

BADANIA NAD STANEM AKROSOMU PLEMNIKÓW W RÓŻNYCH ETAPACH  
KONSERWACJI NASIENIA BUHAJA

Roman Sławeta, Tadeusz Jasiorowski

Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jęstrzębcu

Jerzy Morstin

Instytut Hodowli Bydła i Produkcji Mleka SGGW-AR w Brwinowie

WSTĘP

O zdolności zapładniającej męskich komórek płciowych decyduje między innymi odpowiednio wysoka aktywność enzymów zlokalizowanych w akrosomie, które w procesie zapłodnienia umożliwiają przeniknięcie plemnika przez otoczki komórki jajowej [4]. Na skutek uszkodzenia błon akrosomalnych, spowodowanych na przykład procesem konserwacji nasienia, może występować „wyciek” enzymów do osocza nasienia i obniżenie właściwości biologicznych plemników [2, 3, 5]. Czynnikiem uszkadzającym struktury komórkowe jest udar osmotyczny i termiczny, jakiemu podlegają plemniki w trakcie technologicznej obróbki nasienia. Badanie stanu akrosomu plemników może stanowić dodatkowy wskaźnik kriogenicznych zmian plemników zachodzących w poszczególnych etapach konserwacji nasienia.

MATERIAŁ I METODY

Badania przeprowadzono na 30 ejakulatach uzyskanych od 12 buhajów użytkowanych rozplodowo w stacji unasienniania zwierząt. Ejakulaty pobierano, badano ruchliwość plemników, rozcieńczano i konserwowano przez zamrożenie w kulkach, według obowiązującej w SHiUZ metodyki. Bezpośrednio po pobraniu nasienia, a następnie po rozcieńczeniu, po ekwilibracji oraz po zamrożeniu i rozmrożeniu sporządzano rozmazy do klasyfikacji morfologicznej akrosomów plem-

ników pod mikroskopem świetlnym, poddając je barwieniu barwnikiem Giemzy według metody Hancocka [1] w modyfikacji Watsona [6]. Badania morfologiczne akrosomów plemników wykonano za pomocą mikroskopu świetlnego, używając obiektywu fazowo-kontrastowego (100x) i uzyskując powiększenia 1000-krotne. Poddawano badaniu 200 plemników według klasyfikacji Watsona [6].

Wyniki opracowano statystycznie za pomocą średnich arytmetycznych i współczynników zmienności. Zastosowano analizę wariancji (test Duncana) w celu stwierdzenia różnic w odsetku akrosomów zmienionych między poszczególnymi etapami konserwacji nasienia. Obliczono ponadto współczynniki korelacji między ruchem postępowym plemników a odsetkiem akrosomów zmienionych w poszczególnych etapach konserwacji nasienia buhajów.

#### WYNIKI

Kolejne etapy konserwacji nasienia wpływają destrukcyjnie na delikatne struktury plemnika. W nasieniu świeżym, bezpośrednio po pobraniu, stwierdzono 9,48% plemników ze zmienionymi akrosomami (tab. 1). Proces zamrażania i rozmrażania spowodował wzrost uszko-

T a b e l a 1

Odsetek akrosomów zmienionych (%) w poszczególnych etapach konserwacji nasienia buhaja

Etap	Liczba ejakulatów	$\bar{x}$	$v$
Nasienie świeże	30	9,48 <sup>ABC</sup>	45,46
Nasienie po rozrzedzeniu	30	16,65 <sup>AD</sup>	39,10
Nasienie po ekwilibracji	30	19,62 <sup>BE</sup>	34,45
Nasienie po mrożeniu	30	48,80 <sup>CDE</sup>	23,59

A, B, C, D, E - różnice wysokoistotne przy  $P \leq 0,01$ .

dzeń akrosomów do 48,8%. Poddanie plemników działaniu niskich temperatur wpłynęło na zwiększenie zmian omawianej struktury o 39,32% ( $P \leq 0,01$ ). W stosunku do nasienia świeżego, w nasieniu po rozrzedzeniu nastąpił wzrost odsetka akrosomów nienormalnych o 7,17% ( $P \leq 0,01$ ). Kolejny etap konserwacji - ekwilibracja, nie wpłynął isto-

tnie na stan akrosomów (różnica statystycznie nieistotna). Natomiast pod wpływem procesu zamrażania nastąpiło dalsze zwiększenie uszkodzeń akrosomów o 29,18% ( $P \leq 0,01$ ). Najliczniejsze zatem zmiany destrukcyjne w obrębie akrosomów wywołuje proces zamrażania i rozmrażania plemników, następnie proces rozrzedzania nasienia. Najmniej liczne uszkodzenia akrosomów zachodzą podczas ekwilibracji (2,97%).

