

16. Hatpern M. S., Bolognesi D. P., Friis R. R.: J. Virol. 18, 504, 1976.
17. Hartley J. W., Wallace P., Rowe.: J. Virol. 19, 19, 1976.
18. Higgins D. A., Wong F. S. F.: Vet. Rec. 83, 437, 1968.
19. Higgins D. A.: J. comp. Path. 82, 87, 1972.
20. Hill R. W., Raymond R. G.: Avian Dis. 6, 226, 1962.
21. Howes J. R., Ivey V. D.: J. Am. vet. med. Ass. 144, 162, 1962.
22. Houssaint E.: J. Embryol. exp. Morph. 35, 227, 1976.
23. Janconescu M., Aharovici A., Samberg Y.: Refuah vet. 31, 100, 1974.
24. Janconescu M.: Avian Dis. 20, 135, 1976.
25. Janowska I., Rotkiewicz Z., Bogdan S.: Biul. V Zjazdu PTNW, Olsztyn 1974, s. 414.
26. Khare M. L., John Grun, Eugene V. Adams: Poul. Sci. 54, 1953, 1975.
27. Khare M. L., Grun J., Adams E. A.: Poul. Sci. 54, 2066, 1975.
28. Kraszewska-Domańska B.: Przepiórki. Warszawa, PWRiL, 1978.
29. Mikami T., Onuma M., Hayashi T. T. A.: J. gen. Virol. 22, 115, 1974.
30. Mohanty G. C., West J. L.: Avian Dis. 12, 689, 1968.
31. Onuma M., Mikami T., Hayashi T. T. A.: Arch. Virol. 50, 305, 1976.
32. Padgett C. A., Ivey W. D.: Science 192, 267, 1959.
33. Pearson G. L., Accann M. K.: J. Am. vet. med. Ass. 167, 610, 1975.
34. Purchase H. G., Burmester B. R., Cuningham C. H.: Am. J. vet. Res. 32, 1811, 1971.
35. Rauscher F. J., Rayniers J. A., Sacksteder M. R.: Nat. Cancer Inst. Monogr. 17, 211, 1964.
36. Rauscher F. J., Rayniers J. A., Sacksteder M. R.: J. Bact. 84, 1134, 1962.
37. de Rauld Y., Werner G. H.: Anals. Inst. Pasteur, Paryż, 113, 749, 1967.
38. Rayniers J. A., Sacksteder M. R.: J. natn. Cancer Inst. 24, 1405, 1960.
39. Rotkiewicz Z., Janowska I.: Zeszyty nauk. ART Olsztyn, oddano do druku 1978.
40. Rotkiewicz Z., Janowska I.: Zeszyty nauk. ART Olsztyn, oddano do druku 1978.
41. Rotkiewicz Z., Janowska I.: Zeszyty nauk. ART Olsztyn, oddano do druku 1978.
42. Rotkiewicz Z., Janowska I.: Zeszyty nauk. ART Olsztyn, oddano do druku 1978.
43. Samorek-Dziewkanowska E.: Bull. vet. Inst. Puławy 21, 10, 1977.
44. Schat K. A., Gonzales A., Solorzano E. A., Witter R. L.: Avian Dis. 20, 153, 1976.
45. Shipman C. Jr., Levine A. S.: J. Bact. 92, 161, 1966.
46. Shipman C. Jr.: The Quail Quar. 4, 71, 1967.
47. Steinberg L., Jakobleva G. S.: Vop. Virus 19, 299, 1974.
48. Waurzkiewicz J.: Medycyna Wet. 25, 405, 1969.
49. Wight P. A. L.: Vet. Rec. 75, 685, 1963.
50. Wilbor O., Wilson U. K., Abbott, Abfhenalp H.: Poul. Sci. 40, 651, 1961.
51. Vogt P. K., Moscovici C.: The Quail Quart. 2, 34, 1965.
52. Voronin E. S., Kravcenko A. T., Altstein A. D., Scekochikira E. A., Vasilieva N. N.: Vop. Virus. 13, 345, 1968.
53. Voronin E. S., Dzagurov S. G., Smirnova N. E., Morozov K. V., Elekoev K. A.: Vop. Virus. 15, 213, 1970.

Adres autora: doc. dr hab. Irena Janowska, ul. Jasna 1 m. 29, 10-427 Olsztyn.

## FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

JERZY STRZEŻEK, JADWIGA ŚMIGIELSKA, TAHA JASSIM AL-TAHA

### Wpływ różnych temperatur na uwalnianie enzymów z plemników buhaja podczas zamrażania i rozmrażania nasienia \*)

Z Zakładu Biochemii Zwierząt Instytutu Fizjologii i Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T w Olsztynie

Zamrażanie nasienia w ciekłym azocie wywierać może wpływ na strukturę i funkcję męskich komórek piciowych. Wpływ ten, pozostający w związku z gwałtownym obniżeniem temperatury środowiska, określany jest mianem udaru chładowego. W wyniku postępowania technologicznego, mimo stosowanych krwioprotektorów, dochodzić może do mechanicznego uszkodzenia plemników wskutek nagłych zmian ciśnienia osmotycznego lub też tworzenia się wokół cząsteczek białkowych „lodowcowej” otoczki hydratacyjnej. Ponadto istnieje prawdopodobieństwo zmian biochemicznych wskutek uszkodzenia błon plazmatycznych plemników, czego następstwem jest liza struktur komórkowych i uwalnianie enzymów plemnika do środowiska zewnątrzkomórkowego (5, 17).

W praktyce sztucznego unasienniania plemniki podlegają również wpływowi bardzo zróżnicowanych temperatur w związku ze stosowaniem różnych technik rozmrażania nasienia i pipet inseminacyjnych o niekontrolowanej cieplotcie. Udar chładowy, wywołany szybkimi zmianami temperatur, powodować może zmniejszenie ruchliwości plemników, zmiany w strukturach komórkowych a w efekcie końcowym obniżenie zdolności zapładniającej nasienia.

W następstwie uszkodzenia struktur komórkowych dochodzi do uwalniania z plemników stymulatorów metabolizmu komórkowego — ATP i cytochromu c (9), jonów  $K^+$  i  $Mg^{2+}$  (2, 6), enzymów mitochondrialnych — aminotransferazy asparaginianowej (GOT) i dehydrogenazy mleczanowej (LDH) (10, 11).

Wywołane udarem chładowym zmiany morfologiczne w akrosomie są przyczyną „wycie-

\*) Praca wykonana w ramach problemu resortowego Ministerstwa Rolnictwa nr 419E, koordynowanego przez Instytut Zootechniki w Krakowie.

ku” zlokalizowanych w tej strukturze komórkowej enzymów, warunkujących biochemiczny mechanizm zapłodnienia komórki jajowej (3, 7, 14).

Kontrola aktywności enzymów plemnika — hialuronidazy i aminotransferazy asparaginianowej w plazmie pozwala wnioskować o stanie błon tych komórek oraz zdolności zapładniającej nasienia (4, 10, 15).

Celem naszych badań było określenie wpływu poszczególnych etapów technologii zamrażania nasienia buhaja oraz wybranych temperatur, którym mogą podlegać próby rozmrożonego nasienia w warunkach produkcyjnych na uwalnianie enzymów z plemników oraz metabolizm nasienia.

#### Materiał i metody

Nasienie buhajów, użytkowanych w PZUZ w Olsztynie, o ruchliwości plemników 70—90%, zamrażano w ciekłym azocie zgodnie z powszechnie stosowaną technologią. Zamrożone próby przechowywano w ciekłym azocie przez okres 24 godzin. Po upływie tego czasu nasienie rozmrażano bezpośrednio w probówkach szklanych, umieszczonych w łaźni wodnej w temperaturze 37°C. Równoległe analogiczne próby nasienia rozmrażano, pozostawiając je przez 2 godziny w temperaturze 4°C.

Rozmrożone nasienie pobierano do analiz biochemicznych posługując się pipetami inseminacyjnymi, przecynowanymi w temperaturze 4°C, 20°C oraz 37°C. Pobrane próbki pozostawiano w pipetach przez 1—2 minut.

Analizy biochemiczne badanego materiału, przeprowadzane na wszystkich etapach technologii mrożenia nasienia, obejmowały następujące oznaczenia:

1. aktywności hialuronidazy w płynach nadosadowych, wg metody Barretta (1) w modyfikacji Foulkes i Watson (4),

2. aktywności aminotransferazy asparaginianowej (GOT) w płynach nadosadowych wg metody Reitmana i Frankela (12),

3. aktywności akrosyny, po ekstrakcji plemników 2% kwasem octowym wg uprzednio opisaną przez nas metodyki Schilla (16),

4. wartości współczynnika  $ZO_2$  wg manometrycznej techniki z zastosowaniem aparatu Warburga (18).

