Ришко Николай Николаевич

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПРОФЕССОРА И. В. СМИРНОВА В КОНТЕКСТЕ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ТЕОРИИ ГЛУБОКОГО ОХЛАЖДЕНИЯ СПЕРМЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

На основе анализа литературных и архивных источников освещены основные вехи становления и развития теории глубокого охлаждения спермы сельскохозяйственных животных. Обобщен теоретический вклад профессора И. В. Смирнова в открытие способности сперматозоидов сохранять биологическую полноценность и генетическую информацию после замораживания и давать полноценное потомство. Определены перспективные направления использования его научных достижений в современной селекции и сохранении отечественного генофонда.

Адрес статьи: www.gramota.net/materials/1/2014/3/42.html

Статья опубликована в авторской редакции и отражает точку зрения автора(ов) по рассматриваемому вопросу.

Источник

Альманах современной науки и образования

Тамбов: Грамота, 2014. № 3 (82). С. 149-151. ISSN 1993-5552.

Адрес журнала: www.gramota.net/editions/1.html

Содержание данного номера журнала: www.gramota.net/materials/1/2014/3/

© Издательство "Грамота"

Информация о возможности публикации статей в журнале размещена на Интернет сайте издательства: www.gramota.net

Вопросы, связанные с публикациями научных материалов, редакция просит направлять на адрес: almanac@gramota.net

УДК 636.082:001:929
Исторические науки и археология

На основе анализа литературных и архивных источников освещены основные вехи становления и развития теории глубокого охлаждения спермы сельскохозяйственных животных. Обобщен теоретический вклад профессора И. В. Смирнова в открытие способности сперматозоидов сохранять биологическую полноценность и генетическую информацию после замораживания и давать полноценное потомство. Определены перспективные направления использования его научных достижений в современной селекции и сохранении отечественного генофонда.

Ключевые слова и фразы: животноводство; воспроизводство стада; морфология сперматозоидов; биотехнология; разведение сельскохозяйственных животных.

Ришко Николай Николаевич
Главный командный центр Вооруженных Сил Украины, г. Киев
rishkon@ukr.net

ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ ПРОФЕССОРА И. В. СМИРНОВА В КОНТЕКСТЕ СТАНОВЛЕНИЯ И РАЗВИТИЯ ТЕОРИИ ГЛУБОКОГО ОХЛАЖДЕНИЯ СПЕРМЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ©

В развитие биотехнологии сельскохозяйственных животных весомый вклад внес известный отечественный ученый, доктор биологических наук, профессор И. В. Смирнов (1911-1993). С его именем связана разработка метода и технологии длительного хранения спермы животных. Это открытие стало основой максимального использования лучших производителей и передачи их ценных качеств потомству, интенсификации процессов воспроизводства в животноводстве, разработки новых методов сохранения генофонда, получения гибридов животных, которые в естественной среде проживания не скрещиваются.

Необходимо отметить, что впервые в Советском Союзе опыты по замораживанию спермы были проведены И. И. Ивановым. Его ученики К. Н. Кржишковский и С. Н. Павлов установили способность сперматозоидов человека переносить охлаждение до -23°С в продолжение длительного времени. В 1938 г. Ф. Янель впервые применил глубокое замораживание спермы человека в стеклянных пробирках при -79°С. После 40-дневного сохранения и размораживания он обнаружил некоторое количество сперматозоидов, восстановивших подвижность. Х. Хэглунд и Г. Пинкус в 1941 г. получили до 40% живых сперматозоидов человека после их охлаждения в жидком азоте в виде эмульсии или тонких пленок и быстрого размораживания. А. Паркс в 1945 г. установил, что после охлаждения спермы до -20°С подвижность сперматозоидов человека становилась значительно хуже, чем при ее глубоком охлаждении и хранении при -79°С в течение 2-3-х суток. Американский исследователь С. Шафнер в 1942 г. сохранял сперму петухов при -79°С почти без снижения подвижности клеток. После осеменения кур спермой, которая хранилась при этой температуре в течение одного часа, было получено 48 яиц, 12 из которых были оплодотворены [5].

