

лах матки. Применяя традиционную пипетку, только у 1 овцы в фазе граафового пузырька депонировали тушь на глубине 1/3 канала шейки. У овец в фазе желтого тела не удалось ввести тушь в канал шейки как традиционной, так и модифицированной пипеткой. Затем 23 овец иасеминировали семенем, замороженным в тубиках при помощи модифицированной пипетки, вводя глубоко внутривагинально семя. В одном цикле было оплодотворенных 16 (70%), а во втором очередные 3 овцы среди 5, повторивших охоту.

Ali S. B. A., Tischner M. — **Freezing of ram semen in aluminium packets and deep cervical insemination of ewes with a modified pipette**

Comparative studies were conducted on 98 ejaculates collected from 28 rams. The semen was frozen in aluminium packets and control glass ampules. A significant improvement ($p < 0.01$) was found in the mo-

tility and survival rates, as well as in the morphology of spermatozoa frozen in aluminium packets. Basing on results obtained from a morphological examination of the cervical canal, a modified insemination pipette (ball-tipped, slightly bent to the left at its initial part) was designed. A group of 29 control ewes was „inseminated” with India ink. Post-slaughter examination revealed that in 67% of ewes being in the Graafian follicle phase the ink deposited with the use of the modified pipette reached the body and horns of the uterus. While only in one ewe out of those „inseminated” with a traditional pipette the India ink reached the depth of 1/3 of the cervical canal. In ewes, which were in the corpus luteum phase, it was not possible to deposit the ink in the cervical canal using either the traditional or the modified pipette. Other 23 non-selected ewes were deep cervically inseminated with semen frozen in aluminium packets using the modified pipette. Sixteen (70%) ewes conceived within one cycle, and 3 out of the 5 ewes which returned to oestrus became pregnant in the second cycle.

ZOFIA LUBERDA, JERZY STRZEŻEK, ARTUR BIELSKI

Wpływ zawartości cynku w plazmie nasienia knura na aktywność DNaz i fosfataz oraz właściwości precipitujące tego płynu wobec żółtka jaja kurzego*)

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T, 10-718 Olsztyn-Kortowo

Rola jonów cynkowych w procesach rozroду nie jest jeszcze dokładnie określona. Tym niemniej w ostatnich latach poznano mechanizm ich działania na poziomie molekularnym. Jony Zn^{2+} okazały się aktywatorami niektórych enzymów nasienia (5), stabilizatorami chromatyny i błon plazmatycznych plemników (7), modulatorami procesów energetycznych omawianych komórek (6).

W przypadku knura jony Zn^{2+} wpływają na szereg właściwości biologicznych układu rozrodczego. Wiązane i transportowane przez specyficzne białko plazmy nasienia określają właściwości fizykochemiczne i biologiczne wymienionego płynu (2, 13, 14, 15). Białko zależne od jonów cynkowych kontroluje transport błonowy w segmencie wstawkowym plazmolemmy, wykazuje właściwości antybakteryjne oraz precipitujące wobec żółtka jaja kurzego. Wymienione właściwości białka plazmowego wydają się być uwarunkowane koncentracją jonów cynkowych (13).

Kontynuując nasze badania podjęliśmy próbę określenia wpływu różnych koncentracji jonów Zn^{2+} na aktywność wybranych enzymów hydrolitycznych oraz działanie precipitujące plazmy nasienia knura.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w plazmie nasienia knurów rasy wbp. Poziom jonów cynkowych oznaczano metodą spektrofotometrii absorpcji atomowej. Oznaczeń dokonywano w płomieniu powietrzno-acetylenowym przy zastosowaniu spektrofotometru firmy Pye Unicam model SP 2900. Plazmę rozcieńczano 0,01M kwasem cytrynowym w stosunku 1:50. Jako standardu używano $Zn(NO_3)_2$ w 0,01M kwasie cytrynowym. Zawartość cynku określano w $\mu g/cm^3$ plazmy.

