

Lyczyński A., Korzyniewski H. — **The influence of semen storage in hydrogen atmosphere before freezing on its fertilizing value.**

The studies were performed with an ejaculate fraction rich in spermatozoa derived from 7 boars. The semen was stored without dilution in a normal atmosphere at room temperature for 1—1.5 hr. Then it was diluted with an glucose-egg yolk-glycerol diluent and preserved in a hermetic glass utensil. By the use of a vacuum-pump, the air was aspirated and hydrogen introduced. The semen saturated with hyd-

rogen was stored at room temperature for 4—5 hr. Then it was stored at refrigerator at 0—5°C for 1 hr. The semen was frozen in the form of pills (0.13 ml content) on the plates of solidified carbon dioxide, and after about 5 min. it was inserted into a liquid nitrogen. Thawing was performed in a 315 mM glucose with the addition of antibiotics and oxytocin at 65—80°C. Twenty five sows were inseminated twice in the course of spontaneous estrus with 150 ml of semen containing 5×10^9 mobile spermatozoa. Two sows farrowed and in the third gravidity was diagnosed after post-slaughter examination.

STEFAN JACZEWSKI, IRENEUSZ DYNAROWICZ, JERZY MONKIEWICZ

Wpływ długotrwałego podawania związków miedzi i ołowiu na cechy nasienia królików

Z Instytutu Nauk Fizjologicznych Wydziału Weterynaryjnego AR we Wrocławiu

Z Instytutu Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej AR we Wrocławiu

W rolnictwie sprzed okresu intensywnego stosowania środków chemicznych przypadki bezpłodności zwierząt były stosunkowo rzadkie. W miarę nasilania się jego chemizacji, forsownego nawożenia gleb nawozami mineralnymi oraz wprowadzeniu nowych metod chowu zwierząt, obserwuje się nasilenie jałowości. Przyjmuje się, że zakłócenia płodności spowodowane są w 20% cechami dziedzicznymi, 20% infekcją organów rodnych, 50—55% błędami w żywieniu i utrzymywaniu, zaś 5—10% stanowią inne przyczyny (15). Niektórzy autorzy (12) są zdania, że aż 70% zaburzeń w reprodukcji zwierząt stanowią nowoczesne metody żywienia, a pozostałe 30% to inne przyczyny wpływające bezpośrednio lub pośrednio na ograniczenie płodności. Maletto (13) określa te przyczyny jako bezpłodność spowodowaną cywilizacją i techniką. Jedną z nich, mającą ujemny wpływ na cechy związane z rozplodem zwierząt, jest skażenie środowiska naturalnego. W rejonach uprzemysłowionych stwierdzono dodatnią korelację między zawartością miedzi, ołowiu i cynku w glebie a ich kumulacją w roślinach (11, 17). Rośliny te wchodziły w skład paszy podawanej zwierzętom.

Fizjologiczne i biochemiczne mechanizmy działające wewnątrz układu płciowego odgrywają bardzo ważną rolę w produkcji pełnowartościowego ejakulatu. Nadmiar lub niedobór jonów miedzi oraz innych mikroelementów może mieć istotny wpływ na funkcje płciowe organizmu (10). W nasieniu buhajów utrzymywanych w skażonym środowisku stwierdzono nadmierne nagromadzenie metali ciężkich (Pb, Cu) oraz skrócony okres przeżywalności plemników (14). Wykonanie badań porównawczych, określających wpływ skażonego środowiska na badane cechy, wymaga spełnienia wielu wymogów związanych z żywieniem, wiekiem, cięża-

rem i linią hodowlaną zwierząt doświadczalnych. Spełnienie tych warunków możliwe jest tylko przy wykonaniu badań ścisłych, w których wszystkie wymienione parametry są wyrównane.

Celem pracy było określenie wpływu podawanych związków miedzi i ołowiu na koncentrację i próbę przeżywalności plemników królików, jako podstawowych kryteriów oceny ich nasienia.