Uzyskane wyniki aktywności enzymów podano w jednostkach na  $10^9$  plemników zaś wartości współczynnika  $ZO_2$  w  $\mu l O_2$  pobranego przez  $10^8$  plemników w ciągu 1 godz. w temperaturze 37°C.

Dla uniknięcia ewentualnego „wycieku” enzymów z plemników w trakcie wirowania nasienia zastosowano niższą opisaną, sprawdzoną w naszym laboratorium, metodykę przygotowania prób do analiz biochemicznych. 0,5 ml nasienia (nierozcieńczonego lub rozcieńczonego) odwirowywano w plastikowych probówkach wirowniczych przez 15 minut w temperaturze 4°C przy  $600 \times g$ . Za pomocą pipety pasterowskiej ze smoczkiem, odciągano płyn z nad osadu (osad przeznaczano do ekstrakcji akrosyny) i po przeniesieniu go do następnej probówki wirowniczej ponownie odwirowywano przy  $10\,000 \times g$  przez 15 minut w temperaturze 4°C. Oznaczenie przeprowadzono bezpośrednio po przygotowaniu prób.

#### Wyniki i omówienie

Spośród ultrastruktur plemnika najbardziej czuły na niskie temperatury są akrosomy i

mitochondria. Wymienione struktury stanowią złożone kompleksy białek enzymatycznych, funkcjonalnie ze sobą zintegrowanych (8).

Biochemicznym sprawdzianem stanu akrosomu jest aktywność hialuronidazy oraz akrosyny — enzymów bezpośrednio zaangażowanych w procesie przenikania plemnika przez osłonki komórki jajowej (5).

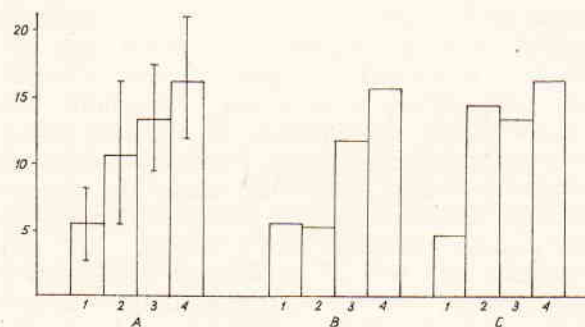
W poprzednich naszych badaniach (17) stwierdziliśmy, że w porównaniu z plemnikami knura czy tryka, akrosomy plemników buhaja charakteryzują się stabilizowaniem aktywności akrosyny w przebiegu całego procesu mrożenia nasienia, czego wyrazem był tylko nieznaczny wzrost aktywności akrosyny, ekstrahowanej z plemników w poszczególnych etapach technologicznych.

Tab. 1. Aktywność hialuronidazy ( $j/10^9$  plemników) w plazmie nasienia dwóch grup buhajów w różnych etapach technologii mrożenia nasienia

	Nasienie po ejakulacji	Etapu technologii zamrażania		
		po rozcieńczeniu	po ekwilibracji	po zamrożeniu i rozmrożeniu
Buhaje rozplodowe n = 26	$\bar{x}$ Sx V	5,35 2,64 49,30	10,50 5,46 52,00	13,23 3,98 30,10
Buhajki do 12 mies. n = 31	$\bar{x}$ Sx V	6,35 5,43 85,44	7,02 5,55 79,06	10,86 7,82 72,01
				16,24 4,57 28,10
				13,81 10,11 73,23

W tab. 1 oraz na ryc. 1 i 2 przedstawiono wyniki badań aktywności hialuronidazy na poszczególnych etapach zamrażania nasienia dwóch grup buhajów, użytkowanych w zakładzie unasienniania oraz buhajków w wieku do 12 miesięcy, których nasienie poddano wstępnej próbie mrożeniowej.

Średnia aktywność hialuronidazy w plazmie nasienia obu grup buhajów wynosiła około 6 jednostek ( $10^9$  plemników oraz 4—5 jednostek na ml plazmy).



Ryc. 1. Aktywność hialuronidazy w plazmie nasienia buhajów rozplodowych podczas poszczególnych etapów technologii mrożenia nasienia

Objaśnienia: A — średnia aktywność hialuronidazy na poszczególnych etapach mrożenia nasienia; B — zmiany aktywności hialuronidazy podczas mrożenia nasienia z niskim „wyciekem” enzymu po rozcieńczeniu; C — zmiany aktywności hialuronidazy podczas mrożenia nasienia buhajów z wysokim „wyciekem” enzymu po rozcieńczeniu; 1 — nasienie nierozcieńczone, 2 — nasienie po rozcieńczeniu, 3 — nasienie po ekwilibracji, 4 — nasienie po rozmrożeniu.