Aktywność precipitującą plazmy nasienia wobec żółtka jaja kurzego oznaczano metodą podwójnej dyfuzji w żelu agarozowym (10). Dyfuzję przeprowadzono na 1% agarozie w 0,15 NaCl na płytkach Petriego o średnicy 5,5 cm. Grubość warstwy agarozy wynosiła 0,2—0,4 cm. Odległość między zbiorniczkiem centralnym a zbiorniczkami obwodowymi wynosiła 1 cm. W zbiorniczku centralnym umieszczano 15% roztwór żółtka jaja kurzego, w obwodowych plazmę nasienia. Inkubację prowadzono w temperaturze pokojowej od 48 do 72 godzin.

Aktywność DNaz oznaczano metodą Kurnicka (8). Próbkę plazmy inkubowano cztery godziny w temperaturze 37°C z odpowiednimi substratami w stosunku 1:15 dla DNazy I-zasadowej i 1:12 dla DNazy II-kwasnej. Substrat dla DNazy I zawierał: 0,0088% DNA 4,3mM $MgCl_2$, 14,3mM Tris-HCl (pH 7,6) oraz 0,0017% zieleni metylowej. Substrat dla DNazy II zawierał: 0,013% DNA, 42,7mM $MgCl_2$, 6,6mM buforu octanowego (pH 4,6) oraz 0,01% zieleni metylowej. Reakcję hamowano mieszaniną 0,33M cytrynianu sodu i 0,05M Tris-HCl (pH 7,5) w stosunku 1:3. Stopień redukcji barwy uwolnionej zieleni metylowej określano poprzez pomiar absorbancji przy długości fali 640 nm. Za jednostkę enzymatyczną (U) przyjęto taką ilość enzymu, która powoduje redukcję absorbancji o 1 jednostkę w ciągu 1 minuty.

* Praca wykonana w ramach CPBP 05.06 pt.: „Fizjologia i patologia rozroду zwierząt gospodarskich”.

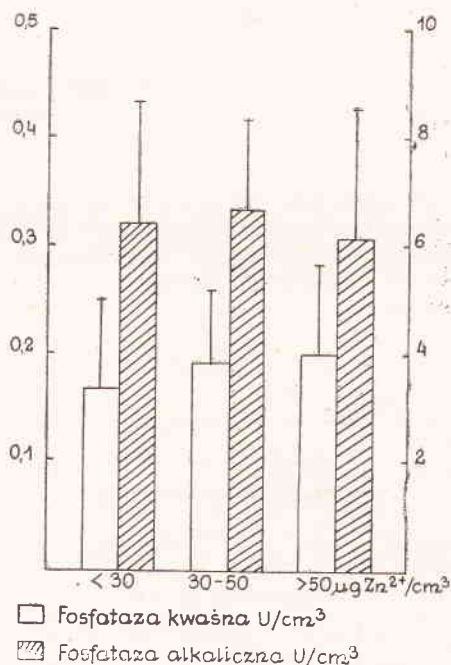
Aktywność fosfatazy alkalicznej i kwaśnej określano metodą Bessey'a i wsp. (1). Jako substratu używano p-nitrofenylofosforanu dwusodowego. Dla fosfatazy kwaśnej pH roztworu substratu wynosiło 4,9, zaś dla fosfatazy alkalicznej 9,3. Jako standardu używano p-nitrofenolu. Aktywność omawianych enzymów (U/cm^3) wyrażano liczbą μ moli uwolnionego p-nitrofenolu w ciągu 1 minuty przez 1 cm^3 plazmy.

