

przez konia urządzenia (ryc. 2). Następnie koń jest prowadzony na odległość 15 m od stajni, zawrocony i wprowadzony do niej. Analogicznie jak poprzednio jest notowane zachowanie się konia i rejestrowany czas wejścia do stajni obok obracających się kwadratów (ryc. 3).

Przedstawiona metoda wykazała dużą przydatność przy ocenie pobudliwości koni. Badania przeprowadzono w Państwowym Stadzie Ogierów (PSO) Białka w 1981 r. Ogółem badaniami objęto 57 ogierów, w tym 44 rasy małopolskiej, 12 wielkopolskiej i 1 pełnej krwi angielskiej. Wyniki oceny zamieszczono w tab. 2. Różnice średnich obydwu grup rasowych ogierów były nieznaczne, zarówno w odniesieniu do liczby punktów oceny za stereotyp zachowania się ogierów przy teście łęklivosti, jak i czasów ich reakcji przy wyjściu i wejściu do stajni. Nie stwierdzono więc różnic zachowania się ogierów spowodowanych przynależnością rasową, natomiast wystąpiły znaczne różnice osobnicze w obrębie danej grupy rasowej.

Jednocześnie w celu określenia przydatności zaprojektowanego testu łęklivosti do oceny zrównoważenia nerwowego koni porównano uzyskane przy jego użyciu wyniki ze średnią liczbą punktów zachowania się badanych ogierów ocenianych na podstawie 9 stereotypów (1 — przy wejściu masztalerza do boks; 2 — przy czyszczeniu i podnoszeniu nóg, 3 — przy wejściu obcego człowieka do boks, 4 — przy nakładaniu siodła, 5 — podczas wyprowadzania ze stajni, 6 — przy prowadzeniu w stępie

po placu, 7 — względem innych koni, 8 — przy podawaniu paszy, 9 — w czasie pracy pod siodłem). Dla wymienionych ocenianych cech niewymiernych ustalono skalę punktową zachowania się ogiera w obrębie poszczególnych stereotypów od 1 do 10 punktów. Przyjęto 1 pkt za najbardziej negatywny (niezrównoważony) stereotyp zachowania się pod względem zrównoważenia cech psychicznych, natomiast stereotyp zawierający cechy korzystne zachowania się konia był oceniany liczbą 10 pkt.

Omawianą współzależność ocen uzyskanych za pomocą testu łęklivosti oraz ocen łącznej liczby punktów za poszczególne stereotypy zachowania się ogierów potwierdzają wyliczone współczynniki korelacji (r_{xy}) zestawione w tab. 3. Niektóre z nich są ujemne, a większość jest istotnych ($P \leq 0,01$) co świadczy, że wraz ze wzrostem liczby punktów za zachowanie się ogiera maleje czas reakcji na bodziec wzrokowy (obracające się kwadraty). To znaczy, że im konie są spokojniejsze tym szybciej wychodzą i wchodzą do stajni oraz uzyskują większą liczbę punktów za oceniany stereotyp zachowania się przy teście łęklivosti.

Piśmiennictwo

1. Bobylev I. F.: Konev. 2, 19, 1960.
2. Brzeski E.: Acta agr. silv. zoot. 6, 17, 1966.
3. Budzyński M.: Prz. nauk. Lit. zoot. 3, 15, 1982.
4. Budzyński M., Grochowski W.: Prz. nauk. Lit. zoot. 1—2, 87, 1982.
5. Cena M.: Przegl. hod. 13, 8, 1967.
6. Zwoliński J.: Koń pol. 3, 14, 1970.

