

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ROMAN SŁAWETA*, JERZY STRZEŻEK

Pora roku a właściwości biologiczne konserwowanego nasienia knura*

* Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu, 05-561 Mroków
Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego A.R.T., 10-718 Olsztyn-Kortowo, bl. 37

Warunki bioklimatyczne środowiska wywierają istotny wpływ na płodność knurów. Wetteman i wsp. (9) utrzymując knury przez okres 90 dni w temperaturze powyżej 30°C, stwierdzili wyraźne obniżenie odsetka plemników ruchliwych oraz wzrost liczby plemników z anormalnymi akrosomami. Powyższe zmiany korelowały ze spadkiem wskaźnika niepłodności oraz nasileniem zamieralności zarodkowej. Również inni autorzy (1, 4) wykazali, że kilkudniowe wysokotemperaturowe stresy mogą oddziaływać na jakość nasienia knurów. Z kolei Paquignon i Courot (5) obserwowali znacznie lepsze wskaźniki jakościowe rozmrożonego nasienia knura w okresie zimowym aniżeli w lecie. Podobne rezultaty badań uzyskali Strzeżek i wsp. (6) w przypadku zamrażania nasienia metodą „Kortowską”.

Celem badań było określenie wpływu pory roku na przydatność ejakulatów knura do konserwacji w temperaturach dodatnich.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na ejakulatach uzyskanych od knurów użytkowanych w stacji unasienniania loch. Pobierano gęstą frakcję plemnikową.

Analiza laboratoryjna dotyczyła oceny zmian ruchliwości plemników oraz morfologii ich akrosomów. W zakresie wskaźników biochemicznych obserwowano „wyciek” z plemników aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) i hialuronidazy (HL). Stosowane metody opisano w poprzednich pracach (7, 8).

W przypadku nasienia świeżego obserwacją objęto 190 ejakulatów uzyskanych w okresie roku od

43 knurów rasy pbz oraz 64 ejakulatory pobrane od 16 knurów rasy wbp. Natomiast badania dotyczące wpływu pory roku na zakres zmian właściwości biologicznych konserwowanych plemników przeprowadzono na 218 ejakulatach (163 od knurów rasy pbz oraz 55 od knurów rasy wbp). Ejakulatory rozrzedzono rozcieńczalnikiem Kiev w takim stosunku, aby otrzymać dawki inseminacyjne o objętości 100 cm³ i liczbie plemników ruchliwych 4×10⁹.

Określenia stanu akrosomu oraz aktywności „uwalnianych” z plemników aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) oraz hialuronidazy (HL) wykonywano w następujących przedziałach czasowych: do 12 h (jako etap po rozrzedzeniu), po 24 — 36 h oraz po 48 — 60 h konserwacji nasienia.

Dla oceny istotności wpływu pory roku oraz rasy knurów i czasu przechowywania nasienia zastosowano metodę analizy wariancji dwu i trzyczynnikowej w układzie nieortogonalnym. Istotność różnic między średnimi wyliczono na podstawie wielokrotnego testu rozstępu według Duncan.

Wyniki i omówienie

Wartości średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych dla analizowanych cech nasienia świeżego z uwzględnieniem rasy knurów przedstawiono w tab. 1. Uzyskane wartości wskaźników jakości nasienia oraz aktywności analizowanych enzymów nie odbiegały od normy charakterystycznej dla frakcji plemnikowej knura. Przeprowadzona analiza wariancji nie wykazała istotnego wpływu rasy knura na uzyskiwane cechy nasienia. Tym niemniej pozwoliła stwierdzić statystycznie istotny wpływ pory roku na jakość nasienia knurów.

