku sądzono, że ochronne działanie glicerolu zapobiega formowaniu się kryształów lodu. Badania mikroskopowe (Smith, Polge i Smiles 1951) wykazały, że obecność glicerolu nie zapobiega tworzeniu się kryształów lodu, a tym samym wykrywalizowaniu wody przy wymrażaniu soli. Obecność glicerolu zdaje się jednak wpływać na zmianę kształtu kryształów i na pewno zwiększa odstęp między nimi. Siateczkowata struktura zamrożonego roztworu glicerolu ułatwia konserwowanie w nim komórek, gdyż w półpłynnych przestrzeniach komórki mogą schro-

nić się przed kryształkami lodu. W każdym razie komórki muszą przepuszczać glicerol. Komórki nie przepuszczające glicerolu nie dadzą się przechowywać, gdyż są wystawione na zbyt silne ciśnienie osmotyczne z zewnątrz.

Użycie glicerolu pozwala również przeprowadzać zamrażanie na tyle powoli, aby uniknąć szoku termicznego, bez narażenia komórek na śmiertelną dla nich koncentrację elektrolitów. Ta własność glicerolu jest właściwa również wielu innym neutralnym płynom hipertonicznym, lecz nie zostało zbadane, które są bardziej efektywne w stosunku do toksyczności.

Badania nad plemnikami zwróciły uwagę na możliwość przechowywania *in vitro* komórek jajowych. Narazie napotyka się na duże trudności techniczne.

Są prowadzone próby nad przechowywaniem i wszczepianiem jeszcze nie segmentowanych zygot królików. Na 600 komórek jajowych, u których stosowano zamrażanie do -79°C z glicerolem lub do -190°C tylko 6 następnie uległo podziałowi (Smith). W każdym razie badania te wyświetliły dwie nowe zasady, to jest, że aby uniknąć efektów osmotycznych glicerolu trzeba stopniowo dodawać go do komórek, jak również stopniowo usuwać go z nich i że ekwilibrację będzie można przeprowadzać szybciej, a dzięki temu uzyskiwać mniej uszkodzeń, w temperaturze $+37^{\circ}\text{C}$, niż w temperaturze pokojowej.

Prócz doświadczeń z komórkami jajowymi królików przeprowadza Smith badania nad odpornością na zamrażanie komórek wieńca promienistego otaczającego komórki jajowe szczuryc. Okazało się, że użycie gliceryny z homologiczną surowicą daje lepsze wyniki, aniżeli gliceryny w roztworach solnych.

Udało się już dłużej niż rok przechowywać oocyty (Deanesly 1954, Gren, Smith, Zuckerman 1956) (8). Są prowadzone badania nad przechowywaniem innych tkanek w niskiej temperaturze. Osiągnięto pomyślne wyniki z przechowywaniem skóry królików (Billingham i Medawar 1952) (8), tkanki jąder szczurów — samców (Parkes i Smith 1954) tkanki nadnerczy, rogówki człowieka (Eastcott, Cross, Leigh i North 1954).

Praktyczne znaczenie dla hodowli zwierząt przechowywania komórek w niskiej temperaturze

Odkrycie faktu, że gliceryna zapobiega zniszczeniu nasienia w niskiej temperaturze, otworzyło drogę do badań nad możliwością zapładniania spermą mrożoną i przez długi czas przechowywaną.

Rowson i Polge (14) wykazali, że mrożone nasienie buhaja zapładnia krowy i daje

jako wynik normalnie urodzone i rozwijające się cielęta. Przy tym nie stwierdzono wyraźnego zmniejszenia się zdolności zapłodnienia nasienia mrożonego, przechowywanego przez 12 a nawet 24 miesiące. Natomiast okazało się, że można zwiększyć procent rozcieńczenia i zamiast w praktyce stosowanego dotychczas rozcieńczenia 1:4, można otrzymać tak samo dobre wyniki przy rozcieńczeniu w stosunku jedna część nasienia na 40 części rozcieńczalnika, a nawet w stosunku 1:100.

Z roku na rok technika zamrażania, przechowywania i transportu na duże odległości jest doskonała i daje coraz lepsze wyniki. Już w roku 1952 technika przechowywania spermy w niskiej temperaturze została na tyle udoskonalona, że w następnych latach zastosowano tę metodę w praktyce na dużą skalę w stacjach inseminacji w Anglii, Holandii, Francji i USA. Metoda ta zaczyna się rozpowszechniać coraz bardziej także i w innych krajach.

Od roku 1954 prowadzi się doświadczenia w Cambridge nad transportem nasienia buhajów samolotami z Cambridge do południowej Afryki (13). Nasienie rozcieńczone jest w stosunku 1:24, zamrażane z dodatkiem 10% gliceryny i pakowane w suchym lodzie w termosach. Przewożona w ten sposób sperma nie traci żywotności i pozwala uzyskać 66,7% zapłodnień. Część nasienia zostaje zużyta do inseminacji natychmiast po przywiezieniu, a pozostałą część przechowuje się bez utraty żywotności nawet przez okres 3—4 miesięcy.