Wyniki i omówienie

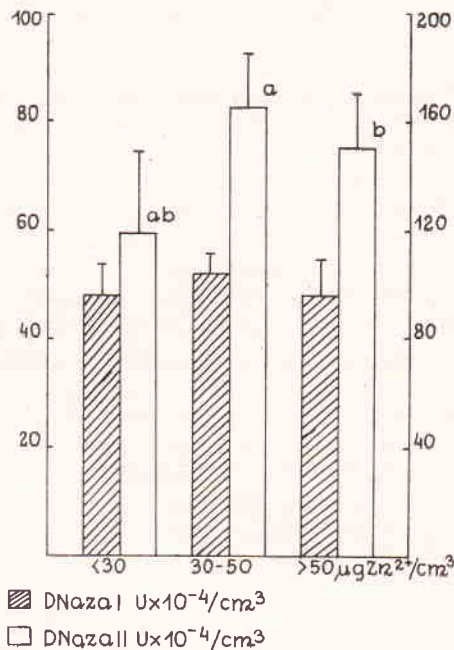
Poziom jonów cynkowych w badanych próbach plazmy nasienia knurów zawierał się w zakresie 17,22 do 166,91 $\mu g/cm^3$ i wynosił średnio $48,15 \pm 32,42\ \mu g/cm^3$ (tab. 1). Aktywność DNazy I-zasadowej była około 3-krotnie niższa od aktywności DNazy II-kwaśnej i odpowiadała uzyskanym przez nas wcześniej wartościom (4). Natomiast aktywność fosfatazy alkalicznej była około 30-krotnie wyższa niż fosfatazy kwaśnej (tab. 1). Wpływ różnych przedziałów zawartości jonów cynkowych na aktywność badanych enzymów przedstawiono na ryc. 1 i 2. Aktywność fosfatazy kwaśnej nieznacznie rosła wraz ze wzrostem koncentracji jonów cynkowych w plazmie nasienia (ryc. 1). Fosfataza alkaliczna najwyższą aktywność osiągała przy poziomie jonów cynkowych w przedziale wartości 30—50 $\mu g/cm^3$ plazmy nasienia. Nieco niższe aktywności tego enzymu zanotowano przy zawartości jonów cynkowych poniżej i powyżej badanych wartości granicznych. Odnotowany w naszych badaniach niewielki wpływ zróżnicowanego fizjologicznie poziomu jonów Zn^{2+} na aktywność omawianych enzymów spowodowany jest zapewne współdziałaniem tych enzymów z innymi jonami metali (3). Dla przykładu fo-

sfataza alkaliczna plazmy nasienia buhaja aktywowana jest głównie jonami Mg^{2+} (12).

Aktywność DNazy I i DNazy II w przedziale zawartości jonów cynkowych w plazmie nasienia do 30 $\mu g/cm^3$ i powyżej 50 $\mu g/cm^3$ przybierały wartości krzywej rozkładu normalnego (ryc. 2). Najwyższe aktywności obu DNaz odno-

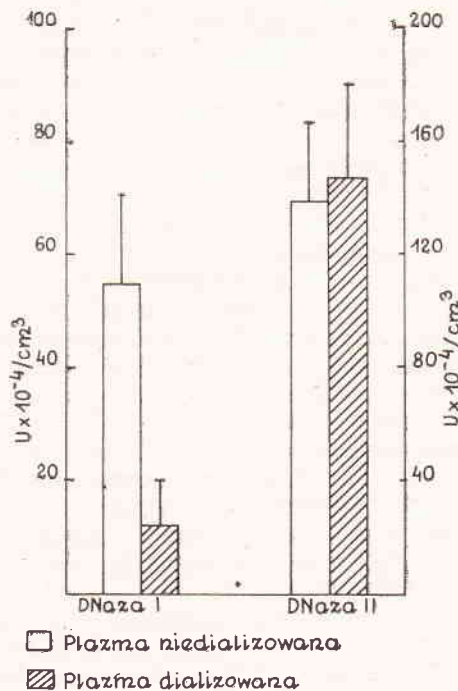


Ryc. 1. Wpływ poziomu jonów Zn^{2+} na aktywność fosfataz w plazmie nasienia knura (n=72)



Ryc. 2. Wpływ poziomu jonów Zn^{2+} na aktywność DNaz w plazmie nasienia knura (n=41)

Objaśnienia: a— $p \leq 0,01$, b— $p \leq 0,05$.