Material i metody

Badania wykonano na 14 królikach — samcach rasy średniej białej polskiej, o wyrównanym ciężarze i wieku. Od każdego samca, w odstępach 2—3 dniowych, pobierano nasienie do sztucznej pochwy. Po jego uzyskaniu i mechanicznym usunięciu bagietką galaretowatego żelu nasienie poddawano ocenie mikro- i makroskopowej oraz wykonywano badania uzupełniające, określając koncentrację plemników i próbę przeżywania, stosując rozrzedzalnik mlekowo-żółtkowy. Po uzyskaniu od każdego samca 1,5 ml nasienia, niezbędnego do oznaczeń chemicznych, zwierzęta losowo podzielono na dwie grupy doświadczalne (po 7 osobników w grupie). Pierwsza z nich otrzymywała codziennie, *per os*, miedź w postaci $CUSO_4$ w ilości równej 1 mg czystego Cu na sztukę, a druga — ołów w postaci $Pb(NO_3)_2$ w ilości równej 0,25 mg czystego Pb na sztukę. Po 74 dniach podawania związków chemicznych, chcąc uchwycić ewentualne zaburzenia w spermatogenezie, zaczęto z taką samą częstotliwością pobierać od zwierząt nasienie i poddawać je takiej samej ocenie jak w okresie wyjściowym. Przez cały okres czasu trwania eksperymentu zwierzęta karmiono identycznie granulowaną paszą dla królików z dodatkiem siana, marchwi pastewnej i wody *ad libitum*.

Oznaczanie zawartości metali ciężkich w nasieniu królików wykonano metodą polarograficzną (5). W analizach uwzględniono również zawartość cynku, chcąc przekonać się, w jaki sposób podawanie związków miedzi lub ołowiu wpłynęło na ilość tego pierwiastka w nasieniu zwierząt doświadczalnych. Wyniki badań poddano analizie statystycznej, stosując test t-Studenta dla stwierdzenia istotności różnic.

Omówienie wyników

Srednie wartości koncentracji i przeżywalności plemników oraz zawartości Cu, Pb, Zn (wyrażone w ppm) w nasieniu królików obu grup doświadczalnych przedstawiają tab. 1 i 2.

Tab. 1. Srednie wartości koncentracji i przeżywalności plemników oraz zawartości jonów Cu, Pb, Zn (w ppm) w nasieniu królików

Grupa zwierząt otrzymująca CuSO_4

Badane cechy nasienia	Okresy		Istotność różnic
	Wyjściowy	Końcowy	
Koncentracja plemników (tys/mm ³)	612.000	444.500	t=2,74*
Przeżywalność plemników (min)	42,9	41,5	t=2,08
Zawartość Cu	1,073	1,921	t=3,97**
Zawartość Pb	0,158	0,331	t=2,61*
Zawartość Zn	17,905	19,576	t=0,41

Objaśnienia: ** = różnica wysoko istotna; * = różnica istotna.

W grupie zwierząt otrzymujących związki miedzi stwierdza się statystycznie istotne różnice w koncentracji plemników przy nie zmniejszonej ich przeżywalności, oraz statystycznie istotny ($P < 0,001$) wzrost ilości miedzi przy również istotnym wzroście zawartości ołowiu ($P < 0,05$).