Jak wynika z danych zawartych w tab. 2 najwyższą koncentrację plemników obserwowano w okresie jesieni. Różniła się ona zdecydowa-

Tab. 1. Charakterystyka ejakulatów knurów rasy pbz oraz wbp

Rasa	Koncentracja plemników (×10 ³)	Objętość ejakulatów (cm ³)	Ruchliwość plemników (%)	Plemniki normalne (%)	Morfologia akrosomów (%)			Aktywność (mU/10 ⁹)		
					normalne	lekko uszkodzone	pęcherzykujące	HL	AspAT	
PBZ n=190	\bar{x}	401,07	249,25	74,24	78,14	90,07	3,30	6,63	0,49	44,62
	s	160,89	98,51	5,06	17,07	8,15	2,95	7,20	0,29	33,78
WPB n=64	\bar{x}	395,78	232,65	73,43	74,20	90,27	3,03	6,70	0,43	43,15
	s	148,33	77,52	4,78	19,06	8,84	1,99	8,31	0,25	35,09

*Praca została wykonana w ramach problemu MR.II.10. „Fizjologia i patologia rozmnażania i okresu neonatalnego jako podstawy wzrostu produkcji zwierzęcej”.

Tab. 2. Zmiany jakości nasienia knurów w różnych porach roku

Pora roku	Konce ntra cja plem ników ($\times 10^3$)	Objętość ejakulatów (cm^3)	Ruchliwość plemników (%)	Plemniki normalne (%)	Akrosomy (%)			Aktywność ($\text{mU}/10^9$)		
					normalne	lekko uszkodzone	pęche rzykuja ce	HL	AspAT	
Zima n=65	\bar{x}	C, D 340,51	B, C 277,07	C 74,84	C 79,25	b, c 92,01	a, D 3,93	B, D 4,06	B, D 0,58	B 49,23
	s	151,49	96,67	5,03	15,65	4,65	2,88	3,30	0,31	35,21
Wiosna n=66	\bar{x}	B 374,30	a, B 231,23	a 74,15	B 81,54	a, D 91,96	b, c 3,79	A, C 4,25	A, C 0,55	A 51,70
	s	167,00	92,08	4,96	13,74	4,88	3,32	3,26	0,27	36,14
Lato n=65	\bar{x}	a, D 410,00	C, D 208,63	a, B 72,12	a 77,17	a, b 88,32	C, D 2,75	B, C 8,93	A, B 0,40	42,52
	s	153,85	82,47	4,11	16,99	10,99	2,32	9,96	0,20	33,45
Jesień n=58	\bar{x}	a, B, C 472,67	a, D 265,69	B 75,17	a, B, C 70,15	C, D 87,86	a, b 3,39	A, D 8,75	D, C 0,35	A, B 32,22
	s	126,23	88,95	5,37	22,15	10,13	1,93	9,34	0,28	27,70

Objaśnienie: średnie w kolumnach oznaczone tymi samymi literami różnią się istotnie: — dużymi literami przy $p \leq 0,01$, — małymi literami przy $p \leq 0,05$.

Tab. 3. Wskaźniki jakościowe oraz aktywność enzymów nasienia knura rasy pbz i wbp przechowywanego do 60 h w rozcieńczalniku Kiev

Rasa	Ruchliwość plemników (%)	Akrosomy (%)			Aktywność ($\text{mU}/10^9$)		
		normalne	lekko uszkodzone	pęcherzy kujące	HL	AspAT	
PBZ n=163	\bar{x}	A 48,96	73,98	8,99	17,03	0,86	214,88
	s	19,07	15,17	7,36	11,77	0,60	155,78
WBP n=55	\bar{x}	A 41,92	75,02	9,06	15,92	0,93	236,69
	s	21,50	14,15	7,41	10,30	0,65	165,28

Objaśnienie: A istotność przy $p \leq 0,01$.

nie od wartości uzyskanych w zimie oraz na wiosnę. W okresie zimowym nasienie knurów charakteryzowało się najniższą koncentracją plemników, natomiast objętość frakcji plemnikowej była najwyższa. Odsetek plemników ruchliwych najniższy był w lecie i różnił się statystycznie istotnie w porównaniu z okresem zimowym i jesiennym oraz istotnie w porównaniu z okresem wiosennym. Z kolei najwyższy odsetek plemników z normalnymi akrosomami wykazano w zimie.

