

6. Kabankov J., Kvasnikov A., Kvasnikova E.: Veterinarija, Moskva, nr 4, 56, 1978.
7. Lund A.: Norsk Veterinaertidsskrift 91, 775, 1979.
8. Przala F., Gajęcki M., Skorska-Wyszyńska E.: Medycyna Wet. 39, 493, 1983.
9. Radomński W.: Biul. VI Zjazdu PTNW, Wrocław 1978, s. 587.
10. Radomński W., Kondracki M., Michalowska R., Zmudziński J.: Medycyna Wet. 35, 20, 1979.
11. Tkačev E., Severin V., Zebrovskaja V., Kirtlova N.: Sb. nauč. tr. VNI Zivotnovodstva 2, 15, 1975.
12. Zwierzchowski T., Kubiński T.: Życie wet. 58, 203, 1983.

Adres autora: dr Andrzej Wandurski, ul. XXX-lecia PRL, blok 5B m. 4, 64-820 Szamocin

Вандурский А. — Применение хлорпромазина в лечении поносов поросят и в профилактике адаптационного стресса подсвинков

У 265 2—4-недельных поросят, больных желудочно-кишечной формой колибактериоза, применено наряду с бактериостатическими средствами хлорпромазин в дозе 1,5 мг/кг м.т. После первого мероприятия вылечено 71,9% приплодов по сравнению с 56,5% приплодов в контрольной группе. Падеж в группе поросят, леченных с добавкой хлорпромазина, был на 2,1% выше чем в контрольной группе, процент же поросят с запозданием развития — на 3,5% ниже. Наблюдались значительные индивидуальные различия в реагировании поросят на ввод хлорпромазина.

У 421 поросенка, отъятого от матери в возрасте 30—35 дней, применено хлорпромазин в дозе 1,5 мг/кг м.т. для облегчения адаптационного стресса. В течение первых 15 дней пребывания в помещении для подсвинков отмечено в экспериментальной группе 1 случай поноса, 17 случаев запозданий в

развитии и 3 падежа по сравнению с 11 поносами, 32 запозданиями в развитии и 6 случаями падежа. Межгрупповые различия в появлении поносов и запозданий в развитии были статистически существенны

Wandurski A. — The use of chlorpromazine in the therapy of diarrhoea in piglets and in prophylaxy of an adaptation stress in weaners

In 265 piglets at the age of 2—4 weeks with the symptoms of gastrointestinal colibacteriosis, apart from bacteriostatic drugs, chlorpromazine at the dose of 1.5 mg/kg of body weight was applied. After the first treatment 71.9% of litters were cured but in controls 56.5% of litters were healed. Losses in the group of treated piglets where chlorpromazine was applied were lower by 2.1% in comparison to the control; however, the percent of piglets delayed in development was lower by 3.5%. There were observed significant individual differences in reaction of piglets on chlorpromazine.

Chlorpromazine at a dose of 1.5 mg/kg of body weight was also applied in 421 weaned piglets at the age of 30—35 days in order to minimize the adaptation stress. During the first 15 days of development of piglets in a pig rearing house were noticed 1 case of diarrhoea, 17 cases of delayed development and 3 losses; in the control group 11 cases of diarrhoea, 32 cases of delayed development and 6 losses were found. Differences between groups in the appearance of diarrhoea and delayed development were statistically significant.

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

JERZY STRZEŻEK*, ROMAN SŁAWETA

Biochemiczne i morfologiczne zmiany w nasieniu knura podczas przechowywania w temperaturze +15°C do +18°C*)

* Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego ART, 10-718 Olsztyn-Kortowo, bl. 37
Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębou, 05-551 Mroków

Zjawisko „wycieku” enzymów ze struktur plemnikowych może powodować zaburzenia procesów biochemicznych związanych z zapłodnieniem komórki jajowej (11, 19). Larsson i wsp. (9) stwierdzili, że pomiar aktywności aminotransferazy (AspAT) w plazmie nasienia pozwala otrzymać bardziej dokładną ocenę stopnia uszkodzenia błon komórkowych plemników knura aniżeli badania morfologiczne ich struktur. Z kolei Crabo i Graham (5) wykazali dodatnią korelację między odsetkiem nie zmienionych akrosomów a aktywnością hialuronidazy w nasieniu knura.