W trakcie obróbki technologicznej nasienia obserwowano „wyciek” omawianego enzymu z akrosomów plemników zaznaczający się szczególnie wyraźnie na etapie zamrażania nasienia (tab. 1). W grupie buhajów rozplodowych stwierdzono wpływ rozcieńczenia nasienia na szybkość uwalniania hialuronidazy z plemników (prawie 2-krotny wzrost aktywności enzymu w plazmie w porównaniu do wartości wyjściowych oraz stosunkowo dużą zmienność osobniczą (ryc. 1).

W przypadku nasienia buhajków stwierdzono, na wszystkich etapach technologii mrożenia nasienia, dużą zmienność osobniczą w zakresie uwalniania hialuronidazy z akrosomów plemników (tab. 1, ryc. 2). Należy podkreślić, że w grupie tej błony komórkowe plemników, niektórych z objętych obserwacjami buhajów, wydawały się szczególnie podatne na destrukcyjne działanie czynników środowiska zewnętrznego. W omawianych przypadkach stwierdzono w plazmie nasienia wysoką wyjściową aktywność hialuronidazy. Ponadto aktywność enzymu wyraźnie wzrasta w poszczególnych etapach zamrażania nasienia w ciekłym azocie (ryc. 2).

zamrażania nasienia wydaje się niezbędne, bowiem ocena mikroskopowa nasienia po rozmrożeniu nie może obecnie stanowić jedynego miernika jego wartości biologicznej. Stosunkowo prosta metodyka „testu hialuronidazy” stwarza możliwość wprowadzenia go, jako badania rutynowego, do przeciętnie wyposażonych laboratoriów biologicznych.

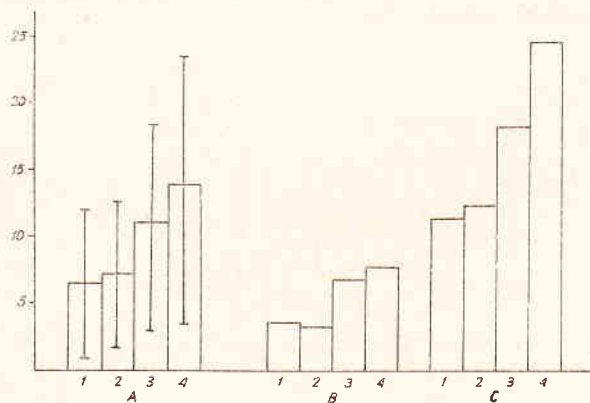
W biotechnologii nasienia warunki rozmrażania mają mniejsze znaczenie niż proces zamrażania. Tym niemniej dla zachowania w stanie nienaruszonym akrosomów, ruchliwości plemników oraz ich zdolności zapładniającej, rozmrażanie nasienia musi być przeprowadzone w miarę szybko.

W pracy punktu inseminacyjnego, zwłaszcza w miesiącach zimowych, niska temperatura otoczenia stwarzać może znaczne trudności w zachowaniu właściwych wymagań technologicznych przy rozmrażaniu dawek inseminacyjnych przed ich wprowadzeniem do dróg płciowych samicy.

Badania, które podjęliśmy dotyczyły wpływu temperatur rozmrażania nasienia oraz temperatur pipet używanych do pobierania prób na profil zmian biochemicznych w plemnikach buhaja. W związku z powyższym prowadzono kontrolę stanu akrosomów poprzez oznaczenie „wycieku” hialuronidazy i akrosyny oraz obserwowano zmiany biochemiczne we wstawce plemnika. W tym przypadku obok aminotransferazy asparaginianowej (GOT), która jest czułym wskaźnikiem stopnia uszkodzenia tej struktury plemnika (10), zasadniczą grupę białek tworzą enzymy mitochondrialne, związane z procesami oddychania i fosforylacji oksydacyjnej.

Zamrażanie nasienia powoduje zaburzenia mechanizmów akumulacji energii, wywołane głównie zakłóceniami w transporcie elektronów oraz zwolnieniem procesu fosforylacji oksydacyjnej. Zmiany te korelują z obniżeniem zużycia tlenu przez plemniki, wyrazem czego jest obniżenie wartości współczynnika  $ZO_2$  (13, 17).