В 1930-40-е гг. теоретической основой метода замораживания спермы являлась гипотеза Б. Лайта, состоявшая в том, что при замерзании биологических объектов происходит кристаллизация содержащейся в них воды. Образующиеся при этом кристаллы льда повреждают протоплазму клеток, ее коллоиды вследствие вымерзания теряют связанную воду, денатурируются и погибают. Эти явления исчезают при некристаллическом, стекловидном затвердении (витрификации) биологических объектов. Б. Лайт считал, что при быстром охлаждении объекта удается пройти опасную зону кристаллизации и достичь зоны витрификации, где протоплазма застывает как единое целое, без вымерзания воды и без образования кристаллов льда [7].

Гипотеза Б. Лайта не вызывала возражений со стороны исследователей 1930-40-х гг. В частности, И. В. Смирнов еще в 1947-1949 гг. замораживал сперму кролика в тонкостенных пакетиках из алюминиевой фольги и наблюдал возобновление движения сперматозоидов только при быстром оттаивании в теплой (38°С) воде. При медленном оттаивании в воздушной среде все сперматозоиды неизбежно погибали, что легко объяснялось с позиций гипотезы витрификации. В 1971 г. И. В. Смирнов и А. Е. Бруенко установили прямую зависимость процента оживающих после замораживания сперматозоидов от скорости оттаивания и сделали вывод, что процессы, происходящие при быстром (в виде гранул) и относительно медленном (в ампулах) замораживании не идентичны [2].

К началу 1950-х гг. английские исследователи (С. Полдж, Л. Роусон, А. Смит и др.) предложили использовать в качестве криопротектора глицерин (впервые его действие открыли отечественные ученые Н. А. Максимов в 1912 г. – на растительных объектах, А. Д. Бернштейн и В. В. Петропавловский в 1936 г. – на сперме). Введение глицерина сужало температурный интервал, в котором процессы кристаллизации происходили наиболее интенсивно. Английские ученые разработали режим относительно медленного замораживания спермы. В связи с этим появились сомнения в пользе быстрого замораживания и оттаивания, следовательно, и возможности витрификации спермы [6].

Большинство ученых считали, что кристаллизация спермы неизбежна, а сохранение жизнеспособности сперматозоидов зависит от размеров кристаллов льда: чем они меньше, тем больше шансов сохранить структуру протоплазмы и ядра клеток. Противники гипотезы о возможности витрификации ссылались на то, что в сперме содержится много воды, а чистую воду можно получать в стекловидном состоянии лишь при

© Ришко Н. Н., 2014

очень больших скоростях охлаждения. Таким образом, многочисленные факты свидетельствовали о пользе гипотезы витрификации. Однако было очевидным, что «старую» гипотезу Б. Лайта нужно дорабатывать.

Еще в 1949 г. И. В. Смирнов впервые высказал предположение о возможности одновременного протекания процессов кристаллизации и витрификации в сперме, которую замораживают. При этом внеклеточную кристаллизацию воды он рассматривал как положительный процесс, способствующий витрификации самих клеток. Его 25-летние исследования свидетельствовали о том, что данная гипотеза объясняет многие факты и может принести определенную пользу при совершенствовании методов замораживания спермы. Ее сущность заключалась в том, что при не очень быстром замораживании спермы начинается кристаллизация свободной воды в жидкой фазе спермы. Между кристаллами образуется концентрированный раствор сахара и соли, под действием которого из клеток извлекается свободная вода. При таком обезвоживании сперматозоиды не погибают, они становятся менее чувствительными к осмотическим сдвигам при низкой температуре, чем при температуре выше нуля. Потеря свободной воды делает менее вероятным образование кристаллов льда внутри клеток и способствует витрификации протоплазмы. Данная гипотеза объясняет, почему при быстром замораживании спермы почти все сперматозоиды погибают, а при некотором замедлении охлаждения результаты значительно улучшаются. В этих случаях соотношение между процессами кристаллизации жидкой фазы, обезвоживания клеток и их витрификации приближается к оптимальному [2].

И. В. Смирнов установил, что оптимальная температура для замораживания спермы на фторопластовой пластине меняется в зависимости от объема гранулы. Чем меньше ее объем, тем выше должна быть температура пластины, и, наоборот, при большем объеме гранулы скорость замораживания следует увеличивать.

