

że zasadniczy wpływ na pierwsze zażrebiecie młodych klaczy wywiera pora roku – przedwiosnie, wiosna i okres nieco dłuższy niż pierwsza połowa lata. Pomijając stanowiące pewien wyjątek 2 klacze, które zażrebiły się w grudniu, można stwierdzić w odniesieniu do zdecydowanej większości klaczy, że te, które nie zażrebiły się do sierpnia włącznie, przechodzą do dość znacznie starszej grupy wiekowej. Stąd zaznaczające się wyższymi słupkami na ryc. 1 grupy 13-17 mies., a następnie 23-29 mies.

Jako uzupełniające informacje do omawianych zagadnień związanych z wiekiem zażrebiecia badanych klaczy warto dodać, że klacze kuce felińskie zażrebite bardzo młodo rozwinęły się prawidłowo – nie stwierdzono u nich żadnych cech niedorozwoju, takich, jak zbyt mały wzrost, ogólna szczupłość, płytkość, cienkokostność. Natomiast u klaczy koników polskich i koni biłgorajskich utrzymywanych w surowych warunkach rezerwatowych, wcześniej zażrebitych, niektóre z tych cech wystąpiły.

Wnioski

1. Znaczna część wszystkich badanych młodych klaczy w warunkach wolnego stanowienia została zażrebita po raz pierwszy nie tylko poniżej 2 lat, ale nawet poniżej 1,5 roku; najwcześniej w wieku 12,6 miesiąca.

2. Istotny wpływ na zażrebiecie ma pora roku; następują one prawie z reguły w okresie od lutego do sierpnia (z punktem kulminacyjnym w maju); klacze nie zażrebite w tym okresie w danym roku zostają zażrebite dopiero w roku następnym.

3. Dla klaczy koników polskich, koni biłgorajskich i kuców felińskich jako właściwy dla pierwszego zażrebiecia należy przyjąć wiek nie niższy niż 2 lata, przy czym te ostatnie bez szkody dla własnego rozwoju mogą być zażrebite nawet znacznie wcześniej.

4. Otwartym problemem jest wielkość źrebiąt uzyskiwanych od bardzo młodych klaczy; w przypadku kuców mniejsze źrebięta i ewent. mniejsze w przyszłości dorosłe osobniki mogą być pożądane.

Piśmiennictwo

1. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa 1972.
2. Ensminger M. E.: Horses and horsemanship. Danville, Illinois 1977.
3. Jaworowska M.: Biul. Zakł. Hod. Dośw. Zwierząt PAN, nr 10, 145, 1967.
4. Nishikawa T.: Studies on reproduction in horses. Japan Racing Ass., Tokyo 1959.
5. Prawocheński R.: Hodowla koni. T. 3, PIWR, Warszawa 1950.
6. Pruski W., Grabowski J., Schuch St.: Hodowla koni. PWRiL, Warszawa 1963.
7. Sasimowski E., Kolstrung R., Pietrzak S., Sapuła M., Wojciechowski J., Hulewicz – Stachurska A.: Annls Univ. Mariae Curie – Skłodowska, sec. EE, 6, 157, 1988.
8. Sasimowski E., Kaproń M.: Annls Univ. Mariae Curie–Skłodowska, sec. EE, 2, 197, 1984.
9. Sasimowski E., Kolstrung R., Pietrzak S., Słomiany J., Bocian K., Pluta M.: Annls Univ. Mariae Curie – Skłodowska, sec. EE, 10, 26, 1992.
10. Schwark H. J. i wsp.: Pferdezeitung. VEB Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin 1984.
11. Zwoliński J.: Hodowla koni. PWRiL, Warszawa 1976.

Adres autora: prof. dr hab. Ewald Sasimowski, ul. Hryniewieckiego 6, 20-610 Lublin

KRZYSZTOF BORKOWSKI, JERZY STRZEŻEK

artykuł przeglądowy

Wykorzystanie wskaźników biochemicznych do oceny jakości nasienia tryka

Katedra Biochemii Zwierząt Wydziału Zootechnicznego AR-T, ul. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn

Summary

The use of biochemical indicators to evaluate semen quality

Evaluation of the ram semen quality on the basis of some quantitative and qualitative indicators does not provide full information about the male's usefulness for reproduction. This explains why studies on the use of biochemical indicators for determining the biological quality of semen have been performed for many years.