Ryc. 3. Aktywność DNazy I i DNazy II w niedializowanej i dializowanej wobec wody dejonizowanej (24 h) plazmie nasienia knura

towano przy zawartości jonów cynkowych w przedziale 30—50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ plazmy. W przypadku DNazy I aktywność enzymów wynosiła $52,01 \pm 3,16\text{U} \times 10^{-4}/\text{cm}^3$, zaś DNazy II — $166,09 \pm 23,66\text{U} \times 10^{-4}/\text{cm}^3$. W grupie ejakulatów z zawartością jonów Zn^{2+} powyżej 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ aktywność DNazy I była wysoko statystycznie istotnie zależna ($p \leq 0,01$) od poziomu tych jonów w plazmie nasienia (tab. 2). Dla DNazy II odnotowano podobną zależność na poziomie $p \leq 0,05$. Dializa plazmy nasienia wobec wody dejonizowanej nie miała wpływu na aktywność DNazy II, natomiast aktywność DNazy I obniżyła się o około 80% (ryc. 3). Obecność wolnych jonów cynkowych w plazmie nasienia knura okazała się niezbędna dla aktywności DNazy I. Jednak zbyt wysoka koncentracja tych jonów może obniżyć aktywność omawianego enzymu (ryc. 2). Podobne rezultaty uzyskał Quinn (11) dla DNazy I nasienia buhaja.

Wpływ poziomu jonów cynkowych w plazmie nasienia na aktywność precypitującą tego płynu wobec żółtka jaja kurzego prezentuje tab. 3. Liczba łuków precypitacyjnych wzrastała wraz z koncentracją jonów Zn^{2+} . Najniższą aktywność precypitującą plazmy nasienia wobec żółtka jaja kurzego obserwowano przy stężeniach Zn^{2+} od 17,22 do 30 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. W próbach tych w większości przypadków odnotowano tylko jeden łuk precypitacyjny lub brak reakcji. Przy zawartości jonów Zn^{2+} w zakresie 30—50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ stwierdzono nasilającą się aktywność precypitującą plazmy nasienia wobec żółtka jaja kurzego. Zjawisko powyższe przejawiało się występowaniem 1 do 2 łuków precypitacyjnych (tab. 3). Szczególnie wysoką aktywność precypitującą plazmy obserwowano przy zawartości jonów Zn^{2+} powyżej 50 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$. W próbach tych podczas dyfuzji w żelu agarozowym z żółtkiem jaja kurzego obserwowano 2 lub 3 łuki precypitacyjne. W plazmie nasienia knura aktywność precypitującą wobec fosfolipidów żółtka jaja kurzego wykazuje białko zależne od jonów Zn^{2+} (13, 14). Właściwości biologiczne białka uzależnione są od poziomu jonów cynkowych (15). Zjawisko powyższe związane jest przypuszczalnie z I-rzędową strukturą omawianego białka plazmowego. Strzeżek i Hopfer (13) odnotowali w jego składzie dużą ilość hydroksyaminokwasów. Autorzy sugerują, że aktywne grupy hydroksylowe aminokwasów mogą pośredniczyć w tworzeniu związków kompleksowych z jonami Zn^{2+} . Z podobną sugestią występuje Lukač i wsp. (9) w odniesieniu do białka wiążącego jony Ca^{2+} , izolowanego z gruczołów pęcherzykowych i plazmy nasienia buhaja. Wymieniony autor uważa, że grupy OH^- determinują właściwości chelatujące tego białka. Odnotowane w naszych badaniach różnicowane osobniczo właściwości biologiczne białka zależnego od jonów Zn^{2+} wyraźnie determinowane były poziomem endogenego cynku w plazmie.

Uzyskane wyniki wskazują, że nawet w zakresie niewielkiego fizjologicznego różnicowa-

Tab. 1. Poziom cynku oraz aktywność DNazy i fosfatyz w plazmie nasienia knura

Zn^{2+} $\mu\text{g}/\text{cm}^3$	DNaza I $\text{U} \times 10^{-4}/\text{cm}^3$	DNaza II $\text{U} \times 10^{-4}/\text{cm}^3$	Fosfataza alkaliczna U/cm^3	Fosfataza kwaśna U/cm^3
n=72	n=41	n=41	n=72	n=72
$48,15 \pm 32,42$	$49,32 \pm 7,11$	$146,10 \pm 33,46$	$6,42 \pm 3,03$	$0,187 \pm 0,107$

Tab. 2. Współczynniki korelacji między zawartością jonów cynkowych a aktywnością DNazy i fosfatyz w plazmie nasienia knura

Aktywność enzymów	Koncentracja jonów Zn^{2+} ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$)		
	< 30	30-50	> 50
DNaza I	0,348	0,385	0,674**
DNaza II	0,294	0,164	0,546*
Fosfataza alkaliczna	-0,115	-0,01	0,288
Fosfataza kwaśna	-0,04	-0,09	-0,02

Objaśnienia: * — różnica statystycznie istotna przy $p \leq 0,05$, ** — różnica statystycznie wysoko istotna przy $p \leq 0,01$.