Stosunkowo nieliczne są dane piśmiennictwa dotyczące zmian zachodzących w konserwowanym nasieniu knura. Strzeżek i wsp. (17) stwierdzili, że rozcieńczalnik Kiev stosunkowo najlepiej zabezpiecza struktury biochemiczne

plemnika knura przed zmianami starzeniowymi w trakcie 3-dobowej konserwacji nasienia.

Celem pracy było określenie zależności pomiędzy zmianami chemicznymi i morfologicznymi nasienia knura konserwowanego w temperaturach dodatnich a jego wartością biologiczną, kontrolowaną w warunkach praktyki inseminacyjnej.

Materiał i metody

Charakterystyka właściwości biologicznych nasienia świeżego i konserwowanego. Badania przeprowadzono na 254 ejakulatach uzyskanych w okresie jednego roku od 59 knurów rasy pbz i wbp użytkowanych w stacji unasienniania loch. Nasienie pobierano metodą manualną. Pozyskiwano frakcję nasienia bogatą w plemniki. Określono następujące wskaźniki jakościowe: objętość frakcji, koncentrację, ruchliwość oraz morfologię plemników ze szczególnym uwzględnieniem stanu akrosomu. Ponadto analizowano aktywność AspAT i HL w plazmie nasienia. Nasienie rozrzedzano rozcieńczalnikami Kiev

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

o składzie: glukoza — 60 g, cytrynian sodowy $\times 2H_2O$ — 3,75 g, kwaśny węgiel sodowy — 1,2 g, EDTA- Na_2 — 3,7 g, H_2O red. do 1000 cm^3 . Stosowano taki stopień rozrzedzenia nasienia, aby w objętości 100 cm^3 liczba plemników ruchliwych wynosiła 4×10^9 .

W przedziałach czasowych 24 — 36 h oraz 48 — 60 h (przedział czasu do 12 h dotyczył nasienia bezpośrednio po rozrzedzeniu), z poszczególnych prób nasienia, przechowywanego w termostabilnych pojemnikach utrzymujących temperaturę $+15^\circ C$ do $+18^\circ C$, sporządzono rozmazy dla określenia stanu akrosomów oraz pobierano próby do badań biochemicznych. Równocześnie w odstępach czasowych co 12 h przeprowadzono ocenę ruchliwości plemników. Rozmazy barwiono metodą Buttle i wsp. (4). Ocenę stanu akrosomów przyjęto według klasyfikacji form morfologicznych podanych przez Grahama i wsp. (7). W każdym preparacie obserwowano tyle pól widzenia, aby suma ocenianych plemników wynosiła 200.

Aktywność AspAT w plazmie nasienia świeżego i przechowywanego określano według metody Reitmana i Frankela (14), zaś aktywność HL według metody Foulkes i Watson (6). Aktywność wymienionych enzymów podano w jednostkach międzynarodowych w przeliczeniu na 10^9 plemników ($mU/10^9$). Próby nasienia do analiz biochemicznych przygotowywano według metody opracowanej przez Strzeżka i wsp. (18).

Praktyczne zastosowanie wskaźników biochemicznych do oceny wartości biologicznej nasienia knura przechowywanego w temperaturach dodatnich. Ocenę wartości biologicznej nasienia konserwowanego

do 12 h) nasienia następują istotne zmiany jakościowe i biochemiczne plemników. W stosunku do nasienia świeżego odsetek plemników z normalnymi akrosomami obniżył się o 7,06% ($p \leq 0,01$), natomiast z akrosomami pęcherzykującymi wzrósł prawie dwukrotnie. Z kolei ruchliwość plemników obniżyła się o 8,16% ($p \leq 0,01$). Ponadto obserwowano półtorakrotny wzrost aktywności HL oraz ponad trzykrotny aktywności AspAT. W zakresie omawianych zmian stwierdzono dużą zmienność osobniczą. W miarę wydłużania się czasu konserwacji nasienia średni odsetek plemników o nie zmienionych akrosomach, w stosunku do etapu rozrzedzenia, obniżył się w drugim dniu o 7,07% ($p \leq 0,01$), zaś w trzecim dniu o 19,64% ($p \leq 0,01$). Wystąpiły także zakłócenia w aparacie ruchu plemników, bowiem już w drugim dniu przechowywania ruchliwość plemników obniżyła się o 16,33% ($p \leq 0,01$), zaś w trzecim dniu o 39,7% ($p \leq 0,01$).