Еще в 1947-1950 гг. он обосновал, что на результаты замораживания влияет концентрация сперматозоидов в разбавленной сперме. При одинаковых степенях разбавления сперма с большей концентрацией сперматозоидов замораживалась хуже, чем менее густая. Эти данные также получили некоторое подтверждение в опытах М. И. Лопатко. При относительном увеличении объема межклеточной среды кристаллизация воды в ней ускорялась, и это способствовало выходу из сперматозоидов свободной воды [5].

И. В. Смирнов установил, что роль осмотических явлений в физиологии сперматозоидов чрезвычайно велика, что не всегда учитывается в практике искусственного осеменения. Осмотическое давление спермы производителей даже одного вида может колебаться в достаточно широких пределах. Между тем синтетические среды для разбавления спермы готовятся по стандартным рецептам и, следовательно, должны иметь постоянное осмотическое давление. Он считал необходимым наличие 2-3-х сред с различным осмотическим давлением для разбавления эякулятов, различающихся по данному показателю. С этой целью он рекомендовал комплектовать станции искусственного осеменения надежными приборами для быстрого определения осмотического давления в малых объемах спермы [3].

Проведенными под его руководством исследованиями В. М. Кушнира в 1974 г. было подтверждено предположение о достаточно быстрых изменениях осмотического давления спермы после ее получения, которые могут еще больше увеличить разрыв между осмотическим давлением разбавителя и спермы. Это позволило подойти по-новому к выяснению осмотического действия глицерина при разведении и замораживании спермы [5].

В последующем Е. М. Платовым была выдвинута гипотеза о том, что глицерин снижает степень диссоциации солей и таким образом уменьшает осмотическое давление разбавителей для спермы. Исходя из этого, он разработал «компенсированный» рецепт среды с полуторным (против нормы) содержанием солей и сахаров. При введении в такую среду глицерина осмотическое давление, по мнению ученого, должно было приближаться к нормальному. Однако экспериментальная проверка этой гипотезы, проведенная в 1963 г. И. В. Смирновым, показала, что осмотические изменения в разбавленной сперме не укладываются в рамки его гипотезы. В частности, он выяснил, что желток имеет более сильное воздействие, чем глицерин, хотя о его свойствах уменьшать диссоциацию солей до этого известно еще не было. Таким образом, своими исследованиями он установил роль желтка как своеобразного «осмотического буфера».

Необъяснимым оставалось и другое важное обстоятельство. Судя по результатам криоскопических исследований, глицерин должен был создавать в разбавителях значительное дополнительное осмотическое давление, вследствие чего разбавители (особенно «компенсированные» по Е. М. Платову) становились гипертоническими средами, в которых сперматозоиды должны быстро погибать. Но, как показали опыты И. В. Смирнова, фактически этого не происходило [3].

Основываясь на данных фактах, он провел экспериментальные исследования, результатом которых стало формулирование гипотезы, объяснявшей осмотические явления, происходящие в присутствии глицерина в разбавленной сперме, а также механизм действия «компенсированных» сред. Ученый доказал, что при разработке рецептов разбавителей необходимо подбирать такое соотношение между глицерином и другими осмотически активными веществами, чтобы осмотический градиент между клеткой и средой был наименьшим [1].

Все методы замораживания спермы предусматривали ее адаптацию и эквилибрацию в течение различных промежутков времени. Под адаптацией он понимал замедленное охлаждение спермы до температуры -5°С, при которой сперматозоиды переходят в состояние неполного анабиоза и легче переносят осмотические сдвиги, возникающие при замораживании, чем в том случае, когда обменные процессы происходят на высоком уровне. Кроме того, при глубоком охлаждении, начиная от нулевой температуры, уменьшается опасность холодового удара, поскольку сокращается время пребывания спермы в жидком состоянии при температурах ниже 0°С [6].

Ученый раскрыл особенности эквилибрации спермы, под которой понимал уравновешивание не только глицерина, но и других осмотически активных веществ. Он считал устаревшими представления о необходимости длительной эквилибрации (18-20 ч), рекомендовал более короткие сроки адаптации и эквилибрации спермы (3-4 ч) и доказал, что действие глицерина на сперматозоиды различных видов животных может быть неодинаковым [7].

