

У крольчих лютеолитический эффект семени обнаруживался особенно четко в форме гистологических изменений в лютеиновых клетках желтых теллец. Полученные результаты указывают что семя жеребцов содержит лютеолитический фактор который действует так как простагландин F₂ альфа.

Bielński W., Okólski A., Tischner M. — Preliminary studies on the luteolytic factors in the semen of stallions.

The semen of stallions, freshly collected was introduced in a luteal phase of cycle into the uterus of mares and laparatomized rabbits. In 4 out of 5 mares systematically appeared the signs of oestrus and growth of Graff's vesicles after 3—4 days since the insemination. In rabbits luteolytic effect of stallions semen manifested especially clearly in the form of histological changes of luteine cells of the yellow bodies. The obtained results showed that stallions' semen contained an luteolizing agent of prostaglandin F₂ alpha-like activity.

STEFAN WIERZBOWSKI, DANUTA SZMYD

Zanieczyszczenia bakteryjne nasienia mrożonego*)

Z Zakładu Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Instytutu Zootechniki w Balicach k. Krakowa

Przeprowadzone badania nad możliwością zakażenia się nasienia mrożonego w kulkach w czasie przechowywania w ciekłym azocie wykazały, że tego rodzaju niebezpieczeństwo może występować w określonych warunkach (1, 2, 3, 4, 5). Ponieważ warunkiem tym wydaje się być określony stopień koncentracji bakterii w nasieniu (4), przeprowadzone zostały dalsze badania, których celem było zebranie informacji w zakresie stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia mrożonego w kulkach, używanego w praktyce inseminacyjnej. Systematyczną kontrolą bakteriologiczną objęto nasienie przeznaczone do składowania w Centralnym Banku Nasienia. Równocześnie kontrola ta miała na celu niedopuszczenie do składowania w CBN ejakulatów zanieczyszczonych drobnoustrojami patogennymi i warunkowo-patogennymi oraz zapobieżenie niebezpieczeństwu zakażenia nasienia składowanego w CBN w okresie przechowywania.

Materiał i metody

Do badań wykorzystywano nasienie mrożone w kulkach, pochodzących od buhajów użytkowanych rozplodowo, uznanych za wolne od brucelozy, tbc, mętwika płodowego i rżęsiśka bydłowego. Przebadano 2856 ejakulatów pochodzących od 461 buhajów z 48 Państwowych Zakładów Unasieniania Zwierząt. Metodyka badania nasienia oparta była na instrukcji wydanej przez Departament Weterynarii.

Przed przystąpieniem do analizy bakteriologicznej rozmrażano nasienie w temp. 40°C. Dla ustalenia stopnia zanieczyszczenia nasienia pobierano z każdego ejakulatu 0,5 ml i sporządzano rozcieńczenie w jałowym roztworze NaCl w stosunku od 1:100 do 1:10 000. Następnie z każdego rozcieńczenia wysiewano po 0,05 ml na 3 płytki agaru z 5% dodatkami odwiłkniętej krwi baraniej oraz na 3 płytki agaru zwykłego. Płytki inkubowano 48 godzin w temp. 37°C oraz przetrzymywano 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po zakończeniu inkubacji obliczano ilość kolonii na każdej płytce, wyliczano średnią i po przemnożeniu przez odpowiedni współczynnik uwzględniający stopień rozcieńczenia otrzymywano ilość drobnoustrojów w 1 ml nasienia mrożonego.

*) Praca wykonana w ramach problemu 132-E, koordynowanego przez Instytut Zootechniki.

Równoległe z badaniem ilościowymi przeprowadzono analizę jakościową. W tym celu rozmrożoną próbkę nasienia wysiewano na płytki z agarem zwykłym oraz z agarem z krwią. Płytki inkubowano jw. Następnie stosując rutynowe metody bakteriologiczne dokonywano identyfikacji drobnoustrojów z uwzględnieniem rodzajów dominujących w posiewie. Szczególną uwagę zwracano na drobnoustroje uważane za fakultatywnie patogenne, a mianowicie: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus β hemolyticus*, *Corynebacterium pyogenes*. Ejakulatory, w których wyizolowano przynajmniej jeden z wyżej wymienionych drobnoustrojów, dyskwalifikowano jako nie nadające się do składowania w CBN.