Tab. 3. Powstawanie łuków precypitacyjnych podczas dyfuzji w żelu agarozowym plazmy nasienia z żółtkiem jaja kurzego w zależności od poziomu jonów Zn^{2+}

Koncentracja Zn^{2+} ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) w plazmie nasienia	Ilość prób o liczbie łuków precypitacyjnych			
	0	1	2	3
< 30 n=23	10	12	1	0
30-50 n=30	3	17	10	0
> 50 n=23	0	2	13	8

Objaśnienie: n — ilość prób.

nia poziomu jonów Zn^{2+} w plazmie nasienia knura mogą zmieniać się właściwości fizykochemiczne układów enzymatycznych i innych aktywnych białek omawianego płynu.

Zjawisko powyższe może wpływać na właściwości biologiczne nasienia knura oraz jego przydatność do postępowania technologicznego, zwłaszcza w przypadku konserwacji nasienia w niskich temperaturach.

Piśmiennictwo

- Bessey O. A., Lowry O. H., Brock M. J.: J. biol. Chem. 164, 321, 1946.
- Bournnell J. C., Noble E. A., Andrews M. G.: J. Reprod. Fert. 45, 415, 1975.
- Cathalla G., Brunel C., Chappelet-Tordo D., Lazdunski M.: J. biol. Chem. 15, 6046, 1975.
- Czebot H., Strzeżek J.: Medycyna Wet. 5, 291, 1986.
- Hidiroglou M., Knipfel J. E.: J. Dairy Sci. 67, 1147, 1984.
- Huacuja L., Sosa A., Delgado N., Rosado A.: Life Sci. 13, 1383, 1973.
- Huert J. L.: Arch. Androl. 16, 97, 1986.
- Kurnick N. B.: Assay of deoxyribonuclease activity, w: Methods of biochemical analysis, red. D. Glick, t. 9, John Wiley, New York 1962.
- Lukač J., Pribanič M., Koren E.: J. Reprod. Fert. 48, 77, 1976.
- Ouchterlony Ö.: Gel diffusion techniques, w: Immunological methods, red. J. F. Ackroyd, Blackwell Sci. Publ., Oxford 1964, s. 55—65.

11. Quinn P. J.: J. Reprod. Fert. 17, 35, 1968.
12. Strzeżek J., Glogowski J.: Int. J. Biochem. 10, 135, 1979.
13. Strzeżek J., Hoffer E.: Anim. Reprod. Sci. 13, 117, 1987a.
14. Strzeżek J., Hoffer E., Zaborniak A.: Anim. Reprod. Sci. 13, 133, 1987b.
15. Strzeżek J., Magierska E., Glogowski J., Kraśnicki K.: Proc. Vth. Int. Symp. Immunol. Reprod. Varna, 26—29 May, 1982, s. 151.

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

Люберда З., Стшежек Е., Бельский А. — Влияние содержания цинка в плазме семени хряка на активность дегидрогеназ и фосфатаз, а также преципитирующие свойства этой жидкости относительно желтка куриного яйца

Исследования провели на плазме семени, полученной от 72 хряков кбп породы. Уровень цинковых ионов в исследуемых пробах колебался от 17,22 до 166,91 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ (в среднем $48,15 \pm 32,42 \mu\text{g}/\text{cm}^3$). Показали, что средние активности дегидрогеназы I, дегидрогеназы II и щелочной фосфатазы в физиологических пределах содержания ионов Zn^{2+} в плазме семени хряка принимали величины нормального распределения. Активность кислой фосфатазы показывала незначительную растущую тенденцию с ростом уровня цинковых ионов в плазме. Диализ плазмы семени относительно де-

ионизированной воды не влиял на активность дегидрогеназы II, активность же дегидрогеназы I понизилась на ок. 80%. Отметим стимулирующее влияние уровня цинковых ионов на преципитирующую активность плазмы семени относительно желтка куриного яйца.

