

WPLYW PSEUDOMONAS AERUGINOSA NA ODDYCHANIE PLEMNIKÓW *

Zdzisław Boryczko, Jadwiga Ossowicka-Stępińska, Jan Udała

Zakład Rozrodu Zwierząt

Instytutu Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej

Akademii Rolniczej w Szczecinie

Nasienie buhajów zakażone jest różnego rodzaju florą bakteryjną [1]. Do często spotykanych w nasieniu buhajów drobnoustrojów zaliczyć należy bakterie z rodzaju *Pseudomonas*, a wśród nich *Pseudomonas aeruginosa* [3]. Nie rozstrzygnięte wydaje się ostatecznie zagadnienie wpływu *P. aeruginosa* w odniesieniu do wartości biologicznej nasienia, zakażonego tym rodzajem drobnoustrojów, jak również efektywności unasienniania zakażonym nasieniem [6].

Wartość biologiczna nasienia określana może być wieloma wskaźnikami, między innymi aktywnością metabolizmu [5]. Jednym z istotnych przejawów tego procesu jest proces oddychania plemników. Przedmiotem podjętych przez nas badań było określenie wpływu pałeczki ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) na proces oddychania plemników.

* Praca wykonana w ramach tematu MR-II-10.1. C-10.

MATERIAŁ I METODY BADAŃ

Materiałem badawczym było nasienie pochodzące od trzech buhajów rasy nizinnej ob i jednego rasy jerssy, pobierane do sztucznej pochwy według ogólnie przyjętych zasad. Nasienie po wstępnej ocenie rozrzedzono 2,9-procentowym cytrynianem sodu w stosunku 1 : 10, dzieląc go na trzy części. Do pierwszej części nasienia dodawano taką ilość zawiesiny pałeczki ropy błękitnej, aby w przeliczeniu na 1 ml nasienia było 3 mln bakterii. Drugą część zakażano do wysokości 30 mln bakterii. Kontrolę stanowiła próba nasienia, do której dodawano jałowy roztwór cytrynianu sodu.

Do badań użyto pałeczkę ropy błękitnej, określonej jako typ bakteriocynowy F, według Shriniewasa [8], o charakterystyce właściwej dla tego rodzaju drobnoustrojów, izolowanego z nasienia buhajów.

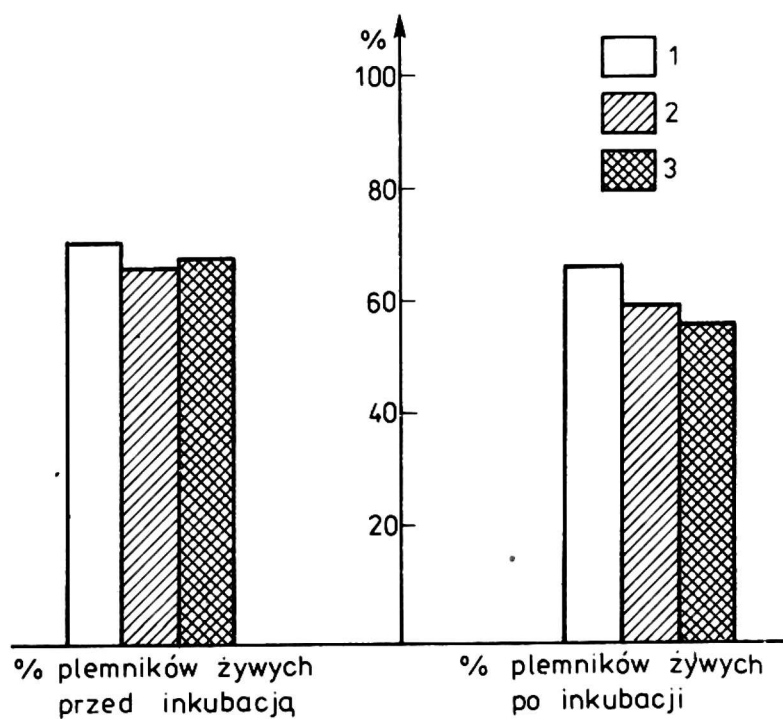
Pomiary zużycia tlenu przeprowadzono w aparacie Warburga w temperaturze 310 K przez 60 minut.

Przed i po inkubacji z preparatów barwionych metodą różnicową oceniano odsetek plemników żywych i martwych. Przy porównywaniu osiągniętych wyników posłużono się testem t Studenta i testem Duncana.

Kryterium podziału na grupy stanowiła różna ilość pałeczki ropy błękitnej w badanym nasieniu.