W tab. 2 oraz tab. 3 przedstawiono wyniki badań w zakresie wymienionych wskaźników



Ryc. 2. Aktywność hialuronidazy w plazmie nasienia buhajków w różnych etapach technologii mrożenia nasienia

Objaśnienia: A — średnia aktywność hialuronidazy na poszczególnych etapach mrożenia nasienia; B — zmiany aktywności hialuronidazy podczas mrożenia nasienia buhajków z niskim „wyciekem” enzymu po rozcieńczeniu; C — zmiany aktywności hialuronidazy podczas mrożenia nasienia buhajków z wysokim „wyciekem” enzymu po rozcieńczeniu; 1 — nasienie nierozcieńczone, 2 — nasienie po rozcieńczeniu, 3 — nasienie po ekwilibracji, 4 — nasienie po rozmrożeniu.

Wskazywałyoby to na indywidualną nadwrażliwość lub niedojrzałość błon lipoproteinowych plemników niektórych buhajków, powodującą zapewne okresową nieprzydatność nasienia do zamrażania w ciekłym azocie.

Wprowadzenie do laboratoriów zakładów unasienniania testów kontrolujących stopień nasilenia „wycieku” enzymów akrosomowych podczas

Tab. 2. Uwalnianie enzymów z plemników po rozmrożeniu nasienia w temperaturze 37°C i pobraniu prób do analiz pipetami o temperaturze 4°C oraz 20°C. n=6

	Aktywność enzymów j/10 <sup>9</sup> plemników				
	po rozcieńczeniu nasienia	po ekwilibracji nasienia	po użyciu pipet o temperaturze		
			4°C	20°C	
GOT	$\bar{x}$	179,04	290,84	265,31	487,24
	Sx	58,86	106,72	53,01	101,33
	V	32,88	36,69	19,98	20,79
Hialuronidaza	$\bar{x}$	1,58	2,37	10,91	11,24
	Sx	0,71	1,24	1,01	1,67
	V	45,19	52,42	9,87	14,83
Akrosyna	$\bar{x}$	111,75	130,69	146,48	164,05
	Sx	28,05	16,35	21,92	29,82
	V	25,10	12,51	14,96	18,17
ZO <sub>2</sub>	$\bar{x}$	28,14	23,86	9,25	14,11
	Sx	2,74	5,09	4,06	4,03
	V	9,73	21,33	43,91	28,59

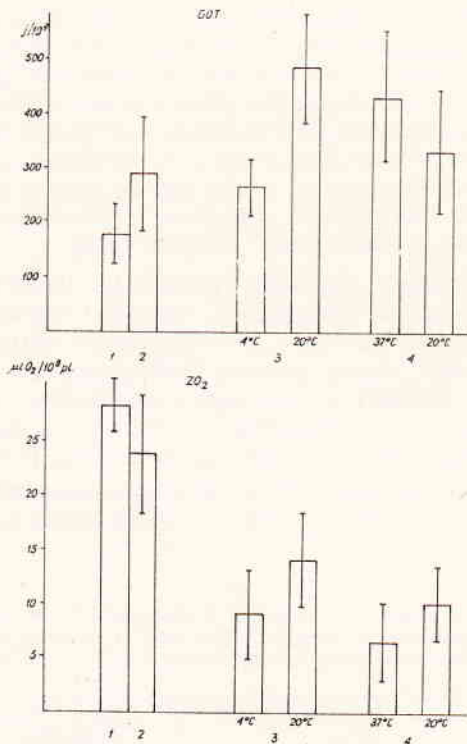
Tab. 3. Uwalnianie enzymów z plemników po rozmrożeniu nasienia w temperaturze 4°C i pobraniu prób do analiz pipetami o temperaturze 37°C i 20°C. n=6

		Aktywność enzymów j/10 <sup>9</sup> plemników			
		po rozcieńczeniu nasienia	po ekwilibracji nasienia	po użyciu pipet o temperaturze	
				37°C	20°C
GOT	$\bar{x}$	179,04	290,84	432,66	331,58
	Sx	58,86	106,72	125,81	114,22
	V	32,88	36,69	29,08	34,44
Hialuronidaza	$\bar{x}$	1,58	2,37	15,99	14,89
	Sx	0,71	1,24	6,19	3,32
	V	45,19	52,42	38,73	22,29
Akrosyna	$\bar{x}$	111,75	130,69	149,81	145,26
	Sx	28,05	16,35	21,15	20,43
	V	25,10	12,51	14,10	14,06
ZO <sub>2</sub>	$\bar{x}$	28,14	23,86	6,65	10,04
	Sx	2,74	5,09	3,36	3,48
	V	9,73	21,33	50,67	34,67

dla dwóch różnych temperatur rozmrażania nasienia.