Nasienie, przeznaczone na eksport oraz pochodzące z importu, poddawano badaniu bakteriologicznemu według metody podanej wyżej, poszerzonej o przepisy zawarte w instrukcji wydanej przez Komisję Rolną RWPg w Pradze w styczniu 1970 r.

Wyniki

Spośród 2856 przebadanych ejakulatów jedynie 115, czyli 4% było wolnych od zanieczyszczeń bakteryjnych. Średnio w 1 ml nasienia znajdowało się 178 842 bakterie. Zawierających nie więcej jak 5000 bakterii było 996

Tab. 1. Liczba bakterii stwierdzonych w 1 ml nasienia mrożonego

Bakterii w 1 ml nasienia (w tys.)	Ejakulatów	
0—100	2.119	(74,19%)
100—200	205	(7,17%)
200—300	109	(3,81%)
300—400	59	(2,06%)
400—500	42	(1,47%)
500—600	22	(0,7%)
600—700	25	(0,8%)
700—800	26	(0,9%)
800—900	19	(0,6%)
900—1.000	16	(0,5%)
1.000—1.100	14	(0,4%)
1.100—1.200	12	(0,4%)
1.200—1.300	14	(0,4%)
1.300—1.400	6	(0,2%)
1.400—1.500	6	(0,2%)
> 1.500	162	(5,7%)
Razem	2.856	(100,0%)

ejakulatów, co stanowiło 34,8%. Z kolei 74,2% stanowiły ejakulatory, w których stwierdzono do 100 000 drobnoustrojów. Na ejakulatory zawierające od 100 000 do 500 000 bakterii w 1 ml przypadało 14,5% badanych próbek. Powyżej tej wielkości niewielkie ilości ejakulatów znajdowały się we wszystkich klasach przyjętego podziału, przy czym w grupie wykazującej powyżej 1 500 000 drobnoustrojów w 1 ml nasienia było jeszcze 5,6% badanych ejakulatów (tab. 1).

Biorąc z kolei pod uwagę zakłady unasienniania, z których pochodziły badane ejakulatory, nie było ani jednego, z którego wszystkie ejaku-

Tab. 2. Stopień zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia produkowanego w 48 zakładach unasienniania

Liczba badanych ejakulatów z poszczególnych PZUZ	Bakterii w 1 ml (ϕ)	% ejakulatów, w których stwierdzono <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
43	1.813	0
22	2.545	0
30	3.666	16,6
14	7.000	28,5
6	7.166	0
20	8.100	0
40	11.900	15,0
33	15.424	9,0
29	16.275	6,8
46	17.652	0
71	17.732	0
134	35.517	2,8
133	37.879	18,0
41	37.980	14,6
29	57.413	10,3
30	60.033	0
57	61.140	0
66	66.136	0
37	101.486	0
28	105.214	0
46	109.934	10,8
8	119.250	0
178	156.056	5,6
223	156.502	3,5
121	160.140	17,3
101	165.069	0
10	176.600	0
7	179.857	57,1
167	180.371	13,1
144	185.097	11,6
12	206.583	8,3
4	227.500	0
87	237.632	8,0
134	243.626	0
70	250.857	11,4
16	252.250	0
75	264.213	18,6
105	302.888	33,3
34	309.588	58,8
47	329.382	10,6
46	364.315	13,0
8	379.125	0
42	388.904	0
88	417.136	20,4
54	447.166	0
23	481.173	0
4	492.500	0
93	728.634	11,8

latory byłyby wolne od zanieczyszczeń. Jednak różnice między poszczególnymi zakładami były bardzo znaczne. Nasienie wyprodukowane w trzech PZUZ zawierało średnio poniżej 5000 bakterii w 1 ml. Z kolei 18 zakładów (37,5%) produkowało nasienie zawierające średnio do 100 000 drobnoustrojów. Dalszych 29 zakładów produkowało nasienie zawierające od 100 000 do 500 000, a jeden dostarczył nasienie zawierające średnio 728 634 bakterii w 1 ml (tab. 2).

Częstotliwość występowania drobnoustrojów fakultatywnie patogennych w nasieniu pochodzącym z poszczególnych zakładów wahała się w szerokich granicach. Na 48 zakładów, z których pochodziło badane nasienie, w 22 nie stwierdzono obecności tych drobnoustrojów w nasieniu. Natomiast w nasieniu pochodzącym z 21 zakładów unasienniania stwierdzono zanieczyszczenia w granicach 1—20%, w 3 w granicach 20—40% i w 2 zakładach zanieczyszczenia tego rodzaju dotyczyły przeszło 50% badanych ejakulatów (tab. 3).