Miedź w organizmie zwierząt bierze udział w syntezie hemoglobiny oraz wchodzi w skład, lub jest aktywatorem licznych enzymów. Gubler i wsp. (8) stwierdzili, że miedź warunkuje ilościowo adsorpcję żelaza z przewodu pokarmowego. Inni autorzy (cyt. za 6) wykazali związek między jakością procesów rozrodczych, a zawartością cynku i miedzi w dawce pokarmowej. Cynk oddziałuje na funkcje rozrodcze za pośrednictwem przysadki mózgowej. Dzienna dawka jego soli w ilości 0,25 mg na 1 kg ciężaru ciała podawana przynajmniej przez 2—3 miesiące znacznie poprawiła spermiogenezę i płodność samców. Miedź podwyższa gęstość nasienia, ru-

Tab. 2. Srednie wartości koncentracji i przeżywalności plemników oraz zawartości jonów Cu, Pb, Zn (w ppm) w nasieniu królików

Grupa zwierząt otrzymująca $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$

Badane cechy nasienia	Okresy		Istotność różnic
	Wyjściowy	Końcowy	
Koncentracja plemników (tys/mm ³)	537.000	307.300	t=3,49**
Przeżywalność plemników (min)	39,6	22,6	t=7,10***
Zawartość Cu	1,402	0,947	t=3,93**
Zawartość Pb	0,140	1,971	t=7,94***
Zawartość Zn	21,498	19,347	t=1,03

Objaśnienia: *** = różnica wysoko istotna; ** = różnica wysoko istotna.

chliwość plemników oraz wpływa korzystnie na odruchy płciowe. Jednakże zbyt wysoki dodatek miedzi do paszy może być niebezpieczny ze względu na jej toksyczne działanie. Stały chociaż nieduży nadmiar związków miedzi w paszy, może powodować nagromadzenie się tego pierwiastka w wątrobie (7). Z nieznanych dotychczas powodów miedź może zostać nagle uruchomiona i przejść do krwi powodując hemolizę i śmierć. Comar (4) sugeruje, że rozpuszczalny siarczan miedzi dodany do paszy, ze względu na zwiększone wchłanianie, może działać toksycznie. Potwierdzają tę hipotezę wyniki niniejszych badań, gdzie nawet w niskich dawkach miedź przenikając do nasienia, powodowała znaczne obniżenie koncentracji plemników i osłabienie odruchów płciowych królików. Wydaje się słuszne stwierdzenie (18), że wrażliwość na toksyczne działanie miedzi zależy od gatunku zwierzęcia. Trzoda chlewna znosi dawki miedzi w wysokości 1—1,5 g CuSO_4 na 1 kg paszy, kurczęta są bardziej wrażliwe, natomiast owce reagują wyraźnymi objawami zatrucia.

Ustalenie toksycznej dawki ołowiu nie jest łatwe; zależy od rodzaju związku, drogi wprowadzenia do organizmu oraz gatunku zwierzęcia. Najbardziej wrażliwe są przeżuwacze, dla których dawka śmiertelna tego pierwiastka wynosi 0,25—0,45 g na kg wagi żywej zwierzęcia, natomiast dla koni dawka jest 10 krotnie wyższa (1).

W grupie zwierząt otrzymujących związki ołowiu stwierdza się różnice istotne ($P < 0,001$) w obniżeniu przynależności plemników. Obserwuje się zwiększoną zawartość ołowiu w nasieniu królików i różnice wysoko istotne w koncentracji plemników oraz zmniejszony poziom miedzi.

Obserwacje te potwierdzają wyniki wcześniej przeprowadzonych badań (14). Zmniejszona zawartość plemników w nasieniu spowodowana jest niszczącym działaniem ołowiu i jego związków na tkankę mięszsową jąder, która przejawia się zanikiem kanalików nasiennych i zaburzeniami w spermatogenezie (15). Związki ołowiu najszybciej wchłaniane są przez organizm drogą oddechową, nieco wolniej z przewodu pokarmowego oraz przenikają stosunkowo łatwo przez nieuszkodzoną skórę (2, 16). Najczęstszym czynnikiem etiologicznym, powodującym zatrucie ołowiem u zwierząt, jest zwykle zjedanie karmy zanieczyszczonej różnymi związkami tego pierwiastka w różnych postaciach. Z chwilą wchłonięcia z przewodu pokarmowego — ołów i jego związki dostają się z krwią żyły wrotnej do wątroby, skąd część zostaje z żółcią wydalona do dwunastnicy a następnie wraz z kałem i moczem na zewnątrz. Część zaś dostaje się do krwi i płynów ustrojowych (19). Toksyczność ołowiu polega na odszczepieniu jonów ołowiowych, które wchodzi w reakcje z grupami SH i wypierają z nich inne metale, powodując unieczynnienie enzymów (1).