WYNIKI

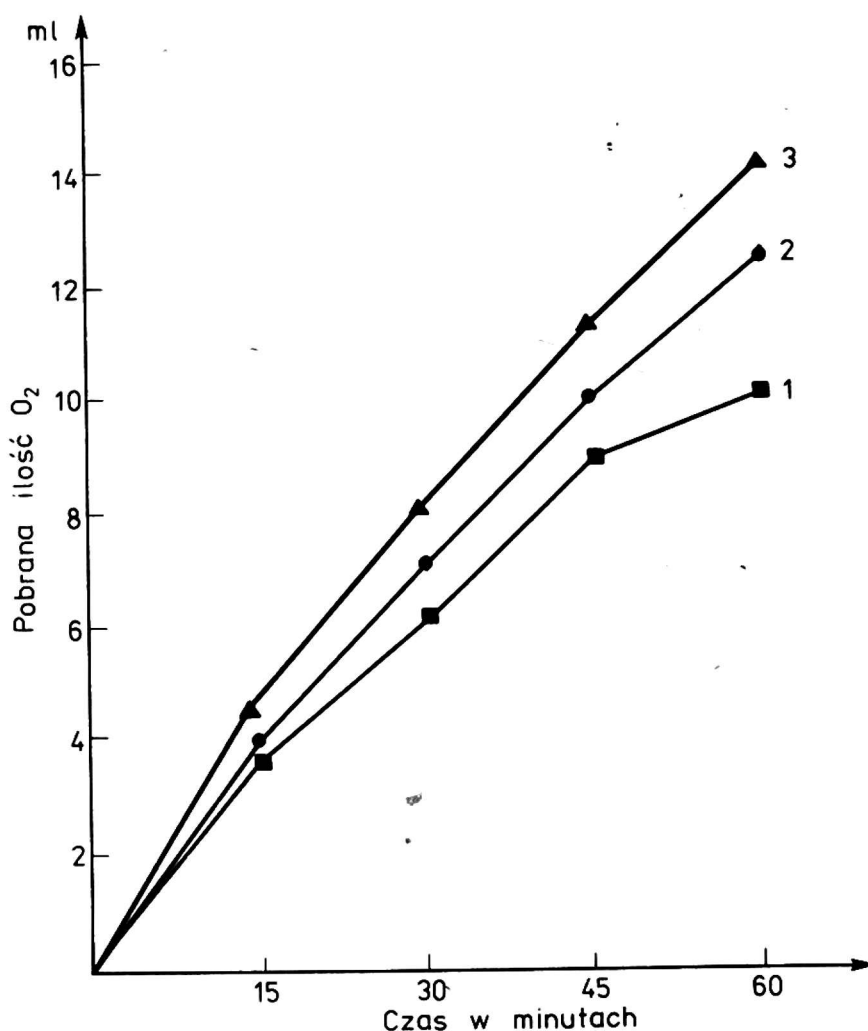
Na rysunku 1 przedstawiono odsetek plemników żywych stwierdzonych przed i po godzinnej inkubacji dla porównywanych prób nasienia. Różnicę statystycznie istotną stwierdzono między próbą kontrolną (67,07% plemników żywych) a próbą zawierającą $30 \cdot 10^6$ /ml pałeczek ropy błękitnej (57,50% plemników żywych).



Rys. 1. Wpływ zawartości *Pseudomonas aeruginosa* na zużycie tlenu przez nasienie buhaja; 1 - procent plemników żywych w nasieniu bez bakterii, 2 - procent plemników żywych w nasieniu z 3 mln *Pseudomonas aeruginosa*, 3 - procent plemników żywych w nasieniu z 30 mln *Pseudomonas aeruginosa*

Wartość testu t Studenta uzyskana w naszych obliczeniach (3,24) w porównaniu do danych tabelarycznych przy poziomie istotności $P_{0,05}$ (2,02) i $P_{0,01}$ (2,69) okazała się wysoce istotna.

Pomiędzy pozostałymi próbkami nie stwierdzono różnic statystycznie istotnych.



Rys. 2. Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na odsetek plemników żywych poddanych inkubacji przy temperaturze 310 K; 1 - krzywa zużycia tlenu w nasieniu bez bakterii, 2 - krzywa zużycia tlenu w nasieniu z 3 mln *Pseudomonas aeruginosa*, 3 - krzywa zużycia tlenu w nasieniu z 30 mln *Pseudomonas aeruginosa*

Zużycie tlenu przez 10^8 pleśniaków poddanych inkubacji przy temp. 310 K
z dodatkiem i bez dodatku *Pseudomonas aeruginosa*

Rodzaj próby	Liczba prób	Zużycie tlenu w mikrolitrach (min)			
		15	30	45	60
Nasienie bez bakterii	16	4,84	8,31	11,75	14,42
Nasienie + 3 mln <i>P. aeruginosa</i>	16	4,12	7,21	10,36	12,79
Nasienie + 30 mln <i>P. aeruginosa</i>	18	4,09	6,25*	9,05*	10,31**

* Różnica statystycznie istotna.

** Różnica statystycznie wysoko istotna.

Na rysunku 2 przedstawiono różnice w przebiegu krzywych zużycia tlenu przez trzy rodzaje prób. Z rysunku tego wynika, że wyraźnie mniejsza objętość tlenu została pobrana przez nasienie z zawartością 30 mln bakterii w porównaniu do pozostałych dwóch prób.