Благодаря научным исследованиям И. В. Смирнова были разработаны производственные технологии криоконсервации, длительного хранения и использования замороженной спермы производителей в условиях крупномасштабной селекции. Методы разведения и гибридизации в животноводстве получили новые возможности при увеличении эффективности традиционных методов. В селекционный процесс вовлекались генетические ресурсы фактически всех стран мира. Сохранение генофонда в животноводстве получило надежный и достаточно простой способ криоконсервации генетической информации, в результате стали реальностью не только рекультивация утраченных ранее форм жизни, но и создание новых генетически модифицированных объектов.

Таким образом, И. В. Смирнов впервые разработал быстрый метод замораживания и размораживания спермы производителей сельскохозяйственных животных, предложил подходы к эквилибрации половых клеток, замораживанию и размораживанию спермы, а также другие технические приемы, развил теорию перехода воды в стекловидную форму, обеспечившую сохранность внутриклеточных структур. Открытие не известной раньше способности сперматозоидов сохранять биологическую полноценность и генетическую информацию после замораживания стало основой становления науки о морфологии и морфогенезе сперматозоидов производителей сельскохозяйственных животных, способствовало развитию новых направлений в теории и практике селекции животных.

Список литературы

1. **Бородай І. С.** Теоретико-методологічні основи становлення та розвитку вітчизняної зоотехнічної науки: монографія. Вінниця, 2012. 416 с.
2. **Вінничук Д. В.** Класик зоотехнії // Науковий подвиг І. В. Смирнова: до 90-річчя від дня народження видатного вченого-біолога. К., 2001. С. 39-44.
3. **Зубець М. М., Бородай І. С.** Київська дослідна станція тваринництва «Терезине»: історія, здобутки, вчені. Вінниця, 2011. 208 с.
4. **Смирнов И. В.** Влияние глицерина и гипертонических растворов на переживаемость спермиев быков-производителей // Увеличение производства продуктов животноводства. К., 1963. С. 42-52.
5. **Смирнов И. В.** К теории глубокого охлаждения спермы // Животноводство. 1974. № 11. С. 65-70.
6. **Смирнов И. В.** Сохранение семени сельскохозяйственных животных посредством глубокого охлаждения // Советская зоотехния. 1949. № 4. С. 93-96.
7. **Смирнов І. В.** Деякі питання теорії глибокого охолодження сперми // Племінна справа і біологія розмноження сільськогосподарських тварин: республ. міжвід. темат. зб. К., 1973. Вип. 3. С. 36-40.

PROFESSOR I. V. SMIRNOV'S ACTIVITY IN FARM ANIMALS' SPERM DEEP COOLING THEORY FORMATION AND DEVELOPMENT CONTEXT

Rishko Nikolai Nikolaevich
The Main Command Centre of the Armed Forces of Ukraine, Kiev
rishkon@ukr.net

On the basis of literary and archival sources analysis we highlight the main milestones of the formation and development of farm animals' sperm deep cooling theory. Professor I. V. Smirnov's theoretical contribution in the discovery of spermatozoons ability to preserve biological full value and genetic information after freezing and ability for eugenesis is generalized. The perspective directions of his scientific achievements use in modern selection and the national gene pool conservation are determined.

Key words and phrases: animal husbandry; flock reproduction; spermatozoons morphology; biotechnology; farm animals' breeding.

УДК 511
Физико-математические науки

В статье исследована взаимосвязь свойств множества натуральных чисел и теоремы П. Ферма. Предложено доказательство теоремы, основанное на вышеуказанных свойствах и анализе ограничений к предполагаемым решениям. Изучены роль допустимых преобразований переменных, входящих в уравнение, а также вклады отдельных составляющих в зависимости от значений характеристических величин. Расчеты подтверждают правильность хода доказательства.

Ключевые слова и фразы: теория чисел; натуральные числа; последняя теорема Ферма; ограничения на предполагаемые решения; допустимые преобразования.

Романов Вадим Николаевич, д.т.н., профессор
Национальный минерально-сырьевой университет «Горный»
vromanvpi@mail.ru

НАТУРАЛЬНЫЕ ЧИСЛА И ТЕОРЕМА ФЕРМА©

Великая (последняя) теорема Ферма была сформулирована более 300-т лет назад. Ввиду ее значимости для многих областей математики предпринимались большие, но безуспешные усилия по ее доказательству.

© Романов В. Н., 2014