Tab. 3. Częstotliwość stwierdzenia obecności drobnoustrojów fakultatywnie patogennych w nasieniu pochodzącym z 26 zakładów unasienniania

Ilość ejakulatów z poszczególnych PZUZ		%
przebadanych	zanieczyszczonych	
139	4	2,8
223	8	3,5
178	10	5,6
29	2	6,8
87	7	8,0
12	1	8,3
33	3	9,0
29	3	10,3
47	5	10,6
46	5	10,8
70	8	11,4
146	17	11,6
93	11	11,8
46	6	13,0
167	22	13,1
41	6	14,6
40	6	15,0
30	5	16,6
121	21	17,3
133	24	18,0
75	14	18,6
88	18	20,4
14	4	28,5
105	35	33,3
7	4	57,1
34	20	58,8
2.033	269	13,2

Najczęściej stwierdzano obecność *Pseudomonas aeruginosa*, bo aż w 269 przypadkach, co stanowiło 9,4% wszystkich badanych ejakulatów. Znacznie rzadziej występował *Streptococcus β hemolyticus*, bo w 37 przypadkach (1,2%) i *Staphylococcus aureus* w 18 (0,6%). Obecność *Corynebacterium pyogenes* stwierdzono jedynie w sześciu ejakulatach (tab. 4).

Zwraca uwagę częstotliwość stwierdzenia obecności pałeczki ropy błękitnej. Obecność tej bakterii stwierdzono w nasieniu pochodzącym

z 26 zakładów unasienniania w ilości od 3% a dochodzącej aż do 58% ejakulatów pochodzących z poszczególnych zakładów (tab. 2).

Nasienie importowane miało lepsze wskaźniki higieniczne pod względem liczby bakterii znajdujących się w 1 ml. Na przebadanych 70 ejakulatów pochodzących z importu z 13 krajów, nasienie z 3 było jałowe, a u pochodzącego z dalszych dwu wyhodowano poniżej 50 bakterii z 1 ml. Nasienie pochodzące z pozostałych krajów w dwu przypadkach wykazywało około tysiąca bakterii w 1 ml, w następnych trzech około 5000, dalszych dwu 19 000 i 27 000, a tylko w jednym transporcie zawierającym 14 ejakulatów było średnio 206 442 bak-

zakresie jeszcze ustalonego poglądu, wydaje się jednak oczywiste, że należy dążyć do posługiwania się nasieniem wykazującym możliwie jak najmniejszy stopień zakażenia. Wprowadzenie bowiem do dróg rodnych samicy materiału zakażonego może być niewątpliwie traktowane jako jeden z czynników obniżających płodność.

Bardzo wyraźne różnice jakie wystąpiły pomiędzy poszczególnymi zakładami unasienniania wskazują na konieczność zwrócenia uwagi na higienę produkcji nasienia. Jest to dziedzina, do której może zbyt mało uwagi się jeszcze przykładać. Za niepokojący, wydaje się, można uważać również stosunkowo znaczny odsetek ejakulatów zakażonych *Pseudomonas aeruginosa*, jakkolwiek i w tym przypadku nie ma ostatecznie ustalonego poglądu na rolę tego drobnoustroju w procesach rozrodu zwierząt.

Zagadnienie higieny produkcji nasienia wydaje się być szczególnie istotne obecnie, gdy występują znane trudności z dodatkiem antybiotyków nie wywierających szkodliwego działania na plemniki.

Biorąc pod uwagę poprzedni okres kontroli bakteriologicznej nasienia mrożonego relacjonowany oddzielnie (6) wydaje się, że w ciągu ostatnich dwu lat sytuacja w zakresie stopnia zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia mrożonego oraz częstotliwości występowania i rodzaju spotykanych drobnoustrojów warunkowo patogennych nie uległa istotnej zmianie.

Wnioski

1. Wskazana jest poprawa higieny produkcji nasienia.
2. Wskazane wydaje się ustalenie zasad kontroli sanitarnej nasienia znajdującego się w obrocie krajowym, a zwłaszcza pochodzącego z importu.