Osiągnięty postęp w technice konserwowania nasienia ma ogromne znaczenie dla dalszego rozwoju inseminacji, ułatwia bowiem selekcję reproduktorów na podstawie wartości użytkowej ich potomstwa, jak również może się

przyczynić do rozwoju naukowych badań z zakresu dziedziczności.

Nowy sposób przechowywania nasienia ułatwia przewożenie nasienia na duże odległości, do wszystkich stron świata. Może to mieć duże znaczenie gospodarcze dla hodowli bydła w Polsce, gdyż kosztowny i ryzykowny ze względu na aklimatyzację import buhajów można będzie zastąpić tańszym, mniej kłopotliwym, a równie skutecznym w wynikach importem konserwowanego w niskiej temperaturze nasienia.

Piśmiennictwo:

- 1) Brugman H. H., Poore M. E., and Diokey H. C.: 1955. Equipment for Field Handling Frozen Semen. J. Dairy Sc. Dr 12.
- 2) Lovelock I. E., and Polge C.: 1954. The Immobilization of Spermatozoa by Freezing and Thawing and the Protective Action of Glycerol. Bioch. Journ. Vol. 53. p. 618.
- 3) Mann T.: 1954. The Biochemistry of Semen. London: Methuen & Co. LTD.
- 4) Mann T., a. White I. G.: 1956. Metabolism of Glycerol, Sorbitol and Related Compounds by Spermatozoa. Nature Vol. 178 pp. 142—148.
- 5) Mann T. a. Lutwak-Mann C.: 1955. Biochemical Changes Underlying the Phenomenon of Cold-Shock in Spermatozoa Estrato dall Archivio di Scienze Biologiche, Vol. XXXIX. Bologna.
- 6) Olbrycht T.: 1956. Inseminacja bydła nasieniem przechowywanym w bardzo niskiej temperaturze. Przegl. Hod. nr II, str. 44—46.
- 7) Olbrycht T.: 1956. Technika długotrwałego przechowywania nasienia buhaja w suchym lodzie. Med. Wet. Dr. 12 str. 717—719.
- 8) Parkes A. S.: 1956. Preservation of Living Cells and Tissues at Low Temperatures. Plenary Papers III International Congress on Animal Reproduction. Cambridge pp. 69—75.
- 9) Polge C., Smith A. U., nad Parkes A. S.: 1949. Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at low Temperatures. Nature, Vol. 164 October 15.
- 10) Polge C.: 1951. Functional Survival of Fowl Spermatozoa after Freezing at -79°C . Nature, Vol. 167, p. 949. June 9.
- 11) Polge C., Rowson L. E. A.: 1952. Fertilizing Capacity of Bull Spermatozoa after Freezing at -79°C . Nature, Vol. 169 p. 626. April 12.
- 12) Polge C., and Lovelock I. E., 1952. Preservation of Bull Semen at -79°C . Vet. Record 64. 396.
- 13) Rensburg S. W. I., and Rowson L. E. A.: 1954. The Fertilizing Capacity of Frozen Bull Semen after Long Distance Aerial Transport. Vet. Record. 66. 385.
- 14) Rowson L. E. A., and Polge C.: 1953. Storage of Bull Semen at -79°C and Fertility Results for up to 12 Months. Vet. Record 65. 677.
- 15) Roy A., and Bishop M. W. H.: 1954. Effect of Glycine on the Survival of Bull Spermatozoa in Vitro. Nature, Vol. 174 p. 746.
- 16) Smith A. U. and Polge C.: 1950. Survival of Spermatozoa at Low Temperatures. Nature, Vol. 166. p. 668.
- 17) White I. G., Blackshaw A. W. and Emmens C. W.: 1954. Australian Veter. Journal, 30, 85.

TADEUSZ BAK, LESŁAW LEWANDOWSKI

Mieszanki pasz treściwych stosowane w Polsce w świetle analiz botanicznych

Z Katedry Paszoznawstwa W.S.R. we Wrocławiu
Kierownik: Prof. Dr BRONISŁAW JANOWSKI

Coraz częściej stosuje się w żywieniu zwierząt gospodarskich pasze treściwe w formie mieszanek. W ostatnich latach mieszanki pasz treściwych produkowane przez przemysł państwowy stanowią blisko czwartą część wszystkich pasz treściwych w Polsce.

Mieszanie pasz treściwych daje w praktyce duże korzyści zarówno produkcyjne, jak też ekonomiczne. Pasze treściwe, zwłaszcza pochodzenia roślinnego, skarmiane pojedynczo nie posiadają białka pełnowartościowego, to znaczy zawierającego wszystkie kwasy aminowe, konieczne do budowy białka zwierzęcego. Również pod względem zawartości soli mineralnych

i niektórych witamin wykazują pasze stosowane pojedynczo pewne niedobory, względnie braki.

Odpowiednie zestawienie pasz treściwych pod względem zawartości białka, powoduje, że mieszanka jako całość posiada białko zbliżone do biologicznie pełnowartościowego, które jest lepiej wykorzystywane przez organizm zwierzęcy. Strawność pasz treściwych w mieszance jest naogół wyższa niż strawność poszczególnych składników podawanych oddzielnie. W zależności od składu mieszanki można też regulować zawartość składników mineralnych i witamin.