Podobnie jak w przypadku wskaźników jakościowych w miarę upływu czasu konserwacji obserwowano wzrost aktywności AspAT oraz HL w płynach nadosadowych. Zmiany powyższe nasiliły się szczególnie w trzecim dniu konserwacji (przedział czasowy 48—60 h). Wyniki

Tab. 1. Charakterystyka cech jakościowych i biochemicznych nasienia świeżego i konserwowanego ($\bar{x} \pm s$)

Nasienie	Ruchliwość plemników (%)	Akrosomy			Aktywność $mU/10^9$	
		normalne (%)	lekko uszkodzone (%)	pęcherzykujące (%)	HL	AspAT
Świeże $n = 254$	A, B, C 74,03 4,99	A, B, C 90,12 8,31	a, B, C 3,45 2,74	A, B, C 6,43 7,48	A, B, C 0,47 0,28	A, B, C 44,25 34,05
Konserwowane $n = 218$	12h A, D, E 65,87 10,04	A, D, E 83,06 11,26	a, D, E 4,64 5,53	A, D, E 12,30 10,32	A, D 0,71 0,69	A, D, E 141,37 120,83
	24-36h B, D, F 49,24 11,63	B, D, F 75,09 11,79	B, D, F 9,10 5,75	B, D, F 15,81 9,54	B, F 0,70 0,47	B, D, F 197,90 127,51
	48-60h 26,17 12,87	64,62 15,20	13,47 7,75	21,91 12,09	1,23 0,51	322,78 165,70

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

nego do 60 h przeprowadzono dla 133 ejakulatów. Były to ejakulatory, których użyto do co najmniej trzech pierwszych zabiegów inseminacyjnych w jednym z badanych przedziałów czasowych. Każda próba nasienia podlegała ocenie morfologicznej i badaniom biochemicznym według metod uprzednio opisanych. W dawce inseminacyjnej 100 cm^3 liczba plemników ruchliwych wynosiła 4×10^9 . Ogółem wykonano 546 zabiegów inseminacyjnych, z czego 287 zabiegów nasieniem przechowywanym do 12 h, 186 zabiegów nasieniem przechowywanym 24 — 36 h oraz 73 zabiegi nasieniem przechowywanym 48 — 60 h. Wstępną ocenę zdolności zapładniającej poszczególnych prób nasienia przeprowadzono na podstawie wskaźnika niepowtarzalności wyliczonego w 60 dniu od wykonania pierwszego zabiegu inseminacyjnego (NR/60). Płodność loch określano na podstawie liczby prosiąt żywych urodzonych w miocie.

Badane cechy scharakteryzowano za pomocą średnich arytmetycznych i odchyłeń standardowych. Istotność różnic między średnimi wskaźnikami wyliczono na podstawie wielokrotnego rozstępu Duncan. W statystycznej ocenie wyników przeprowadzono ponadto analizę korelacji i regresji liniowej.

Wyniki i omówienie

Z danych zawartych w tab. 1 wynika, że już w momencie rozrzedzenia (przedział czasowy

Tab. 2. Współczynniki korelacji między niektórymi cechami jakościowymi nasienia konserwowanego do 60 godzin ($n=218$)

	Akrosomy	Ruchliwość plemników
Akrosomy	normalne	+ 0,49 **
	lekko uszkodzone	- 0,45 **
	pęcherzykujące	- 0,35 **

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

Tab. 3. Zależność między wskaźnikami jakości nasienia konserwowanego a aktywnością hialuronidazy (HL) i aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) w płynach nadosadowych ($n = 218$)

Cecha	HL	AspAT
Ruchliwość plemników	- 0,30 **	- 0,46 **
Akrosomy	normalne	- 0,28 **
	lekko uszkodzone	+ 0,26 **
	pęcherzykujące	+ 0,19 *