Najwyższą aktywność AspAT w plazmie nasienia stwierdzono w okresie wiosny, zaś HL w okresie zimowym. W tym ostatnim przypadku aktywność hialuronidazy korelowała z odsetkiem plemników z akrosomami lekko uszkodzonymi. Zjawisko powyższe może być związane z osobniczo uwarunkowaną sezonową zmiennością stabilności błon plazmatycznych plemników. Wyniki badań są zgodne z obserwacjami Knolla i Kastyaka (13) oraz Ilinskiej i Antoniuka (2). Wymienieni autorzy stwierdzili bowiem istotne osłabienie funkcji jąder knurów w okresie lata oraz powrót do normy w

okresie wiosennym i jesiennym. Przedstawione natomiast w tab. 1 wartości cech nasienia mogą stanowić charakterystykę nasienia z normospermją dla knurów ras krajowych, użytkowanych w warunkach stacji unasienniania. Sezonowa zmienność jakościowych cech nasienia świeżego wskazuje zarazem na możliwość występowania różnicowanej porą roku przydatności plemników do konserwacji.

Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 3, w porównaniu z próbami nasienia świeżego, niezależnie od rasy knurów stwierdza się, że w czasie 60 h konserwacji nasienia wyraźnie obniża się odsetek plemników ruchliwych, jak również następuje intensywny „wyciek” enzymów plemnikowych. Analiza wariancji (tab. 5) potwierdziła jedynie międzyrasowe różnicowanie w zakresie odsetka plemników ruchliwych po okresie konserwacji nasienia.

Szczegółowa analiza wartości jakościowych cech nasienia konserwowanego w różnych porach roku (tab. 4) wykazała, że najwyższy odsetek plemników z normalnym akrosomem

Tab. 4. Wskaźniki jakościowe oraz aktywność enzymów nasienia knura w czasie 60 h konserwacji w poszczególnych porach roku

Pora roku	Ruchliwość plemników (%)	Akrosomy (%)			Aktywność (mU/10 ⁹)	
		normalne	lekko uszkodzone	pęcherzykujące	HL	AspAT
Zima n=59	\bar{x} 48,80 s 19,48	C, D 79,71 12,51	a 8,22 6,51	D, E 12,07 8,10	A, E 0,88 0,68	b, C 193,95 145,49
Wiosna n=56	\bar{x} 46,16 s 19,83	A, E 78,91 13,00	8,83 7,24	B, C 12,26 8,41	b, d, E 0,75 0,44	A, E 217,83 132,87
Lato n=57	\bar{x} 44,49 s 20,42	C, D 67,95 16,38	9,91 8,76	a, C, D, B 22,14 13,10	b, C 0,87 0,60	A, C, D 281,48 188,41
Jesień n=49	\bar{x} 50,47 s 19,59	B, C 71,03 13,00	a 9,13 5,86	a, E 19,84 10,88	A, C, d 1,07 0,73	b, D, E 161,04 120,52

Objaśnienie: średnie w kolumnach oznakowano tymi samymi literami różnią się istotnie: — dużymi literami przy $p \leq 0,01$, — małymi literami przy $p \leq 0,05$.

Tab. 5. Wpływ rasy, pory roku i czasu konserwacji na wybrane wskaźniki jakościowe i biochemiczne nasienia knura

Rodzaj zmienności	Ruchliwość plemników (%)	Akrosomy (%)			Aktywność (mU/10 ⁹)	
		normalne	lekko uszkodzone	pęcherzykujące	HL	AspAT
Rasa	52,61 **	0,98	0,16	1,93	1,85	3,58
Pora roku	9,33 **	41,73 **	2,54	48,74 **	8,21 **	25,35 **
Czas przechowywania	719,69 **	133,00 **	104,84 **	54,35 **	64,39 **	110,88 **
Rasa × pora roku	0,74	0,45	0,80	0,49	0,93	2,70 *
Rasa × czas przechowywania	0,64	1,01	1,87	0,43	2,16 *	3,82 **
Rasa × czas przechowywania × pora roku	0,31	0,93	0,14	0,67	0,28	0,96

Objaśnienia: * — istotne przy $p \leq 0,05$, ** — istotne przy $p \leq 0,01$.

stwierdza się w okresie zimowym, zaś najniższy w lecie. Należy podkreślić, że w okresie letnim wykazano również najwyższy odsetek plemników z pęcherzykującymi akrosomami oraz najniższą liczbę plemników ruchliwych po 60 h konserwacji.