Adres autora: prof. dr Marian Budzyński, ul. Langiewiczza 3A m. 17, 20-032 Lublin

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

ZDZISŁAW BORYCZKO, JAN UDAŁA

Mikotoksyny a właściwości nasienia buhaja

Zakład Rozrodu Zwierząt Instytutu Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej AR,
ul. Judyma 6, 71-460 Szczecin

Obecność mikotoksyn związana jest z zakażeniem grzybami rodzaju *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Streptomyces* i innymi, głównie pasz oraz ziarna zbóż (1, 5). Grzyby te rozmnażając się w odpowiednich warunkach temperatury i wilgotności wytwarzają w różnych stadiach rozwojowych mikotoksyny, które mają właściwości gromadzenia się zarówno w nich samych, jak również dyfundują do podłoża. Toksyczność mikotoksyn jest różna w zależności od ich rodzaju; np. w przypadku ochratoksyn LD_{50} dla jednodniowych kurcząt według danych Steyn (13) wynosiła od 25 do 170 μ g.

Z coraz liczniej prowadzonych na ten temat badań wynika, że zarówno obecność grzybów

toksynotwórczych, jak i samych mikotoksyn może wywierać istotny wpływ na reprodukcję zwierząt domowych. Samborski i wsp. (10) stwierdzili roniczenia u krów, których czynnikiem etiologicznym były drożdżaki i grzyby toksynotwórcze wywołujące zmiany w łożysku. Wpływ mikotoksyn może się zaznaczyć również w okresie prenatalnym. Rubratoksyna B wykazywała u ciężarnych myszy właściwości mutagenne i teratogenne (2). U takich zwierząt jak szczury i myszy, z uwagi na typ łożyska charakteryzujący się cienką barierą łożyskową, mikotoksyny mają możliwość przechodzenia do tkanki płodu.

Z kolei Shreeve i wsp. (12) stwierdzili, że

ochratoksyna A i B podawana próśnym swniom pomiędzy 21 a 28 dniem ciąży nie powodowała zmian w drogach rodnych u zwierząt, jak również w 30-dniowych embrionach. Mikotoksyna ta przypuszczalnie nie przechodziła przez barierę łożyskową do płodów. U swni, które spożywały kukurydzę skażoną grzybem wytwarzającym inną mikotoksynę (zearalenon) notuje się przypadki występowania syndromu estrogennego (7). Na ujemny wpływ na procesy rujotwórcze zearalenonu zwrócili uwagę również Sherwood i Peberdy (11). U owiec aflatoksyna może wywoływać zaburzenia płodności (6). Mikotoksynom przypisuje się zmiany stwierdzone w jądrach u tryków połączone z nekrospermią (4). Grzyby toksynotwórcze stwierdza się także dość często podczas rutynowych badań mikrobiologicznych nasienia (3, 9).

Dopuszczając w związku z powyższym możliwość występowania mikotoksyn w nasieniu przeprowadzono badania *in vitro*, mające na celu określenie wpływu trzech mikotoksyn na właściwości biologiczne nasienia buhaja.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono na 41 ejakulatach nasienia pobieranego do sztucznej pochwy od 6 buhajów. Nasienie po rozcieńczeniu, z dodatkiem różnych mikotoksyn ochratoksyny A, kwasu penicylinowego i rubratoksyny B — inkubowano w temperaturze 37,5°C przez 60 minut. Mikotoksyny zostały wyprodukowane przez firmę chemiczną Makor Chemicals LTD (Izrael). Mikotoksyny rozpuszczano w małej objętości DMF (dwumetyloformamid), a następnie w określonej objętości buforu fosforanowego. Przygotowywano dwa rozcieńczenia mikotoksyn tak, aby w 1 ml badanej próby nasienia znajdował się 0,1 mg lub 0,01 mg substancji*). Jakość nasienia określono na podstawie odsetka żywych plemników przed i po 60-minutowej inkubacji, porównując wartości w próbkach zakażonych mikotoksynami z próbą kontrolną. W podobnym układzie badano aktywność aminotransferazy asparaginianowej. Przy pomocy aparatu Warburga określono objętość zużywanego tlenu w badanych próbach nasienia w odstępach 15-minutowych przeliczając końcowe wartości na 10⁸ plemników. Dla badanych parametrów obliczono wartości średnie i odchylenie standardowe, a analizę statystyczną przeprowadzono jednoczynnikową analizą wariancji.