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

Tab. 4. Charakterystyka świeżych ejakulatów za stosowanych do unasienniania loch (n=133, $\bar{x} \pm s$)

Ruchliwość plemników (%)	Plemniki normalne (%)	Akrosomy						Aktywności					
		normalne (%)		lekko uszkodzone (%)		pęcherzykujące (%)		HL (mU/10 ⁹)		AspAT (mU/10 ⁹)			
75,07	5,49	80,34	12,06	92,54	7,14	3,67	2,08	3,79	4,78	0,41	0,21	47,18	29,12

Tab. 5. Charakterystyka zmian jakościowych i biochemicznych nasienia oraz jego wartości biologicznej w trzech przedziałach czasowych 60 h konserwacji ($\bar{x} \pm s$)

Czas przechowywania	Ruchliwość plemników (%)	Plemniki normalne (%)	Akrosomy						Aktywność		Wskaźnik niepowlarzalności (%)	Wskaźnik wyproszeń (%)	Płodność (szt.)							
			normalne (%)		lekko uszkodzone (%)		pęcherzykujące (%)		HL (mU/10 ⁹)	AspAT (mU/10 ⁹)										
12 h n=54	68,90 A,C	6,92	80,36	12,52	82,50 B,C	9,01	5,45 B,C	4,50	12,05 B	3,17	0,50 A,C	0,27	129,95 A,C	79,18	85,19 a,c	20,10	71,04 a,c	21,76	10,34 B	1,28
24-36 h n=51	49,31 A,B	10,72	71,36 a	11,86	78,36 a,B	9,52	8,45 A,B	5,46	13,17 A	8,48	0,69 A,B	0,25	300,24 A,B	76,66	74,89 a,b	22,23	60,00 a,b	21,77	9,83 A	1,22
48-60 h n=18	28,61 B,C	3,82	83,80 a	11,38	65,27 B,C	11,57	13,48 A,C	6,53	21,25 A,B	8,47	1,11 B,C	0,20	196,00 B,C	63,70	60,91 b,c	25,85	44,29 B,C	18,20	8,85 A,B	1,33

Objaśnienie: średnie w kolumnach oznakowane tymi samymi literami różnią się istotnie — dużymi literami p ≤ 0,01, małymi literami p ≤ 0,05.

Tab. 6. Wartości współczynników korelacji między wybranymi wskaźnikami jakościowymi oraz aktywnością enzymów nasienia konserwowanego a jego wartością biologiczną w poszczególnych godzinach przechowywania

Cecha	Wskaźnik niepowlarzalności			Płodność		
	12 h n=64	24-36 h n=51	48-60 h n=18	12 h n=64	24-36 h n=51	48-60 h n=18
Ruchliwość plemników (%)	+0,26 *	-0,08	+0,28	-0,04	-0,06	-0,22
Plemniki normalne (%)	-0,03	-0,05	+0,26	0,00	-0,05	+0,04
normalne (%)	+0,03	-0,10	+0,17	+0,17	+0,08	+0,02
Akrosomy lekko uszkodzone (%)	+0,10	-0,01	-0,17	+0,19	+0,10	+0,14
pęcherzykujące (%)	-0,08	+0,15	-0,10	-0,26 *	-0,15	-0,14
Aktywność HL (mU/10 ⁹)	-0,20	-0,05	-0,09	-0,16	+0,02	-0,24
enzymów AspAT (mU/10 ⁹)	-0,36 **	-0,37 **	-0,48 *	-0,19	-0,12	-0,18

Objaśnienia: * istotność przy p ≤ 0,05, ** istotność przy p ≤ 0,01.

przeprowadzonych badań wskazywałyby, że między 24 h a 36 h przechowywania nasienia knura dochodzi do intensywnych zmian starzeniowych struktur plemnikowych, które osiągają swój szczyt po 48 h konserwacji. Dane powyższe są zgodne z wnioskami innych autorów (3, 12, 15, 16).