Measuring the concentration of some compounds (fructose, citric acid, seminal plasma proteins) in semen plasma enables the secretory activity of the accessory glands to be evaluated. Contemporary biochemical studies are mainly focused on determining the changes in the activity of plasma and spermatozoon enzymatic systems. Determining the activity of the acrosome system (acrosome and its inhibitors), aspartic aminotransferase (AspAT) and alkaline phosphatase is particularly important.

oraz niektórych parametrów ilościowych i jakościowych nasienia (5, 16, 47).

Według niektórych autorów jakość nasienia tryków, mimo sezonowych zmian, w żadnej porze roku nie obniża się do wartości uniemożliwiających proces zapłodnienia (2, 5, 6, 22, 30, 33). Jednakże obserwowana w praktyce hodowlanej zmienność wskaźników zapłodnienia oraz przydatności nasienia tryka do konserwacji (3, 20), w pełni uzasadniają potrzebę poszukiwania i wykorzystania innych metod oceny jakości nasienia.

Wcześniejsze rezultaty badań podkreślają, że poziom fruktozy w nasieniu tryka wydaje się być dobrym markerem sezonowych zmian jakości nasienia (22, 24, 25, 28, 30, 45, 46). W nasieniu tryków fruktoza jest głównym substratem przemian energetycznych plemników (Mann 1946 cyt. za 28 i 30). Stwierdzona przez Langford i wsp. (28) korelacja pomiędzy zawartością testosteronu a stężeniem fruktozy w nasieniu sugerować może, że sekrecja cukru podlega wahaniom sezonowym, zsynchronizowanym z długością dnia świetlnego. Z kolei sekrecja kwasu cytrynowego, drugiego niskocząsteczkowego komponentu chemicznego wydzieliny pęcherzykowej, nie wydaje się podlegać kontroli androgenowej (28).

Stosowane aktualnie metody badania przydatności rozplodowej tryków dotyczą oceny ich cech eksteriorowych

W dostępnym piśmiennictwie stosunkowo niewiele danych dotyczy wpływu czynników środowiskowych i fizjologicznych na sekrecję substancji białkowych, zwłaszcza różnych systemów enzymatycznych plemników i plazmy nasienia oraz ich powiązania z płodnością tryka.

Prezentowany przegląd obejmuje najnowsze rezultaty badań krajowych i zagranicznych, uwzględniających zagadnienia możliwości praktycznego wykorzystania wskaźników biochemicznych nasienia tryka do oceny jego jakości.

Wcześniejsze badania Strzeżka (38) wskazały na ilościowe zmiany frakcji białkowych plazmy nasienia tego gatunku zwierząt w cyklu rocznym, które prawdopodobnie związane są z naruszeniem przepuszczalności barier tkankowych układu rozrodczego tryka po okresie sezonu rozrodczego. Nasilenie penetracji albumin krwi przez bariery tkankowe układu rozrodczego w tym czasie wiązało się z obniżeniem wskaźników jakości nasienia. Również Ciereszko i wsp. (13) obserwowali w sezonie rozrodczym wzrost zawartości białka całkowitego w plazmie nasienia, dodatnio skorelowany z aktywnością aminotransferazy asparaginianowej (AspAT). Z kolei Borkowski (7) obserwował znaczne obniżenie tego wskaźnika, wywołane intensywną eksploatacją płciową w różnych porach roku. Autor stwierdził również wysoką korelację pomiędzy zawartością białka w plazmie a objętością ejakulatów (7).

Spośród licznych enzymów hydrolitycznych akrosomu plemników, trypsynopodobna proteinaza serynowa – akrosyna (E C 3.4.21.10) pełni wodzącą rolę w procesie zapłodnienia jaja. Enzym ten wraz z naturalnymi inhibitorami oraz formą zymogenową – proakrosyną stanowi tzw. system akrosynowy plemników (11, 18, 21, 39, 49).