W przypadku wskaźników biochemicznych najbardziej intensywne zmiany aktywności enzymów podczas przechowywania nasienia obserwowano w okresie jesiennym w przypadku hialuronidazy oraz w okresie letnim dla aminotransferazy asparaginianowej. Różnice powyższe okazały się statystycznie istotne.

Próba ustalenia zależności między oceną wstępną jakości nasienia uzyskiwanego w poszczególnych porach roku oraz zakresem zmian starzeniowych plemników konserwowanych nie potwierdziła bezpośrednich związków między wymienionymi czynnikami (tab. 5). Stwierdzono również brak ich powiązań z rasą knurów. Jedynie w zakresie zmian biochemicznych nasienia występująca interakcja pomiędzy porą roku a czasem przechowywania potwier-

dzalaby wcześniejsze wnioski własne (7) o przydatności testów enzymatycznych, zwłaszcza AspAT, dla rokowania o wartości biologicznej konserwowanego nasienia knura. Uzyskane wyniki pozwalają również sugerować, że w porze letniej występuje okresowe obniżenie jakości nasienia i mała jego przydatność do długotrwałej konserwacji. Wskazywałoby to zarazem na potrzebę wnikliwej i poszerzonej oceny wartości biologicznej nasienia (z uwzględnieniem „wycieku” AspAT) w tym okresie oraz odpowiedniego zwiększania w dawce inseminacyjnej liczby plemników ruchliwych.

Piśmiennictwo

- Christenson R. K. H., Teague H. S., Grifo A. P., Roller W. L.: Ohio Swine Res. Inf. Reg. Res. Summ. 61, 1972.
- Ilinskaja T. P., Antoniuk V. S.: Fiziologičeskie osnovy racionalnogo ispolzowanija proizvoditelej sel'skochozjastviennych životnych. „Uradžaj”, 1975.
- Knoll P., Kastyak L.: Mat. XVI Sesji Nauk PTNW 2, 175, 1959.
- Mc Nitt J. L., First N. L.: Int. J. Biometeorol. 14, 373, 1970.
- Paquignon M., Courot M.: Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys. 15, 517, 1955.
- Strzeżek J., Głogowski J., Magierska E., Torska J., Hosaja M.: Biol. immun. reprodu. (Sofia) w druku.
- Strzeżek J., Staweta R.: Medycyna Wet. (w druku).
- Staweta R., Strzeżek J.: Medycyna Wet. (w druku).

9. Wetteman F. P., Wells M. E., Omtvedt L. T., Pope C. E., Turman E. J.: J. Anim. Sci. 42, 664, 1976.

Adres autora: dr Roman Sławeta, ul. Bełska 28 m. 20, 02-638 Warszawa

Славета Р., Стшежек Е. — Время года и биологические свойства консервированного семени хряка

Анализировали влияние времени года на качественные и биохимические показатели 2 пород хряков и пригодность семени к длительной консервации в растворе в Киев.

Помимо отмеченного влияния сезона на качество семени хряка процессы старения живчиков во время консервации обуславливаются независимо как временем года, так и временем хранения.

В диапазоне морфологических изменений живчиков не показали интеракции время года × время хранения × порода хряков. Лишь в диапазоне „вытекания” глутаматаспартаттрансаминазы отметили взаимодействие между временем года и временем хранения семени. Подтвердили возможность исполь-

зования теста AspAT для контроля осплодворяющей способности консервируемого семени хряка.

Sławeta R., Strzeżek J. — The season of year and biological properties of preserved boar's semen

It was analyzed the influence of the season of year on qualitative and biochemical indices of two breeds of boars and usefulness of semen for a long time preservation in the Kiev diluent.

Apart from a noted influence of the season of year on quality of boar's semen processes of senility of spermatozoons during preservation depend upon both the season of year and time of preservation, independently.

In the range of morphological changes of spermatozoons interaction between season × preservation time × breed of boars was not noted. Only in the range of „leak” of aspartic aminotransferase (AspAT) was observed coincidence between the season of year and a time of semen preservation. It was confirmed the possibility of the use of AspAT test for the control of fertilizing ability of preserved boar's semen.