Wielu autorów uważa, że zatrucia ołowiem i jego związkami wywierają ujemny wpływ na cechy związane z rozrodem zwierząt. Stowé i Goyer (19) przypominają wyniki badań, gdzie zatrucia spowodowane octanem ołowiu, używanym jako składnik środków dezynfekujących, były przyczyną zmniejszonej płodności u ludzi i zwierząt. Autorzy w przeprowadzonych badaniach na szczurach stwierdzili, że kojarzenie samca po zatruciach ołowiem rodziców z samicą niezatrucaną wywołuje o 15% mniejsze mioty, 12% niższy ciężar potomstwa i 18% więcej upadków. Przy kojarzeniu samicy pochodzącej po zatruciach ołowiem rodziców ze zdrowym samcem ciężar miotów zmniejszył się o 19%, wielkość miotów obniżyła się o 26%, a śmiertelność dochodziła do 41%. Gdy samice i samce pochodziły po zatruciach tym pierwiastkiem rodziców, to pary takie plodziły potomstwo o 29% lżejsze, ich mioty były o 35% mniejsze, a śmiertelność wynosiła aż 67%.

Różnice w zawartości cynku, przy podawaniu zwierzętom związków miedzi lub ołowiu, okazały się statystycznie nieistotne i mieszczące się w granicach fizjologicznych. W czasie podawania zwierzętom związków (miedzi i ołowiu), zmniejszyła się nieznacznie objętość płynnej frakcji nasienia, którego barwa, w większości przypadków, z mleczno-śmietankowej stała się żółto-zielonkawa o ciemnym odcieniu. Inne parametry nasienia jak pH i ruch plemników nie odbiegały od normy.

Wnioski

1. W wyniku długotrwałego podawania królikom niskich dawek CuSO_4 są następujące zmiany w ich nasieniu:

a) obniżenie koncentracji plemników (z 612 tys. do 444,5 tys.),

b) wzrost ilości miedzi (z 1,073 do 1,921 ppm),

c) brak statystycznej różnicy w obniżeniu przeżywalności plemników.

2. W wyniku długotrwałego podawania królikom niskich dawek $\text{Pb}/\text{NO}_3/2$ są następujące zmiany w ich nasieniu:

a) obniżenie koncentracji (z 537 tys. do 307,3 tys.) oraz przeżywalności plemników (z 39,6 do 22,6 min),

b) wzrost ilości ołowiu (z 0,140 do 1,971 ppm) przy spadku ilości miedzi (z 1,402 do 0,947 ppm).

3. Podając związki miedzi lub ołowiu nie stwierdza się istotnych zmian w zawartości cynku w nasieniu królików.

4. Obserwuje się nieznacznie zmniejszoną objętość płynnej frakcji nasienia oraz zmianę jego barwy przy niezmiennych innych parametrach nasienia.

Piśmiennictwo

1. Beijers J. A., De Vael J.: Tijdschr. Diergeneesk. 74, 212, 1949.
2. Bołosiewicz M.: Medycyna Wet. 20, 611, 1964.
3. Bredow-Stechow W.: Mitt. dt. Landw. Ges. 85, 1076, 1970.
4. Comar C. L.: Izotopy promieniotwórcze w biologii i rolnictwie. PWN 1958.