Luźberda Z., Strzeżek J., Bielski A. — Effect of Zinc in plasma semen of a boar on the activity of DN-ase and phosphatases and precipitating properties of plasma semen against chicken egg yolk

Semen plasma of 72 Great White Polish boars was examined. The content of Zn in plasma semen ranged from 17.22 to 166.91 $\mu\text{g}/\text{cm}^3$ (mean $48.15 \pm 32.42 \mu\text{g}/\text{cm}^3$). It was found that a mean activity of DN-ase I, DN-ase II and alkaline phosphatase in physiological ranges of Zn^{2+} content in plasma revealed values of the curve of a normal disposal. The activity of acid phosphatase showed some increasing tendency along with the increase of the Zn^{2+} content in plasma semen. Dialysis of plasma semen against deionized distilled water does not affect the activity of DN-ase II, but the activity of DN-ase I decreased by about 80%. It was found a stimulatory effect of the level of Zn^{2+} and precipitating activity of semen plasma against chicken egg yolk.

HIGIENA ŻYWNOŚCI ZWIERZĘCEGO POCHODZENIA

ZYGMUNT NOWAKOWSKI

Włośnica u nutrii

Instytut Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia Wydziału Weterynaryjnego AR,
ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

Hodowlę nutrii (*Myocastor coypus*) na większą skalę rozpoczęto w Polsce od 1953 roku, ale dynamiczny jej rozwój nastąpił dopiero od 1959 r., na co wskazuje liczba skupowanych skór: w 1953 r. — 5800 szt., 1956 r. — 44 700, 1959 r. — 591 800 szt., 1970 r. — 1 000 744 szt. Średnia masa tuszki nutrii waha się od 1,86 do 3,58 kg, a średnia wydajność rzeźna kształtuje się na poziomie 55,8 — 58,8% (2).

Z nutrii oprócz cennych skór uzyskuje się jeszcze dodatkowo mięso, które oficjalnie zostało w Polsce dopuszczone do spożycia dla ludzi z chwilą uznania nutrii jako zwierzęta rzeźne, stosownie do Zarządzenia Min. Rol. z dnia 20.X.1953 r. Nutrie rzeźne podlegają stąd badaniu san.-wet. odnośnie ich przydatności do spożycia (3).

Nutrie są zwierzętami roślinożernymi i w naturze istnieją znikome możliwości zarażenia ich włośnicami (*Trichinella spiralis*). Do tego rodzaju inwazji dojść może jednak w warunkach hodowli fermowych i to w następujących sytuacjach: 1) hodowli równoczesnej na fermie nutrii z innymi mięsożernymi zwierzętami futerkowymi, 2) karmienia nutrii odpadkami kuch-

nyimi, które mogą zawierać włośnię, 3) dostępu gryzoni do pomieszczeń hodowlanych, które jak wiadomo są nierzadko utajonymi nosicielami włośni oraz 4) niedoborów żywieniowych, które doprowadzają do mięszożerności i kanibalizmu (3, 6).

Pierwszy i jedyny właściwie przypadek włośnicy u ludzi w następstwie spożycia mięsa nutrii stwierdzono w 1936 r. w Szwajcarii (5). U 5 osób stwierdzono włośnicę po spożyciu kiełbasy sporządzonej z mięsa świni i nutrii. Badaniem trychinoskopowym potwierdzono obecność włośni w mięsie nutrii. Zwierzęta pochodzący z fermy, w której hodowano także norki. Ten sporadyczny przypadek włośnicy u nutrii był przyczyną wprowadzenia w wielu krajach, w tym i w późniejszych latach także i w Polsce, obowiązkowego badania tych zwierząt w kierunku włośni. Zarządzeniem Ministra Rolnictwa z 20.X.1953 r. oraz Pismem okólnym Departamentu Weterynarii MRiGŻ z 6.XII.1982 r. postanowiono o obowiązkowym badaniu mięsa nutrii na włośnię. Badanie to należy przeprowadzać na zasadach podanych w znowelizowanym wg Rozp. Min. Rol. z 23.IX.1982 r.