W tabeli przedstawiono średnie arytmetyczne obrazujące zużycie tlenu po 15, 30, 45 i 60 minutach inkubacji. Różnica między próbą kontrolną a nasieniem o zawartości $30 \cdot 10^6$ /ml bakterii okazała się statystycznie istotna po 30 i 45 min. oraz wysoko istotna po 60 min. inkubacji. Między pozostałymi przeciętnymi nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Analizując wpływ *P. aeruginosa* na procent plemników żywych stwierdza się ujemną korelację między tą cechą a ilością komórek bakteryjnych. Wyraźny wpływ pałeczki ropy błękitnej na żywotność plemników można było udowodnić tylko w próbach o zawartości $30 \cdot 10^6$ /ml bakterii.

Niekorzystne oddziaływanie pałeczki ropy błękitnej na przeżywalność plemników zanotował w swoich badaniach Króliński [3]. Pałeczka ropy błękitnej wpływała na jeden z przejawów metabolizmu nasienia, a mianowicie proces oddychania. Wykazały to nasze badania, w których zużycie tlenu w próbce kontrolnej było wyraźnie wyższe aniżeli w nasieniu o zawartości $30 \cdot 10^6$ /ml bakterii. Wyniki pomiarów zużycia tlenu przez 10^8 plemników w nasieniu niezakażonym są zbliżone do wartości uzyskanych przez Koryckiego [2]. Dalszych badań wymaga mechanizm ujemnego

oddziaływania pałeczki ropy błękitnej na oddychanie plemników. Z dotychczasowej literatury wynika, że szereg substancji lub zmiana warunków mogą blokować lub przyspieszać oddychanie nasienia, jak również wpływać na inne jego właściwości [4, 7, 9].

PIŚMIENNICTWO

1. Boryczko Z.: Próba zmniejszenia zanieczyszczeń bakteryjnych nasienia mrożonego buhajów. *Med. Wet.* 6, 331, 1978.
2. Korycki S.: Wpływ temperatury na zużycie fruktozy i tlenu przez plemniki buhaja. *Zesz. Probl. Post. Nauk. Rol.* 67, 55, 1969.
3. Króliński J.: Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na przeżywalność plemników w nasieniu buhajów. *Med. Wet.* 5, 298, 1977.
4. Lenz R.W., Graves C.N., Lodge J.R.: Influence of incubation in seminal plasma on subsequent. Metabolic and morphological characteristics of bovine spermatozoa. *Theriogenology*, No 5, 1977.
5. Mann T.: *Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract.* Methuen. 1964.
6. Nowakowski W., Wierzbowski S., Furowicz A.: Wartość biologiczna nasienia zakażonego *Pseudomonas aeruginosa*. *Biuletyn VI Zjazdu PTNW*, t. I, 145, 1978.
7. Paquignon M., Dacheux I.L.: Stimulating and inhibiting effects of different concentrations of caffeine on the oxygen uptake of porcine ejaculated spermatozoa. *IRCS Medical Science* 5, 285, 1977.
8. Shrinivas, Usha Menon: Epidemiological typing of *Ps. aeruginosa*. Part I. Further studies on aeruginocin typing, *Jour. A.I.I.M.S.*, vol. 3, 1, 1, 1977.
9. Tosic J., Walton A.: Metabolism of Spermatozoa. The Formation and Elimination of Hydrogen Peroxide by Spermatozoa and Effects on Motility and Survival. *Biochem. J.* 2, 199, 1950.

Z. Boryczko, J. Ossowiecka-Stępińska, J. Udała

THE INFLUENCE OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA ON THE RESPIRATION
OF SPERMATOOZOA

S u m m a r y

The semen of 3 bulls of the lowland black and white breed and 1 Jersey bull was diluted 1 : 10 with a 2,9% sodium citrate solution and divided into 3 parts. To the first $3 \cdot 10^6$ /ml and to the second $30 \cdot 10^6$ /ml of *Pseudomonas aeruginosa* organisms were added. The third remained uncontaminated - as control. Unfavourable influence of *Pseudomonas* on spermatozoa viability was found only in samples containing $30 \cdot 10^6$ /ml of bacteria. Following one hour incubation at 310 K in Warburg apparatus the percent of live spermatozoa decreased significantly by 10% and the oxygen uptake by 37%. In samples contaminated with $3 \cdot 10^6$ /ml of bacteria, the changes of spermatozoal viability were insignificant.

З.Борычко, Я.Оссовицка-Стэнпиньска, Я.Удала

Влияние *Pseudomonas aeruginosa* на дыхание живчиков

Резюме

Семя трех быков низинной черно-пестрой породы и одного быка породы джерси разбавляли 1:10 2,9%-ным раствором цитрата натрия и разделяли на 3 части. К одной части прибавляли $3 \cdot 10^6$ /мл, а к другой $30 \cdot 10^6$ /мл бактерий *Pseudomonas aeruginosa*. Третья незараженная часть была контрольной.

Отрицательное влияние синегнойной палочки на живчика установлено только в образцах зараженных $30 \cdot 10^6$ бактерий/мл.

После 1 часа инкубации в аппарате Варбурга при 310 К процент живых живчиков снизился на 10%, а поглощение кислорода на 37%. Изменения живучести живчиков в образцах зараженных $3 \cdot 10^6$ бактерий/мл оказались статистически несущественными.