5. Dynarowicz I., Mikołajczak B.: Zeszyty Nauk. AR Wrocław, Weterynaria 33, 149, 1975.
6. Gamcik P., Sakala J.: Zaburzenia płodności u bydła. PWRiL 1971.
7. Gancarz B.: Choroby układu trawiennego i przemiany materii u zwierząt. PWRiL 1972.
8. Gubler C. J., Lahey M. E., Chase M. S., Cartwright G. E., Wintrobe M. M.: Blood. 7, 1075, 1952.
9. Hamond P. B., Sorensen D. K.: I. am. vet. med. Ass. 23, 130, 1976.
10. Henning A.: Tierzucht. 6, 298, 1967.
11. Kozłowska J.: Biuletyn V Zjazdu PTNW Olsztyn 1974.
12. Loda P., Baboni Q. C.: Riv. di Zoot. 43, 102, 1970.
13. Maletto S.: Rilancio. 4, 25, 1972.
14. Monkiewicz J., Jaczewski S., Dynarowicz I.: Medycyna Wet. 11, 684, 1975.
15. Monkiewicz J., Dynarowicz I., Jaczewski S., Madej J. A.: Efekty długotrwałego podawania związków metali ciężkich na organizm królików (maszynopis).
16. Pomorski Z., Owczarewicz A., Romanowska M.: Medycyna Wet. 26, 729, 1970.
17. Rains D.: Nature 17, 210, 1971.
18. Ruszczyk Z., Preś J., Fritz Z.: Roczn. Nauk. roln. 49, 81-B-1, 1962.
19. Stowe H., Goyer R.: Fertility Sterility Baltimore Md. 22, 755, 1971.

Adres autora: dr Stefan Jaczewski, ul. Koźuchowska 7, 51-631 Wrocław.

Ячевски С., Дунарович И., Монкерич Е. — Влияние длительного задавания соединений меди и свинца на свойства семени кроликов.

Cel pracy sostojała w określeniu wpływu długotrwałego podawania królikom niskich dawek związków miedzi i ołowiu na koncentrację i przeżywalność plemników, jak również kryteriów oceny żywotności ich nasienia. W grupie zwierząt, otrzymujących CuSO_4 , stwierdzono obniżenie koncentracji przy niezmiennym przeżywalności nasienia. U zwierząt, otrzymujących $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, obserwowano znaczne obniżenie koncentracji i przeżywalności nasienia. Zadawanie związków miedzi i ołowiu, nie miało wpływu na zawartość cynku w nasieniu królików.

Jaczewski S., Dynarowicz I., Monkiewicz J. — The influence of long-lasting application of the compounds of Cu and Pb on the rabbit semen.

The purpose of the work was to determine the influence of long-lasting application of low doses of Cu and Pb on the concentration and the survival rate of rabbit spermatozoons as basic criteria of their semen evaluation. In animals receiving CuSO_4 there was found a decrease of semen concentration but their rate survival was unchanged. In animals which were given $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ there was observed a decrease of semen concentration and their survival rate. The application of Cu and Pb ions did not influence the content of Zn ions in the rabbit semen.

BIJLEVELD K., HARTMAN W.: Badania elektromyograficzne cieląt z porażeniem spastycznym. (Electromyographic studies in calves with spastic paresis). Tijdschr. Diergeneesk. 101, 805—808, 1976 (14).

Badania elektromyograficzne przeprowadzono na 10 cielętach w wieku 3—9 miesięcy z porażeniem spastycznym oraz na 9 zdrowych cielętach. U trzech chorych cieląt badania nie wykazały żadnych zmian w elektromyogramach wskazujących na chorobę mięśni lub zaburzenia w unerwieniu. U wszystkich chorych sztuk obserwowano natomiast zwiększoną aktywność elektromyograficzną głów mięśnia brzuchatego łydki i zginacza powierzchownego. Wyraźny wzrost aktywności mięśnia czterogłowego uda stwierdzono u dwóch cieląt po neurektomii nerwu piszczelowego. Objawy porażenia ustępowały zupełnie po przecięciu całkowitym ścięgna Achillesa w postawie stojącej zwierzęcia.