Wyniki i omówienie

W trakcie przeprowadzonych badań w próbach nasienia, do których dodano mikotoksyny jeszcze przed rozpoczęciem inkubacji, stwierdzono obniżenie żywych plemników (tab. 1). Inkubacja spowodowała, że różnice te zaznaczyły się jeszcze wyraźniej, szczególnie w próbach z zawartością 0,1 mg/ml mikotoksyny w porównaniu z kontrolą. Podobne zjawisko, które przypisała działaniu mikotoksyn, zaobserwowała w nasieniu tryków Gorshova (4), stwierdzając nekrospermię u osobników ze zmianami klinicznymi w jądrach. W tym aspekcie rozważane były również przypuszczenia, że grzyby toksynotwórcze mogą wywołać guzowate procesy zapalne jąder u buhajów.

*) Badania, w których ustalono stopień rozcieńczenia mikotoksyn przeprowadzono w Klinice Położniczej i Ambulatoryjnej Zwierząt Uniwersytetu w Monachium.

Tab. 1. Procent plemników żywych po dodaniu badanych mikotoksyn i po 60 minutowej inkubacji w temp. +37°C (barwienie różnicowe eozy-na—nigrozyna)

Próba	n	Procent plemników żywych	
		przed inkubacją	po inkubacji
Kontrola	16	76 ± 7,1 a	69 ± 7,5 A
Nasienie z ochratoksyną A 0,01 mg/ml	16	73 ± 7,8 ab	66 ± 8,2 AB
Nasienie z ochratoksyną A 0,1 mg/ml	16	69 ± 10,2 b	60 ± 9,3 BC
Kontrola	17	74 ± 6,9 a	69 ± 6,6 A
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,01 mg/ml	17	69 ± 5,7 a	62 ± 6,1 aB
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,1 mg/ml	17	66 ± 7,3 a	56 ± 7,5 C
Kontrola	8	68 ± 5,6 a	67 ± 6,9 A
Nasienie z rubratoksyną B 0,01 mg/ml	8	65 ± 7,1 a	57 ± 7,5 AB
Nasienie z rubratoksyną B 0,1 mg/ml	8	60 ± 6,4 a	52 ± 6,6 BC

Objaśnienie: średnie oznaczone poszczególnymi literami różnią się istotnie w kierunku pionowym przy $p \leq 0,05$ (a, b, c) i $p \leq 0,01$ (A, B, C).

Tab. 2. Aktywność GOT w próbach nasienia o zawartości 0,01 i 0,1 mg/ml badanych mikotoksyn przed i po 60 minutowej inkubacji

Próba	n	Aktywność GOT w mU/ml	
		przed inkubacją	po inkubacji
Kontrola	16	106 ± 27,5 a	126 ± 33,7 A
Nasienie z ochratoksyną A 0,01 mg/ml	16	107 ± 19,1 a	135 ± 30,5 AB
Nasienie z ochratoksyną A 0,1 mg/ml	16	118 ± 28,0 a	161 ± 35,6 C
Kontrola	17	103 ± 15,7 a	110 ± 15,6 aA
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,01 mg/ml	17	102 ± 16,5 a	124 ± 19,6 bB
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,1 mg/ml	17	108 ± 16,5 a	149 ± 22,5 C
Kontrola	8	99 ± 10,4 a	107 ± 7,5 A
Nasienie z rubratoksyną B 0,01 mg/ml	8	99 ± 10,2 a	117 ± 11,5 AB
Nasienie z rubratoksyną B 0,1 mg/ml	8	105 ± 15,4 a	141 ± 14,2 C

Objaśnienie: średnie oznaczone poszczególnymi literami różnią się istotnie w kierunku pionowym przy $p \leq 0,05$ (a, b, c) i $p \leq 0,01$ (A, B, C).