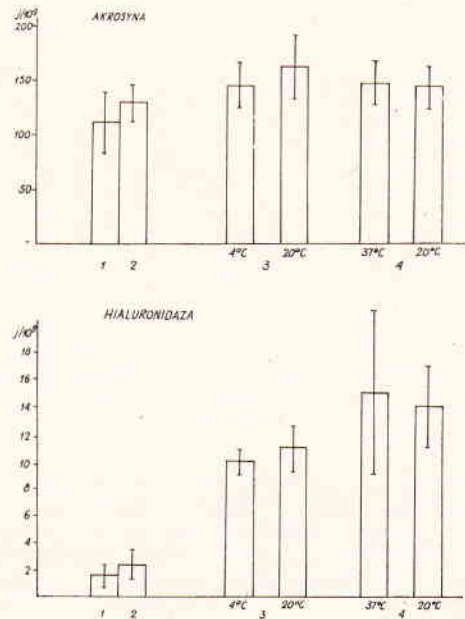
Zarówno przy temperaturze 37°C, jak i przy powolnym rozmrażaniu prób w temperaturze 4°C, stwierdza się przyspieszenie procesu uwalniania enzymów z plemników oraz spadek zużycia tlenu przez te komórki, w porównaniu do analizowanych prób nasienia po jego rozcieńczeniu.

Graficznie przedstawione wyniki badań, dotyczące wpływu stosowania pipet o różnych temperaturach na „wycieki” enzymów wskazują, że do największych zmian biochemicznych w plemnikach dochodzi wówczas, gdy rozmrażanie nasienia przeprowadza się w temperaturze 4°C i używa pipet przetrzymywanych w temperaturze 37°C (ryc. 3, ryc. 4). Obserwuje się w tym przypadku intensywny „wyciek” GOT z wstawki plemnika, hialuronidazy i akrosyny z akrosomów oraz zdecydowane obniżenie pochłaniania tlenu przez plemniki, czego wyrazem są niskie wartości współczynnika ZO<sub>2</sub>. Podobne zmiany można stwierdzić po rozmrożeniu nasienia w temperaturze 37°C i stosowaniu pipet o temperaturze 4°C. Wskazywałoby to, że omawiane układy temperaturowe doprowadzają do udaru chłodowego plemników. Umiarkowane natomiast zmiany biochemiczne w plemnikach stwierdzono w układzie powolnego rozmrażania nasienia w temperaturze 4°C i użyciu pipet o temperaturze 20°C oraz w klasycznym wariancie temperaturowym: rozmrażanie nasienia w 37°C, pipety o temperaturze 20°C. W ostatnim przypadku dochodzi jednak do intensywnego uwalniania z plemników GOT i akrosyny, przy zachowaniu wysokiego tempa metabolizmu, o czym świadczy najwyższa średnia wartość współczynnika ZO<sub>2</sub> (ryc. 3, ryc. 4).



Ryc. 3. Zmiany zawartości wybranych wskaźników biochemicznych, charakteryzujących stan funkcjonalny wstawki plemnika podczas etapów technologii mrożenia nasienia i zastosowania dwóch układów temperatur rozmrażania (próba kontrolna — nasienie po rozcieńczeniu)

Objaśnienia: 1 — nasienie po rozcieńczeniu, 2 — nasienie po ekwilibracji, 3 — nasienie po rozmrożeniu w temperaturze 37°C i zastosowaniu pipet o temperaturze 4°C i 20°C, 4 — nasienie po rozmrożeniu w temperaturze 4°C i zastosowaniu pipet o temperaturze 37°C i 20°C.



Ryc. 4. Zmiany wartości wybranych wskaźników biochemicznych charakteryzujących stan funkcjonalny akrosomu plemnika podczas etapów technologii mrożenia nasienia i zastosowania dwóch układów temperatur rozmrażania (próba kontrolna — nasienie po rozcieńczeniu)

Objaśnienia: 1 — nasienie po rozcieńczeniu, 2 — nasienie po ekwilibracji, 3 — nasienie po rozmrożeniu w temperaturze 37°C i zastosowaniu pipet o temperaturze 4°C i 20°C, 4 — nasienie po rozmrożeniu w temperaturze 4°C i zastosowaniu pipet o temperaturze 37°C i 20°C.