Akrosyna w plemnikach ssaków i ptaków jest związana z błoną wewnętrzną akrosomu. W nie uszkodzonych, ejakulowanych plemnikach, aktywna akrosyna stanowi zaledwie kilka procent ogólnej puli tego enzymu, natomiast znaczna jego część (u człowieka ok. 90%, u knura 99%, u psa 79%, u tryka 95%, u myszy 73%, u chomika 92%) występuje w formie nieaktywnego zymogenu – proakrosyny (26, 49). Podstawowa, fizjologiczna funkcja akrosyny dotyczy udziału tego enzymu w reakcji hydrolitycznego rozkładu sjałoglikoproteinowej osłonki przejrzystej komórki jajowej (40, 44, 49).

Zawartość proakrosyny lub akrosyny całkowitej w plemnikach jest wyznacznikiem stabilności akrosomów i może być wykorzystywana jako biochemiczny test w ocenie jakości konserwowanego nasienia (37, 38). Stwierdzono, że zawartość akrosyny koreluje z odsetkiem nie uszkodzonych plemników (29). U człowieka pierwsze partie tych komórek w ejakulacie, charakteryzujące się najwyższą zapłodnialnością, posiadają zarazem najwyższą aktywność akrosyny całkowitej (cyt. za 26).

Z uwagi na istotną fizjologiczną funkcję akrosyny, analiza aktywności tego enzymu stwarza możliwość laboratoryjnej oceny biologicznej wartości omawianych komórek, jak również informuje o zmianach w układzie rozrodczym samca (38).

Obserwacje Strzeżka i wsp. (39, 41), dotyczące sezonowego rytmu zmian aktywności tego enzymu, zostały potwierdzone przez późniejsze badania autorów tego opracowania (7). Stwierdzono również, że zmiany te uwarunkowane są bardziej endogennym rytmem syntezy białek plemnikowych niż wpływem czynników środowiskowych.

Dokładne określenie zmian aktywności systemu akrosynowego wymaga również oznaczenia aktywności inhibitorów akrosyny, których podstawową funkcją jest ochrona

układu rozrodczego przed proteolitycznym i immunogenym działaniem tego enzymu. Schirren i wsp. (36) wykazali, że aktywność plazmowych inhibitorów trypsyny w nasieniu człowieka podlega kontroli androgenów. Wymienieni autorzy obserwowali wyraźną zależność między koncentracją plemników i aktywnością akrosyny oraz aktywnością inhibitorów. Borkowski i wsp. (9) stwierdzili, że aktywność plazmowych inhibitorów akrosyny w plazmie nasienia tryka zmienia się w ciągu roku, osiągając najwyższą wartość w miesiącach maj-czerwiec.

Badania aktywności enzymów plazmy nasienia, syntetyzowanych w dodatkowych gruczołach płciowych i jądrach pod kontrolą hormonalną, dostarczać mogą cennych informacji o ich stanie czynnościowym.

Aminotransferaza asparaginianowa (AspAT, E C 2.6.1.1) należy do enzymów nasienia o wieloźródłowym pochodzeniu. Obok aktywności w plazmie, uwarunkowanej syntezą w gruczołach płciowych dodatkowych, omawiany enzym jest także trwale związany ze wstawką plemnika (12). W plemnikach wykryto dwie formy molekularne AspAT – cytoplazmatyczny oraz mitochondrialny. W plazmie nasienia stwierdzono obecność tylko formy cytoplazmatycznej. Wykazano aktywność omawianego enzymu również w kroplach protoplazmatycznych niedojrzałych plemników (12).

Metaboliczna funkcja AspAT jest związana z wtórną syntezą aminokwasów lub ich wykorzystaniem w procesach energetycznych oraz w transporcie równoważników redukcyjnych z cytoplazmy do mitochondriów (30).