WŁODZIMIERZ A. GIBASIEWICZ
Duszniki Wielkopolskie

Zależność pomiędzy występowaniem zatrzymania łożyska u krów a poziomem magnezu w surowicy krwi

Zatrzymanie łożyska (*retentio secundinarum*) — r.s. u krów występuje w naszym kraju przeciętnie po 10,8% wycieleń (1). W krajach o prawidłowym żywieniu i opiece r.s. stwierdza się tylko po 3% porodów (2). Stosowane w żywieniu krów dodatki witaminowo-mineralne zmniejszają częstość występowania r.s. o około 2,5% (3). Natomiast podawanie tlenku magnezu *per os* nawet o 50% (4).

Celem badań było wykazanie zależności pomiędzy występowaniem r.s. u krów a poziomem magnezu w surowicy krwi.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w dwóch gospodarstwach spółdzielczych (S. i D.) w latach 1979—81 u krów rasy ncb w wieku od 2 — 10 lat. Wymienione gospodarstwa od lat uznane były za wolne od gruźlicy i brucelozы bydła. Poziom magnezu oznaczono w surowicy krwi losowo wybranych 20 krów (10 z gosp. S. i 10 z D.) w 1979 r. oraz w surowicy krwi 8 krów (po 4 z każdego gospodarstwa) z zatrzymaniem łożyska. Zawartość magnezu oznaczano metodą ASA. W okresie przeprowadzanych badań w gospodarstwach nie stosowano nawozów magnezowych. Dodatkowej analizie poddano mapy glebowe (na zawartość Mg) obu gospodarstw (badania rutynowe z 1980 r.).

Zywienie krów w obu gospodarstwach było podobne. Stosowano kiszonki z liści buraczanych, kukurydzy i żyta, siomę, buraki, zielonki kośne, małe ilości siana. Pasza treściwa dla tych gospodarstw pochodziła z jednego źródła. Krowy w gospodarstwie S. dodatkowo korzystały z wybiegów.

Analizie poddano łącznie 856 porodów w ciągu trzech lat (1979—81), w gospodarstwie S. — 363 porody, w D. — 493.

Istotność różnic zawartości Mg w surowicy krwi krów gosp. S. i D. określono testem t-Studenta przy poziomie $p \leq 0,05$ i $p \leq 0,01$.

Wyniki i omówienie

Gleby gospodarstw S. i D. są nisko zasobne w magnez. Wskaźnik bonitacji negatywnej wynosi — 74. Średnia zawartość magnezu w glebie gospodarstwa S. wynosiła 4,03 mg w 100 g, w gospodarstwie D. — 3,62 mg w 100 g. W surowicy krwi u krów gospodarstwa S. średni poziom magnezu mieścił się w granicach normy (1,8 — 3,0 mg w 100 ml) i wynosił 2,1 mg w 100 ml (wahania 1,90 — 2,32 mg w 100 ml), natomiast w gospodarstwie D. — poniżej normy — 1,7 mg w 100 ml (wahania 1,42 — 1,92 mg). Surowica krwi krów gospodarstwa S. zawierała istotnie więcej Mg niż krów gospodarstwa D. ($p \leq 0,01$). W surowicy krwi krów z zatrzymaniem łożyska poziom Mg wahał się w granicach średniej dla poszczególnych gospodarstw.

Występowanie r.s. w poszczególnych latach i gospodarstwach podano w tab. 1. Zatrzymanie łożyska występowało częściej w gospodarstwie S., a więc tam, gdzie poziom magnezu

Tab. 1. Występowanie zatrzymania łożyska u krów w gospodarstwach S. i D. w stosunku do wycieleń w latach 1979—81

Lata obserwacji	S		D		Razem	
	Liczba porod.	% r.s.	Liczba porod.	% r.s.	Liczba porod.	% r.s.
1979	106	16,0	158	11,4	264	13,2
1980	131	16,0	187	8,5	318	11,6
1981	126	12,7	148	11,5	274	12,0
Razem	363	14,9	493	10,3	856	12,3