Uzyskane wyniki wydają się wskazywać, że gwałtowne zmiany temperatur w postępowaniu technologicznym z mrożonym nasieniem prowadzą do zaburzeń w błonach plemnika, charakteryzujących się zwiększoną przepuszczalnością dla enzymów związanych ze strukturami wewnętrznymi tej komórki. Można przypuszczać, że w tych przypadkach dochodzi do obniżenia zdolności zapładniającej nasienia.

## Piśmiennictwo

1. Barrett A. J.: Lysosomal enzymes. III Lysosomes. A. Laboratory Handbook. Ed. J. T. Dagle, North Holland, Amsterdam and London, 46, 1972.
2. Blackshaw A. W., Salsbury G. W.: J. Dairy Sci. 40, 1099, 1957.
3. Church K. E., Graves C. N.: J. Anim. Sci. 37, 304, 1973.
4. Foukkes J. W., Watson P. A.: J. Reprod. Fert. 43, 349, 1975.
5. Graham E. F., Pace M. M.: Cryobiology 4, 75, 1967.
6. Hood R. D., Foley C. W., Martin T. G.: J. Anim. Sci. 30, 91, 1970.
7. Johnson L. A., Pursel G. V.: Cryobiology 11, 538, 1974.
8. Mann T.: Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract. Methuen, London, 1964.
9. Mann T., Lutwak-Mann C.: Arch. Sci. Biol. 39, 578, 1955.
10. Pace M. M., Graham E. F.: Biology Reprod. 3, 140, 1970.
11. Pursel G. V., Johnson L. A., Gebrets R. J.: Cryobiology 7, 141, 1970.
12. Reitman S., Frankel S.: Am. J. clin. Path. 28, 56, 1957.
13. Sanford L. M., King G. J., Macpherson J. W.: Can. J. Anim. Sci. 52, 65, 1972.
14. Strzeżek J.: Medycyna Wet. (w druku).
15. Strzeżek J., Czeczot H., Glogowski J.: Materiały XVI Sesji Naukowej PTNW, Poznań 6-7.X.1977 (w druku).
16. Strzeżek J., Smigielska J., Liminowicz J., Czeczot H., Glogowski J.: Materiały XVI Sesji Naukowej PTNW, Poznań 6-7.X.1977 r. (w druku).
17. Strzeżek J., Smigielska J., Czeczot H., Taha Jassim Taha, Glogowski J., Liminowicz J.: Materiały XVI Sesji Naukowej PTNW, Poznań 6-7.X.1977 r. (w druku).
18. Umbreit W. W., Burris R. H., Stauffer J. F.: Manometric techniques, Burgess Publ. Co, Minneapolis, 1964.

Adres autora: doc. dr hab. Jerzy Strzeżek, 10-718 Olsztyn, Kortowo bl. 37, p. 230.

Стшежек Е., Сьмигельская Я., Яссим аль-Тага Т. — Влияние различных температур на освобождение энзимов из живчиков быка во время замораживания и размораживания семени.

Исследования семени молодых и используемых на государственных осеменительных станциях быков, проведенные на отдельных этапах технологии замораживания проб, показали отчетливое „исчезение” гиалуронидазы из акросом живчиков в плазме, отмечающееся в обеих исследуемых группах особенно сильно на этапе замораживания и размораживания семени, а в группе быков, используемых в племенном деле, — на этапе разбавления проб.

Наблюдаемая в плазме семени некоторых молодых быков особенно высокая активность обсуждаемого энзима может свидетельствовать о незрелости липопротеиновых оболочек живчиков и их увеличенной чувствительности к действию факторов внешней среды.

Существенное влияние на сохранение структуры и функции живчика, кажется, оказывает температура размораживания семени, как и температура инсеминационных шприцев, применяемых для взятия проб. Изменения в живчиках, определяемые размерами „исчезения” из этих клеток гиалуронидазы, акросина и GOT, а также величинами коэффициента  $ZO_2$ , были наименьшими тогда, когда пробы семени размораживали в темп.  $37^\circ C$  или  $4^\circ C$  и брали их шприцами с темп.  $20^\circ C$ . Размораживание семени в  $4^\circ C$  и применение шприцев с темп.  $37^\circ C$  (или наоборот) вели к значительному росту активности упомянутых энзимов и понижению величины коэффициента  $ZO_2$ .