Aktywność AspAT stwierdzana w plazmie nasienia bezpośrednio po ejakulacji, uwarunkowana jest obecnością enzymów w wydzielinach dodatkowych gruczołów płciowych. Murdoch i White (32) stwierdzili, że u tryka najwyższą aktywność AspAT wykazuje płyn pęcherzyków nasiennych i najądrzy.

Szerokie wykorzystanie oznaczania AspAT wynika ze stwierdzonej zależności pomiędzy aktywnością enzymu i cechami jakości nasienia (14, 15, 35, 38). Uwalnianie („wyciek”) AspAT z plemników odzwierciedlać może obniżenie wartości biologicznej plemników oraz wskazywać na zmiany przepuszczalności ich błon plazmatycznych (1, 10, 15, 23, 35, 38).

Aktywność AspAT w nasieniu zwierząt zależy od pory roku i wieku rozplodników (17). W badaniach plazmy nasienia buhaja Świdowicz i Strzeżek (42) obserwowali najwyższe aktywności enzymu w okresie wiosennym, zaś Khokhar i wsp. (27) w okresie zimowym i wczesnowiosennym. Z kolei Ciereszko i wsp. (13) wykazali u tryków rasy polska owca długowłnista zwiększenie aktywności AspAT w okresie sierpień-październik oraz w okresie wiosennym, przy czym wyraźne obniżenie aktywności tego enzymu towarzyszyło nasiloniej częstotliwości ejakulacji. Wymienieni autorzy stwierdzili ponadto wysoko istotne współczynniki korelacji pomiędzy aktywnością AspAT a zawartością białka w plazmie nasienia. Udała i wsp. (46) u tryków rasy merynos polski stwierdzili najwyższą aktywność AspAT w plazmie nasienia w okresie luty – kwiecień.

Borkowski (7) zaobserwował, obok sezonowych zmian w aktywności tego enzymu w plazmie nasienia i plemnikach, niewątpliwy wpływ intensywnej eksploatacji płciowej tryków, przejawiający się zwiększoną dostępnością ekstrakcyjną do plemnikowego AspAT w kolejnych ejakulatach i jednoczesnym obniżeniem jego aktywności w plazmie nasienia (7).

Omawiane rezultaty badań podkreślają uniwersalny charakter AspAT jako enzymu plazmy nasienia, który może

pełnić funkcję markera zmian morfologicznych plemników, jak również informować o aktywności sekrecyjnej dodatkowych gruczołów płciowych.

Kolejnym enzymem, którego oznaczanie może być ważnym elementem diagnostycznym, jest fosfataza alkaliczna (E C 3.1.3.1.). Enzym ten występuje w plazmie nasienia, na błonach komórkowych plemników oraz w kropli protoplazmatycznej. Głogowski i Strzeżek (23) wyizolowali trzy formy fosfatazy alkalicznej z plazmy nasienia tryka. Pochodzą one głównie z pęcherzyków nasiennych, gdzie uczestniczą w reakcji tworzenia wolnej fruktozy nasienia. Aktywność fosfatazy alkalicznej występuje także w najądrach, gdzie przypuszczalnie uczestniczy w procesie dojrzewania plemników. Prace przeprowadzone w Katedrze Biochemii Zwierząt ART w Olsztynie (dane nie publikowane) wykazały, że najwyższą aktywnością tego enzymu charakteryzowały się ejakulatory pobierane w lipcu. Jednocześnie obserwowano korelację pomiędzy aktywnością enzymu a koncentracją plemników. Ciereszko i wsp. (15) stwierdzili niższą aktywność fosfatazy alkalicznej w nasieniu pobieranym przez elektroejakulację.