Wartości współczynników korelacji między odsetkiem plemników ruchliwych a stanem akrosomów przedstawiono w tab. 2. Stosunkowo niska zależność między ruchliwością plemników a liczbą komórek z akrosomami pęcherzykującymi wskazywać może, że plemniki o obniżonej zdolności zapładniającej zachowują z reguły ruchliwość. Obserwacja powyższa wydaje się potwierdzać wyniki wcześniejszych prac Boendera (2), Pursela i wsp. (12) oraz Rillo i wsp. (13).

Jak wynika z danych tab. 3 występująca ścisła zależność między aktywnością uwalnianego AspAT i ruchliwością plemników sugeruje możliwość powiązania tego enzymu ze stanem morfologicznym części wstawkowej plemnika. Z drugiej strony wysoko istotna zależność (p ≤ 0,01) między odsetkiem plemników z normalnymi akrosomami a aktywnością AspAT wskazywałaby na dodatkowe powiązania enzymu z błonami plazmatycznymi główki plemnika. Rezultat powyższy jest zgodny z wynikami prac Hillmann i Treu (8) oraz Boehnke (1), którzy obserwowali zależność między liczbą plem-

Tab. 7. Współczynniki korelacji między zdolnością zapładniająca plemników przechowywanych przez 60 h w temp. +15°C do +18°C a wybranymi wskaźnikami jakościowymi i biochemicznymi nasienia (n = 133)

Cecha	Wskaźnik niepowlarzalności	Płodność
Ruchliwość plemników (%)	+0,35 **	+0,25 **
Plemniki morfologicznie normalne (%)	0,00	-0,03
normalne (%)	+0,18 *	+0,27 **
Akrosomy lekko uszkodzone (%)	-0,16	-0,04
pęcherzykujące (%)	-0,10	-0,29 **
Aktywność HL (mU/10 ⁹)	-0,31 **	-0,30 **
AspAT (mU/10 ⁹)	-0,50 **	-0,29 **

Objaśnienia: * istotność przy p ≤ 0,05, ** istotność przy p ≤ 0,01.

ników z zakłóceniami części akrosomowej a intensywnością „wycieku” AspAT. Stosunkowo niska wartość współczynnika korelacji między aktywnością AspAT a odsetkiem plemników z akrosomami pęcherzykującymi potwierdzałaby, że głównie w pierwszej fazie uszkodzeń tej struktury, tj. załamaniem części szczytowej następuje nasilony „wyciek” wymienionego enzymu.

Przedstawione wyniki pozwalają jednocześnie stwierdzić, że z upływem czasu konserwacji nasienia knura wskutek postępujących zmian morfologicznych struktur plemników następuje uwalnianie białek enzymatycznych. Zjawiska powyższe mogą zdecydowanie obniżyć wartość biologiczną konserwowanego nasienia knura.

Jak wynika z danych przedstawionych w tab. 4 ejakulatory, których użyto do co najmniej

trzech pierwszych zabiegów inseminacyjnych charakteryzowały się wysokimi właściwościami biologicznymi. Wartości analizowanych cech nasienia nie odbiegały od uzyskanych dla całej populacji prób nasienia obserwowanych knurów (tab. 1).

W tab. 5 przedstawiono wyniki analizy statystycznej dla wskaźników jakościowych i biochemicznych oraz wartość biologiczną analizowanych ejakulatów z uwzględnieniem trzech przedziałów czasowych konserwacji. Zwracając uwagę nasilającą się już od momentu rozrzedzenia prób zmiany morfologiczne akrosomu korelujące ze zwiększonym uwalnianiem analizowanych enzymów z plemników do plazmy nasienia oraz zaburzenia ruchliwości tych komórek.

Statystycznie istotne okazały się zmiany wartości wskaźnika, niepewtarzalności oraz płodności loch. Zarówno odsetek loch nie powtarzających rui do 60 dnia po pierwszym zabiegu inseminacyjnym, jak i liczba prosiąt żywych urodzonych w miocie obniżają się bardzo wyraźnie już po 24—36 h okresie konserwacji nasienia. Zjawisko powyższe nasila się zwłaszcza po 48 h przechowywaniu ejakulatów. Du Mesnil du Buisson i wsp. (10) stwierdzili, że już po jednodobym okresie przechowywania nasienia knura w temperaturze dodatniej należy zwiększyć w dawce inseminacyjnej liczbę plemników ruchliwych do 6×10^9 .