Piśmiennictwo

1. Lorrman W.: Versuche zur Keimübertragung bei der Tiefgefrierkonservierung von Samen in Pelletform. Praca doktorska. Hannover 1967.
 2. Müller W., Leipnitz Ch., Strauch D.: Berl. Münch. tierärztl. Wschr. 4, 63, 1968.
 3. Piasecka-Serafin M., Branny J., Wierzbowski S.: Medycyna Wet. 35, 497, 1969.
 4. Piasecka-Serafin M., Wierzbowski S.: Fortpfl. Besam. Haustiere 6, 365, 1970.
 5. Stegg L.: 6th Int. Congr. Animal Reprod. Paris 2, 1163, 1968.
 6. Wierzbowski S., Kruczek G., Gątkiewicz A., Wierchoś E.: Proc. Danish-Polish Conf. „Actual Biol. and Hygienic Problems of A. I. in Cattle” 60, 1973.
- Adres autora: prof. dr Stefan Wierzbowski, 32-083 Balice k/Krakowa.

Вержбовски С., Шмыд Д. — **Вактерийные загрязнения мороженого семени.**

Из 2856 исследованных эякулятов только 115 (4,0%) не содержало бактериальных загрязнений, а 34,8% содержало меньше чем 5000 бактерий в 1 мл. Среднее количество бактерий в 1 мл семени равнялось 178 842. Из условно патогенных бактерий чаще всего устанавливали: *Pseudomonas aeruginosa* (9,4%), *Streptococcus β hemolyticus* (1,2%), *Staphylococcus aureus* (0,6%), и *Corynebacterium pyogenes* (0,2%).

Tab. 4. Występowanie bakterii uważanych za warunkowo patogenne

Rodzaj bakterii	Liczba ejakulatów	% ogólnej liczby badanych ejakulatów
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	269	9,4
<i>Streptococcus β-hemolyticus</i>	37	1,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	0,6
<i>Corynebacterium pyogenes</i>	6	0,2

terii. Średnio w 1 ml nasienia 70 badanych ejakulatów znajdowało się 21 075 bakterii. Natomiast nasienie importowane niewiele różniło się od krajowego pod względem zanieczyszczeń drobnoustrojami fakultatywnie patogennymi. Podobnie jak w nasieniu krajowym najczęściej spotykanym drobnoustrojem z tej grupy był *Pseudomonas aeruginosa*, którego obecność stwierdzono w 8,6% importowanych ejakulatów. W jednym przypadku wyhodowano paciorkowca *β hemolyticus*, a w dwu dalszych pałeczkę okrężnicy.

Omówienie wyników

Na podstawie zebranych danych można stwierdzić, że nasienie produkowane w naszych zakładach unasienniania wykazuje stosunkowo wysoki stopień zanieczyszczeń bakteryjnych. Stwierdzona średnia ilość bakterii w 1 ml nasienia jest znacznie wyższa w porównaniu z nasieniem importowanym a także bardzo znacznie odbiega od propozycji jakie są wysuwane w ramach ustaleń Komisji RWPG i na naradach ISO, jako mające obowiązywać w międzynarodowym obrocie nasienia.

Jak wiadomo, sugestie te idą w kierunku przyjęcia granicy 500 względnie 5000 bakterii w 1 ml nasienia jako wymogu obowiązującego w międzynarodowym obrocie.

Nie wchodząc w rozważania czy wielkości te wynikają z zależności pomiędzy stopniem zanieczyszczenia bakteryjnego nasienia a jego płodnością, gdyż jak się wydaje nie ma w tym

Wierzbowski S., Szmyd D. — Bacterial contaminations of frozen semen.

Of 2856 examined ejaculates, only 115 (4.0%) were free of bacterial contaminations. There were 34.8% with no more than 5000 bacteria per 1 ml of semen.

On the average 178 842 were found in 1 ml of semen. Among potentially pathogenic bacteria the most commonly were found *Pseudomonas aeruginosa* (9.4%), *Streptococcus beta haemolyticus* (1.2%), *Staphylococcus aureus* (0.6%) nad *Corynebacterium pyogenes* (0.2%).