Trudno jest jednoznacznie odpowiedzieć, który z ww. parametrów biochemicznych może mieć istotne znaczenie do oceny jakości nasienia tryka. Niewątpliwie kompleksowa ocena oparta na badaniu podstawowych parametrów jakości i ilości nasienia powinna być uzupełniona dodatkowymi badaniami biochemicznymi. Ze względu na skomplikowany czasami tok oznaczeń, część z nich może być wykonywana tylko w placówkach badawczych. Wydaje się jednak, że w związku z rozwojem technik badawczych pewne metody (szczególnie związane z oznaczaniem aktywności enzymów plazmowych i plemnikowych) mogą być już teraz wykorzystywane coraz powszechniej w praktyce jako badania uzupełniające. Szczególnie określanie zawartości AspAT w plemnikach i jego aktywności w plazmie nasienia pozwala na stosunkowo szybką ocenę zmian w strukturze wstawkowej plemnika, jak również ocenę aktywności sekrecyjnej dodatkowych gruczołów płciowych.

Piśmiennictwo

1. Al-Taha T. J., Strzeżek J.: Pak. J. Biochem. XII/2, 38, 1980.
2. Amir D., Gacitua H., Ron M., Lehrer A. R.: Anim. Reprod. Sci. 10, 75, 1986.
3. Andersen Berg K., Aamdal J.: Reprod. Dom. Anim. 26, 27, 1991.
4. Aumüller G., Seitz J.: Intern. Rev. Cytology 121, 127, 1990.
5. Bielański W.: Rozród zwierząt, PWRiL, Warszawa 1979.
6. Boland M. P., Al-Kamali A. A., Crosby T. F., Haynes N. B., Howles C. M., Kelleher D. L., Gordon I.: Anim. Reprod. Sci. 9, 241, 1985.
7. Borkowski K., Wpływ naturalnego i sztucznego dnia świetlnego oraz częstotliwości ejakulacji na niektóre wskaźniki jakościowe i parametry biochemiczne nasienia tryka. Praca dokt., ART Olsztyn, 1992.
8. Borkowski K., Strzeżek J., Torska J.: Mat. XXV Zjazdu P.T. Bioch., Toruń 13-15.IX.1989, s. 90.
9. Borkowski K., Torska J., Strzeżek J.: Medycyna Wet. 48, 272, 1992.
10. Brown K. I., Grabo B. G., Graham E. F., Pace M. M.: Cryobiology 8, 220, 1971.
11. Brown C. R., Harrison R. A. P.: Bioch. Biophys. Acta 526, 202, 1978.
12. Churg A., Zaneveld L. J. D., Schumacher G. F.: Biol. Reprod. 10, 429, 1974.
13. Ciereszko A., Borkowski K., Strzeżek J.: Mat. XXVII Zjazdu P.T. Bioch., Lublin 18-20.IX.1991, s. 352.
14. Ciereszko A., Głogowski J., Strzeżek J., Demianowicz W.: Theriogenology, 37, 1269, 1992.
15. Ciereszko A., Głogowski J., Strzeżek J., Demianowicz W.: Biul. Inform. ART w Olsztynie 5, 150, 1988.
16. Colas G.: Proc. 9th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. Madrid 2, 287, 1980.