Interesujące dla praktyki inseminacyjnej dane zawiera tab. 6. Jedynie bowiem w przypadku nasienia konserwowanego do 12 h obserwuje się zależność pomiędzy jego wartością biologiczną a ruchliwością plemników. Wykazanie natomiast wysokich wartości współczynników korelacji między aktywnością AspAT w płynach nadosadowych a zdolnością zapładniającą nasienia, wzrastających z upływem czasu konserwacji, uzasadniają potrzebę wykorzystania testu AspAT w praktyce inseminacyjnej.

W przypadku analizy statystycznej, dokonanej dla ejakulatów bez uwzględnienia przedziałów czasowych konserwacji (tab. 7), obserwowano, że wartość współczynnika korelacji między wskaźnikiem niepewtarzalności a aktywnością uwalnianego AspAT jest wyższa aniżeli z poszczególnymi analizowanymi wskaźnikami jakościowymi nasienia. Uzyskane dane wskazują na udział AspAT w procesach zapłodnienia jaja u trzody chlewnej.

Ocena wartości konserwowanego nasienia knura na podstawie ruchliwości plemników wydaje się być obciążona błędem wynikającym z występowania zjawiska zachowania ruchu przez te komórki, których akrosomy uległy zmianom morfologicznym, zwłaszcza tzw. pęcherzykowaniu. Obok mikroskopowej oceny podstawowych wskaźników jakościowych nasienia dokonywanych po upływie 24 h okresu konserwacji, wprowadzenie do tej analizy badań biochemicznych nasienia jest szczególnie uzasadnione.

Przekroczenie bowiem określonych granic aktywności enzymów w płynach nadosadowych (AspAT powyżej $300 \text{ mu}/10^9$, HL powyżej $1 \text{ mU}/10^9$), w porównaniu do prób po rozrzedzeniu, może sygnalizować nasilone procesy starzeniowe plemników i tym samym obniżenie zdolności zapładniającej konserwowanego nasienia knura.

Piśmiennictwo

- Boehnke H. I.: Untersuchungen zur Tiefgefrierkonservierung von Ebersamen mit dem Test- und TestNaK-Verdünnung, Diss. Hannover, 1973.
- Boender J.: Proc. VI th Congres Reprod. Insem. Artif., Paris 1968, s. 219.
- Brunel L., Ghiandoni R., Grimella C.: Riv. Zoot. Vet. 5, 514, 1977.
- Buttle H. M., Hancock J. L., Pursel A. F.: Anim. Prod. 7, 59, 1965.
- Crabo G. B., Graham E. F.: Proc. VII th Int. Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem., Munich 2, 1639, 1972.
- Foulkes J. A., Watson P. A.: J. Reprod. Fert. 43, 349, 1975.
- Graham E. F., Rajamannan A. H. J., Schmehl M. K. L., Maki-Laurila H., Bower R. E.: Am. J. Digest. 19, 12, 1971.
- Hillman K. H., Treu H.: Zuchthyg. 8, 105, 1975.
- Larsson K., Einarsson S., Nicander L.: Acta vet. Scand. 17, 83, 1976.
- Du Mesnil du Buisson S., Paquignon M., Courot M.: Livest. Prod. Sci. 5, 293, 1978.
- Pace M. M.: Proc. IX th Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem., Madrid, 133, 1980.
- Pursel V. G., Johnson L. A., Rampack G. B.: J. Anim. Sci. 34, 278, 1972.
- Rillo M. S., Vazquez E., Alias E.: Proc. IXth Congr. Anim. Reprod. Artif. Insem., Madrid 3, 403, 1980.
- Reitman S., Frankel S.: Am. J. Clin. Path. 28, 56, 1957.
- Slaweta R., Sikorska J., Strzeżek J.: Medycyna Wet. 37, 687, 1981.
- Strzeżek J., Smigielka J.: Medycyna Wet. 34, 617, 1978.
- Strzeżek J., Smigielka J., Liminowicz J., Czebot H., Glogowski J.: Mat. XVI Sesji Nauk PTNW 2, 153, 1979.
- Strzeżek J., Glogowski J., Smigielka J., Czebot H.: Testy enzymatyczne w zastosowaniu do oceny stanu błon cytoplazmatycznych plemników po zamrożeniu w ciekłym azocie. Instr. wdrożeniowa, ART Olsztyn, 1979.
- Strzeżek J., Świdowicz K.: Mat. VII Kongr. PTNW, Lublin 2, 963, 1983.