Nie wykazano istotnych zależności między ruchem postępowym plemników a odsetkiem akrosomów zmienionych (tab. 2). Współczynniki korelacji między tymi cechami wyniosły od -0,08 do -0,31. Sugeruje to, że nasienie konserwowane, mimo zachowania ruchliwości plemników, może charakteryzować utrata wartości biologicznej.

T a b e l a 2

Współczynniki korelacji ( $r$ ) między ruchem postępowym plemników a odsetkiem akrosomów zmienionych w poszczególnych etapach konserwacji nasienia buhaja

Etap	$r$
Nasienie świeże	-0,20
Nasienie po rozrzedzeniu	-0,31
Nasienie po ekwilibracji	-0,30
Nasienie po mrożeniu	-0,08

#### WNIOSKI

W trakcie konserwacji nasienia w niskich temperaturach dochodzi do nieodwracalnych zmian w obrębie akrosomów. Najliczniejsze uszkodzenia tej struktury plemników powoduje proces zamrażania i rozrzedzania nasienia.

Badanie stanu akrosomów stanowić może dodatkowy wskaźnik wartości biologicznej plemników.

#### LITERATURA

1. Hancock J. L.: The morphology of bull spermatozoa. J. Exp. Biol., 29, 1952, 445-453.

2. Jasiorowski T.: Ocena właściwości biologicznych i przydatności nasienia młodych buhajów do konserwacji w niskich temperaturach. Rozpr. dokt. IGiHZ PAN Jastrzębiec 1980.
3. Massaki J., Hartree E. F.: Distribution of metabolic activity, phospholipid and hyaluronidase between the heads and tails of bull spermatozoa. Biochem. J., 4, 1962, 347-353.
4. Strzeżek J.: Białka enzymatyczne akrosomu plemnika i ich funkcja w procesie zapłodnienia komórki jajowej. Med. Wet., 5, 1979, 292-296.
5. Taha Jassim Al-Taha: Biochemical changes in deep freezing of bull semen. These Doct., AR-T Olsztyn 1979.
6. Watson P. F.: Use of a Giemsa stain to detect changes in acrosomes of frozen ram spermatozoa. Veterinary Record, 5, 1975, 12-13.

R. Sławeta, T. Jasiorowski, E. Morstin

ИССЛЕДОВАНИЯ ПО СОСТОЯНИЮ АКРОСОМЫ СПЕРМАТОЗОИДОВ  
В РАЗНЫХ СТАДИЯХ КОНСЕРВАЦИИ СЕМЕНИ БЫКОВ

Р е з ю м е

Исследования охватывали 30 эякулятов 12 быков из станций искусственного осеменения. Оценивали изменения акросомы и подвижность сперматозоидов в отдельных стадиях консервации семени. Установлено высокосущественное влияние стадий консервации семени на изменения акросомы. Наиболее сильное влияние оказывали оттаивание и разбавление семени. Не установлено связи между изменениями акросомы и подвижностью сперматозоидов.

R. Sławeta, T. Jasiorowski, J. Morstin

INVESTIGATIONS ON ACROSOM CHANGES OF SPERMATOZOA  
AT PARTICULAR CONSERVATION STAGES OF BULL SEMEN

S u m m a r y

The investigations covered 30 ejaculates of 12 bulls from artificial insemination stations. Changes of acrosom and motility of spermatozoa at particular conservation stages of semen were estimated. A highly-significant influence of conservation stages of semen on acrosom changes has been found. The strongest influence exerted thawing and dilution of semen. No relationship between acrosom changes and motility of spermatozoa has been proved.