Testowane mikotoksyny wpływały na zwiększenie uwalniania aminotransferazy asparaginianowej z plemników do osocza. Już samo do-

Tab. 3. Wpływ badanych mikotoksyn na zużycie tlenu w badanych próbach nasienia

Próba	n	Zużycie tlenu w ul na 10 ⁸ plemników po:			
		15 min.	30 min.	45 min.	60 min.
Kontrola	16	7,3 ± 0,8 A	12,9 ± 2,1 aA	18,4 ± 2,3 A	23,0 ± 3,0 aA
Nasienie z ochratoksyną A 0,01 mg/ml	16	6,3 ± 1,0 B	11,4 ± 1,9 bB	16,4 ± 1,9 B	20,6 ± 2,7 bB
Nasienie z ochratoksyną A 0,1 mg/ml	16	5,2 ± 0,7 C	10,0 ± 1,6 acC	13,3 ± 4,6 BC	17,4 ± 2,1 C
Kontrola	17	7,3 ± 1,0 A	14,2 ± 1,9 A	19,9 ± 1,8 A	25,9 ± 1,9 A
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,01 mg/ml	17	6,6 ± 0,4 B	13,8 ± 1,8 AB	18,9 ± 2,2 AB	24,2 ± 2,0 B
Nasienie z kwasem penicylinowym 0,1 mg/ml	17	5,9 ± 0,76 C	12,3 ± 1,7 C	17,1 ± 1,9 C	22,4 ± 2,2 C
Kontrola	8	7,3 ± 1,4 A	14,4 ± 1,1 A	20,0 ± 1,2 A	26,3 ± 1,2 aA
Nasienie z rubratoksyną B 0,01 mg/ml	8	6,3 ± 0,7 AB	13,3 ± 1,4 AB	18,5 ± 1,7 AB	24,4 ± 1,3 bB
Nasienie z rubratoksyną B 0,1 mg/ml	8	5,4 ± 1,6 BC	11,5 ± 1,3 C	16,1 ± 1,5 C	21,2 ± 1,6 C

Objaśnienie: średnie oznaczone poszczególnymi literami różnią się istotnie w kierunku pionowym przy $p \leq 0,05$ (a, b, c) i $p \leq 0,01$ (A, B, C).

danie mikotoksyn do prób nasienia w ilości 0,1 mg/ml spowodowało uwolnienie ilości tego enzymu. Po inkubacji różnice te były jeszcze większe pomiędzy próbkami kontrolnymi a skażonymi dawką 0,1 mg/ml wszystkich badanych mikotoksyn i okazały się w swych wartościach liczbowych statystycznie istotne (tab. 2). Pace i Graham (8) uważają, że uwalnianie GOT do osocza nasienia może świadczyć o uszkodzeniu osłonki mitochondrialnej plemników. Zmiany w mitochondriach komórkowych notowano również w zatruciach inną mikotoksyną, mianowicie aflatoksyną (5).

Wszystkie trzy badane mikotoksyny obniżyły zużycie tlenu przez plemniki w próbkach skażonych tymi substancjami. Różnice te można było zauważyć już po 15-minutowej inkubacji w próbkach z kwasem penicylinowym i rubratoksyną B (tab. 3). W 30 minucie inkubacji różnice te były już wyraźnie zaznaczone między próbą kontrolną a próbkami z zawartością 0,1 mg/ml wszystkich badanych mikotoksyn. W miarę upływu czasu inkubacji zjawisko to pogłębiało się. Można sądzić, że powodem tego było stopniowe obniżanie się odsetka plemników żywych, znaczniejsze w próbkach skażonych mikotoksynami.

Przy ocenie uzyskanych rezultatów należy zaznaczyć, że aczkolwiek wykazano wpływ badanych mikotoksyn na właściwości biologiczne nasienia, to jednak wzięte do doświadczenia dawki tych substancji były wysokie. We wcześniejszym wykonanych próbach dawki dziesięciokrotnie mniejsze niż 0,01 mg/ml badanych mikotoksyn nie wywoływały widocznych zmian w jakości nasienia.