17. Czczot H., Strzeżek J.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 263, 97, 1986.
18. Čechova D.: Biul. Inform. ART w Olsztynie 25, 97, 1988.
19. Falase E. A. O., Adekunle A. O., Neblett H., Teuscher C.: J. Reprod. Immunol. 15, 241, 1989.
20. Fiser P. S., Fairfull R. W.: Cryobiology 20, 684, 1983.
21. Flörke-Gerloff S., Tschesche H., Müller-Esterl, Engel W.: Gamete Res. 10, 327, 1984.
22. Folch J.: The male in farm animal reproduction., A Seminar in the EEC Programme of Co-ordination of Research on Animal Production, 141, 1983.
23. Głogowski J., Strzeżek J., Anim. Reprod. Sci. 3, 307, 1980/81.
24. Gowda H. C., Chaundhury R. K., Pareek P. K.: Zbl. Vet. Vet. A22, 341, 1975.
25. Kastyak L.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol., 124, 165, 1971.
26. Kastyak L., Strzeżek J.: Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 219, 215, 1969.
27. Kennedy W. P., Kaminsky J. M., Van der Ven H. H., Jeyendran R. S., Reid D. S., Blackwell J., Bielfeld P., Zaneveld L. J. D.: J. Androl. 10, 3, 221, 1989.
28. Khokkar B. S., Mehar Singh, Chaundhury K. C.: Anim. Reprod. Sci. 13, 177, 1987.
29. Langford G. A., Shrestha J. N. B.: Anim. Reprod. Sci. 24, 85, 1991.
30. Liu D. Y., Baker H. W. G.: Hum. Reprod. 5, 3, 298, 1990.
31. Mann T., Luitwak-Mann C.: Male reproductive function and semen. Springer-Verlag, Berlin 1981.
32. Morton D. B.: J. Reprod. Sci. 45, 375, 1975.
33. Murdoch R. N., White I. G.: Aust. J. Biol. Sci. 21, 483, 1968.
34. Ortavant R., Bocquier F., Pelletier J., Ravault J. P., Thimonier Volland-Nail P.: Aust. J. Biol. Sci. 41, 69, 1988.
35. Pleban P., Zaneveld L. J. D., Jeyendran S.: Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. Laboratory Procedures: Review and Background. 96, 1991.
36. Roussel J. D., Stallcup O. T.: J. Dairy Sci. 48, 1684, 1965.
37. Schirren C., Kaukel H., Ketels-Harken H.: Andrologia 9, 313, 1977.
38. Strzeżek J.: Medycyna Wet. 25, 289, 1969.
39. Strzeżek J.: Zesz. Probl. Postępów Nauk Rol. 340, 9, 1987.
40. Strzeżek J., Świdowicz K., Torska J.: Proc. 11th Int. Congr. Anim. Reprod. A. I. Dublin 3, 300, 1988.
41. Strzeżek J., Torska J.: Post. Biologii Komórki 12, 263, 1985.
42. Świdowicz K., Torska J.: Mat. VIII Kongresu PTNW, Warszawa, 4, 187, 1987.
43. Świdowicz K., Strzeżek J.: Zuchthyg. 21, 247, 1986.
44. Tesarik J., Drahorad J., Peknickova J.: Fertil. Steril. 50, 1, 133, 1988.
45. Torska J.: Acta Acad. Agric. Techn. Olstenensis, Supl. D, t. 31, 1989.
46. Udała J., Mat. IX Kongr. PTNW Olsztyn, 2, 530, 1992.
47. Udała J., Boryczko Z., Ordysińska L., Łopuszko B.: Medycyna Wet. 46, 403, 1990.
48. Wierzbowski S., Kareta W.: Medycyna Wet. 44, 482, 1988.
49. Yanagimachi R.: J. Reprod. Fert., Suppl. 38, 27, 1989.
50. Zaneveld L. J. D., De Jonge C. J.: Mammalian sperm acrosomal enzymes and the acrosome reaction. A Comparative Overview of Mammalian Fertilization, Wyd. Bonnie S. Dunbar i Michael G. O'Rand, Plenum Press, New York 1991.

Adres autora: dr Krzysztof Borkowski, ul. Pana Tadeusza 20/56, 10-459 Olsztyn

AUBERT M.: Likwidacja wścieklizny u lisów – najbardziej racjonalne sposoby. (Control of rabies in foxes: what are the appropriate measures). Vet. Rec. 134, 55-59, 1994 (3)

Do niedawna w przerwaniu łańcucha epizootologicznego wścieklizny w populacji zwierząt dzikich najważniejszą rolę odgrywało wybijanie zwierząt. Pozytywne efekty uzyskane w ograniczeniu przypadków wścieklizny u psów na terenach, gdzie stosowano szczepienia, przyczyniły się do badań, nad wpływem szczepień zwierząt dzikich na nasilenie wścieklizny. Szczepienie lisów szczepionkami doustnymi w istotny sposób zapobiega szerzeniu się wścieklizny. Badania przeprowadzone we Francji wskazują na konieczność kompleksowych metod zwalczania wścieklizny lisów. Oprócz masowych szczepień doustnych wskazane jest zmniejszenie populacji lisów przez polowanie.