Adres autora: prof. dr hab. Jerzy Strzeżek, ul. Kaliningradzka 41 m. 90, 10-437 Olsztyn

Стшежек Е., Славета Р. — Биохимические и морфологические изменения семени хряка во время хранения в темп. $+15^{\circ}\text{C}$ до $+18^{\circ}\text{C}$

Наблюдали за темпом процессов старения живчиков хряка в период нескольких дней консервации семени в разбавителе Киев. Отметили что уже в момент рабавления эякулята происходят биохимические изменения живчиков в виде „вытекания” глутаматаспартаттрансаминазы и тиагулоронидазы. Наряду с постоянным понижением подвижности живчиков уменьшается процент клеток с нормальными акросомами, увеличивается зато число живчиков с фолликулирующими акросомами. В последующих временных диапазонах 60 ч консервации семени вышеупомянутые изменения интенсифицируются. Эффектом упомянутых биохимических и морфологических расстройств является прогрессирующее понижение биологических стоимости живчиков (через 12 ч NR/60 составляет 85,2%, через 24—36 ч — 74,8%, через 48—60 ч 60,9%). Сравнительно низкие величины коэффициентов корреляции между показателями качества семени и его оплодотворяющей способностью указывают на потребность в применении теста AspAT для оценки биологической стоимости консервированного семени хряка (коэффициент корреляции с NR/60 $r = -0,50$, $p \leq 0,01$).

Strzeżek J., Slaweta R. — Biochemical and morphological changes in boar's semen during preservation at $+15^{\circ}\text{C}$ to $+18^{\circ}\text{C}$

The authors observed the rate of aging of boar's spermatozoons during preservation of semen in

Kiev's diluent for several days. It was found that at the moment of dilution of ejaculate appear some biochemical changes of spermatozoons manifesting by „a leak” of aspartic aminotransferase (AspAT) and hyaluronidase (HL). Besides a continuous decrease of spermatozoon's movement, decreased a percent of cells with normal acrosomes and increased the number of spermatozoons with vesiculizing acrosomes. At a successive time intervals, 60 h of conservation, the above mentioned changes progress. As the results

of biochemical and morphological disorders was a progressing decrease of biological value of spermatozoons (after 12 h NR/60 was 85.2%, after 24—36 h — 74.8% and after 48—60 h — 60.9%). A relatively low values of a correlation coefficient between the parameters of semen quality and its fertilizing value point to the need of the application of the AspAT test for the evaluation of biological value of preserved boar's semen (correlation coefficient with Nr/CO $r = -0.50$, $p \leq 0.01$).

LUCYNA KAŃSKA, ZDZISŁAW SMORAĞ

Możliwości uzyskiwania oocytów bydłych^{*)}

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieleniania Zwierząt Instytutu Zootechniki,
32-083 Balice k. Krakowa

Dotychczasowe badania z zakresu mikromorfologii systemu pęcherzykowego jajników bydłych dotyczyły indywidualnych wahań ilości i jakości pęcherzyków (10), związku między stadium cyklu płciowego a jakością pęcherzyków (2), zależności między wielkością pęcherzyka i obecnością otaczających oocyt komórek wzgórka jajonośnego a procesem dojrzewania *in vitro* (3, 7), czy też zagadnień metodycznych uzyskiwania oocytów pęcherzykowych (4).

Interesującym zagadnieniem byłoby ustalenie, czy występuje zależność między ilością pęcherzyków jajnikowych i jakością znajdujących się w nich oocytów a wiekiem samic. Jest to interesujące w aspekcie hodowli niedojrzałych oocytów *in vitro* **) oraz podatności bydła na superowulację. Uzyskiwanie morfologicznie normalnych oocytów, także od zwierząt starszych, stwarza możliwość wykorzystania tych zwierząt jako źródła zarodków.