STEFAN JACZEWSKI, JERZY PIECHACZEK

Zachowanie płciowe buhajów i jego wpływ na cechy nasienia w warunkach produkcyjnych

Z Instytutu Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej AR we Wrocławiu

Gdy w 1952 r. dwaj badacze angielscy Polge i Rowson opracowali metodę konserwacji nasienia w niskich temperaturach, stworzyło to szansę szybszego doskonalenia bydła poprzez inseminację krów nasieniem sprawdzonych buhajów. Uwypuklająca się rola, jaką odgrywa samiec, wymaga podejmowania zabiegów celem poznania właściwości zachowania płciowego reproduktorów. Ponieważ niewielki ich procent uzyskuje pozytywną ocenę i to w stosunkowo późnym wieku, zachodzi konieczność wprowadzenia nowych kryteriów selekcji hodowlanej buhajów. Tym nowym kryterium wydaje się, że powinno być między innymi zachowanie płciowe reproduktorów przeznaczonych do użytkowania w PZUZ.

Celem podjętych badań było określenie na drodze obserwacji niektórych właściwości pobudzenia płciowego buhajów i wykazanie wpływu na cechy nasienia.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły obserwacje nad zachowaniem płciowym i jakością nasienia 56 buhajów (29 szt. rasy ncb i 27 szt. rasy nczb). Badania przeprowadzono w WPZUZ w Karczowie k/Opola od stycznia do sierpnia 1973 r.

Wierzbowski (8, 9) dzieli zachowanie płciowe na szereg zjawisk: pobudzenie płciowe, akt płciowy, wydajność płciowa oraz odnowienie zdolności do wysiłku płciowego. W warunkach zakładu produkcyjnego, gdzie przeprowadzano obserwacje kryteriami stanowiącymi ocenę reproduktorów były niektóre elementy zachowania płciowego:

- czas wspięcia — od momentu wejścia buhaja na płytę stanowiskową, na której znajdował się prowokator do momentu wspięcia (w sekundach),
- czas ejakulacji — od momentu wspięcia do chwili uzyskania ejakulatu (w sekundach),

— łatwość oddawania nasienia — ilość wspięć na jeden ejakulat.

Badając jakość nasienia poszczególnych reproduktorów określono następujące cechy:

- objętość ejakulatu (w ml),
- koncentrację plemników (w tys./mm³),
- plemniki żywe w ejakulacie (w %).

Przy wykonywaniu obserwacji dotyczących temperamentu, buhaje podzielono na dwie grupy: o temperamencie spokojnym i zrównoważonym oraz złośliwym i nerwowym. Kryterium podziału na te grupy stanowiło zachowanie się poszczególnych osobników wobec obsługi i podczas czynności związanych z ich użytkowaniem rozplodowym.

Analizując buhaje pod względem ciężaru zastosowano następujący podział: lekkie — do 800 kg i ciężkie powyżej 1000 kg. Każda z grup liczyła po 10 osobników obu ras. W pierwszej grupie średni wiek buhajów wynosił 3 lata, w drugiej 7 lat.

Przy rozpatrywaniu linii genetycznych każdą z 6 linii reprezentowało 5 wycenionych buhajów.

We wszystkich obserwacjach brano pod uwagę osiem kolejnych ejakulatów od każdego z buhajów. Próby te charakteryzowały średnie dla elementów zachowania płciowego reproduktorów i właściwości ich nasienia.

Wyniki i omówienie

Pobudzenie płciowe. Rozpocynało się już z chwilą wyprowadzenia buhajów z obory. W miarę upływu czasu poszczególne osobniki stawały się coraz bardziej niespokojne charakterystycznie porykując. Szczególnie niepokój wykazywały buhaje rasy nczb. Gdy oborowi przystępowali do oprowadzania ich po obwodzie koła jeden za drugim, wówczas obserwowano się intensywne obwąchiwanie zadu poprzedzającego buhaja oraz próby wzajemnego obskakiwania.

Tab. 1. Temperament a elementy zachowania płciowego buhajów i charakterystyka ich nasienia

Temperament	Elementy zachowania płciowego i właściwości nasienia					
	Czas wspięcia (sek)	Czas ejakulacji (sek)	Łatwość oddawania nasienia	Objętość (ml)	Koncentracja plemników (tys./mm ³)	Plemniki żywe (%)
Spokojny	9,96	4,82	2,12	4,99	1.073	78,17
Złośliwy	6,38	4,84	2,16	4,62	984	75,36