Písmiennictwo

1. Chelkowski J., Goliński P., Trojanowska K., Szebiotko K.: *Medycyna Wet.* 37, 469, 1982.
2. Evans M. A., Harbisen R. D.: *Toxicol Appl. Pharm.* 39, 13, 1977.
3. Golubeva E. D.: *Sb. nauč. trud. selskochoz. Belorus. Akad. Gorki T.* 130, 45, 1974.
4. Gorshova K. N.: *Veterinarija, Moskwa*, 41, 85, 1964.
5. Kryński A., Rokicki E.: *Przeł. Hod.* 51, 2, 27, 1983.
6. Levis G., Marhsen L. M., Allcroft R.: *Vet. Rec.* 80, 312, 1967.
7. Ozergovic L.: *Veterinarija, Kijów*, 19, 525, 1970.
8. Pace M. M., Graham E. F.: *Biol. Reprod.* 3, 140, 1970.
9. Radev G.: *Dokl. selskochoz. Akad. Bulg.* 2, 81, 1974.

10. Samborski Z., Sielicka B., Szumigalska D., Madej J.: *Biul. VI Zjazdu PTNW* 1, 121, 1978.
11. Sherwood R., Peberdy J. F.: *Fed. Fm. Supplies* 64, 9, 1972.
12. Shreeve B. J., Patterson D. S. P., Pepin G. A., Roberts B. A., Wrathall A. E.: *Br. vet. J.* 133, 412, 1977.
13. Steyn P. S.: *Microbial toxins t. VI. Fungal toxins. Academic Press, New York*, s. 179—205, 1971.

Adres autora: doc, dr hab. Zdzisław Boryczko, ul. Częstochowska 6/11, 70-121 Szczecin

Борычко З., Удаля Я. — Микотоксины и свойства бычьего семени

Исследовали *in vitro* влияние 3 микотоксинов: ochratoksina A, пенициллиновой кислоты и рубратоксина на некоторые биологические свойства бычьего семени. Семя после взятия и разбавления при 2 разных дозах микотоксинов — 0,1 и 0,01 мг/мл — инкубировали в темп. 37°C 60 мин., исследуя живучесть живчиков, активность GOT и интенсивность дыхания.

Влияние исследуемых микотоксинов отметилось отчетливо при дозе 0,1 мг/мл этих веществ, вызывая понижение процента живых живчиков, рост активности глутаматаспатраттрансаминазы, освобождаемой в плазму семени, что, впрочем, может связываться с пониженной живучестью семени в зараженных пробах.

Boryczko Z., Udała J. — Mycotoxins and properties of the bull's semen

The effect of three toxins, i.e. ochratoxin A, penicillin acid and rubratoxin on the bull semen was examined. The semen after dilution with two different doses of micotoxin (0.1 and 0.01 mg/ml) was incubated at 37°C for 60 min and the vitality of spermatozoons, the activity of GOT, and the intensity of respiration were estimated. The influence of the micotoxins was apparent at the dose of 0.1 mg/ml bringing about a decrease of spermatozoons vitality, a growth of aspartic aminotransferase activity in the plasma of the semen, and a drop of oxygen use which could be associated with a decrease of the semen vitality.

JOHNSON P., DAWSON A., MC L., MOULD D. L.: Zmiany w białkach surowicy w gorączce pastwiskowej. (Serum protein changes in grass sickness). *Res. vet. Sci.* 35, 165—170, 1983 (2).

Stosując elektroferezę w żelu poliakrylamidowym określono charakter i zakres zmian w białkach surowicy kucyków zdrowych i z gorączką pastwiskową. U zwierząt, u których objawy kliniczne występowały przez co najmniej 2 dni zwiększał się poziom haptoglobiny. Na początku choroby ulegała zmianie także ruchliwość elektroforyczna albuminy surowicy.

G.