Stosowana metoda pobierania oocytów, w drodze aspiracji zawartości pęcherzyków, pozwala na uzyskanie od 30 do 60% oocytów w stosunku do liczby aspirowanych pęcherzyków (4, 6, 7). Jedną z przyczyn niskiego stopnia uzysku mogą być trudności w oddzieleniu niektórych oocytów od przylegających komórek ziarnistych wzgórka jajonośnego. Można zakładać, że są to oocyty najlepsze z punktu widzenia ich przydatności do hodowli *in vitro*, gdyż otaczające je komórki ziarniste stanowią wciąż trudną do oddzielenia, ścisłą i spoistą warstwę. Zastosowanie bardziej efektywnej metody uzyskiwania oocytów przyczyniłoby się do lepszego wykorzystania samic — dawczyń.

Celem podjętych badań było: 1. określenie relacji między wiekiem zwierzęcia a ilością i jakością uzyskanych oocytów, 2. porównanie wydajności uzyskiwania oocytów metodą aspiracji zawartości pęcherzyków z metodą polegającą na rozrywaniu izolowanych pęcherzyków jajnikowych.

^{*)} Praca wykonana w ramach podproblemu węzłowego 09.5.5 koordynowanego przez Instytut Zootechniki.
^{**)} Przegląd piśmiennictwa z zakresu dojrzewania *in vitro* oocytów ssaków — Medycyna Wet. 34, 740, 1978.

Materiał i metody

Jajniki pobierano od jałówek i krów rzeźnych. Zwierzęta podzielono na trzy grupy wiekowe, a mianowicie: 18 do 24 mies. — 67 jałówek; 3 do 8 lat — 75 krów; 9 do 17 lat — 70 krów.

Dla porównania dwóch metod uzyskiwania oocytów użyto jajników pobranych od 17 jałówek i krów rzeźnych, przy czym nie wprowadzano podziału na grupy wiekowe, jako nie mającego znaczenia w tej części doświadczenia. Obserwacje prowadzono w lutym i marcu.

Jajniki uzyskiwano bezpośrednio po uboju, po uprzednim określeniu przybliżonego wieku zwierzęcia. Następnie przewożono je w temp. 20—25°C do laboratorium, gdzie po 1½ do 5 godz. od pobrania określano liczbę pęcherzyków jajnikowych, które następnie kwalifikowano do jednej z trzech grup wielkości: 2—6 mm; 7—20 mm i powyżej 20 mm.

Oocyty wraz z płynem pęcherzykowym aspirowano przy pomocy strzykawki i igły. Wyszukane oocyty umieszczano w płynie Dulbecco (12), a następnie poddawano ocenie morfologicznej w mikroskopie stereoskopowym.

W doświadczeniu, w którym przeprowadzono porównanie dwóch metod uzyskiwania oocytów, pobierano oocyty tylko z pęcherzyków 2—6 mm. Pobieranie oocytów z jednego jajnika z pary przeprowadzono metodą aspiracji, natomiast z drugiego wycinano pęcherzyki jajnikowe i umieszczano każdą na oddzielnym szkiełku zegarkowym w płynie Dulbecco. Następnie pęcherzyki rozrywano przy pomocy igieł preparacyjnych.

Kryteria oceny jakości oocytów obejmowały obecność i stan komórek wzgórka jajonośnego otaczających oocyt oraz wygląd morfologiczny cytoplazmy oocytu. Oocyt oceniano jako morfologicznie normalny wówczas, gdy nie wykazywał zmian w cytoplazmie i otaczała go gęsta i spoista warstwa komórek wzgórka jajonośnego (5).

Uzyskane wyniki poddano ocenie statystycznej testem Duncana oraz testem X^2 .

Wyniki i omówienie

Liczba pęcherzyków jajnikowych o śred. 2—6 mm u jałówek i krów w wieku 3—8 lat były zbliżone i wynosiły odpowiednio $22,66 \pm 12,56$ i $23,08 \pm 13,95$ (tab. 1). Natomiast u krów w wieku 9—17 lat stwierdzono średnio $18,03 \pm 10,83$ ($p < 0,05$) pęcherzyków tej wielkości. Liczby pęcherzyków większych (7—20 mm) były po-