Проведенные исследования указывают на необходимость введения в практику искусственного осеменения биохимических параметров оценки качества семени.

Strzeżek J., Smigielska J., Taha Jassim Al-Taba. — The influence of various temperatures on enzyme liberation from bull's spermatozoa in the course of thawing and freezing.

The sperm of young bulls and bulls in reproduction was examined on each stage of freezing technology. The studies showed a pronounced leak of hyaluronidase from acrosomes to spermatozoon plasma in the two studied groups of animals, especially intensive on the stage of thawing freezing, and in bulls in reproduction on the stage of a sperm dilution.

High activity of the enzyme observed in plasma of some young bulls may reveal immaturity of lipoprotein membranes of spermatozoons and their increased susceptibility to the influence of environmental conditions. Thawing temperature of the semen and the temperature of inseminating pipettes may influence significantly the structure and function of spermatozoons. The changes in spermatozoons, determined on the strength of hyaluronidase leak from the cells, acrosine and GOT and the value of  $ZO_2$  index, were the lowest when the semen samples were thawed at  $37^\circ C$  or  $4^\circ C$ , and when they were taken using pipettes at  $20^\circ C$ . Semen thawing at  $4^\circ C$  and using pipettes at  $37^\circ C$  (or vice versa) led to a marked increase of the activity of the plasma enzymes and a decrease of  $ZO_2$  index. The studies indicate to the necessity to introduce into practice of artificial insemination determination of biochemical parameters for qualitative evaluation of semen.

ASSAL A. N., POULSEN J. S. D.: Równowaga kwasowo-zasadowa we krwi koni w czasie jej przechowywania. (Acid base status of equine blood during storage). Nord. Vet. Med. 30, 354-363, 1978 (9).

Kształtowanie się parametrów równowagi kwasowo-zasadowej pH,  $pCO_2$ , nadmiar zasad (BE), dwuwęglanu (SBC) określono we krwi żyłnej 10 koni (6 klaczy i 4 ogiery) natychmiast po pobraniu krwi, w odstępach godzinnych przez 7 godzin oraz po 24 godzinach przetrzymywania próbek w temperaturze  $21-24^\circ C$  i  $0-4^\circ C$ . We krwi żyłnej stwierdzono obniżenie wartości pH, BE i SBC wraz z wpływem czasu oraz wzrost wartości  $pCO_2$ . Nie obserwowano zmian w zawartości hemoglobiny ( $8,91 \pm 1,53$  mmol/l Hb), hematokrytu  $0,38 \pm 0,05$ , liczbie leukocytów  $6,9 \pm 1,9 \times 10^9/l$ . Poziom kwasu mlekowego we krwi żyłnej zwiększał się z  $0,550 \pm 0,250$  mmol/l do  $3,142 \pm 0,814$  mmol/l w okresie 24 godzin przetrzymywania krwi w  $21-24^\circ C$ . W temperaturze  $0-4^\circ C$  wzrost ten wynosił  $0,594$  mmol/l.

G.

HELGEBOSTAD A., NORDSTAGA K.: Hyperwitaminoza D u zwierząt futerkowych. (Hypervitaminosis D in fur-bearing animals). Nord. Vet. Med. 30, 451-455, 1978 (10).

Wpływ dużych dawek witaminy  $D_3$  przebadano na 10 lisach srebrzystych, 17 lisach niebieskich i 35 norwakach. Witaminę podawano z karmą w dawkach 5,0; 7,0; 0,6-0,7; 10 i 15  $\mu g/kg$  wagi ciała. U lisów w okresie 60 dni obserwacji po podawaniu paszy zawierającej 5  $\mu g$  witaminy  $D_3/kg$  wagi ciała występowało jedynie przyhamowanie wzrostu. Zwiększenie dawki witaminy do 10  $\mu g/kg$  wagi ciała spowodowało po 68 i 105 dniach spadek laktowania, trudności w poruszaniu się, apatię oraz pociemnienie odchodów. We krwi wyraźnie wzrastał poziom wapnia. Złogi wapnia odkładały się w nerkach, niekiedy w mięśniach, śluzówce żołądka, oskrzelach i dużych naczyniach krwionośnych. U nerek dawka 0,6-0,7  $\mu g/kg$  wagi ciała, stosowana przez okres 5 miesięcy nie powodowała żadnych odchyleń od normy.

G.