

WYSTĘPOWANIE CZYNNIKA HEMOLITYCZNEGO W OSOCZU NASIENIA BUHAJÓW

JÓZEF ROMANIUK

Zakład Sztucznej Inseminacji i Zwalczania Bezpłodności Instytutu Weterynarii,
Bydgoszcz
Kierownik: prof. dr L. Jaśkowski

Zastosowanie na szeroką skalę sztucznego unasieniania zmusza do bardzo ścisłej kontroli nasienia. Użycie bowiem nasienia, zawierającego zarazki chorobotwórcze lub nasienia o niskiej zdolności zapładniającej, może powodować poważne straty w hodowli (Jaśkowski, 1955; Lawson, 1956). Fakt ten zmusza do systematycznych kontroli zdrowotności buhajów, których nasienie jest używane do sztucznego unasieniania, oraz do zwracania uwagi na cechy nasienia, które mogą się łączyć z jego obniżoną zdolnością zapładniającą lub nawet całkowitym jej brakiem. Millar w 1956 r. stwierdził w osoczu nasienia niektórych buhajów obecność czynnika, który w znacznych rozcieńczeniach powoduje hemolizę krwinek bydlęcych. Zbadał on szereg właściwości fizycznych i fizykochemicznych tego czynnika.

Z obserwacji Millara wynika, że nasienie zdrowych, płodnych i właściwie eksploatowanych buhajów jest wolne od czynnika hemolitycznego bezpośrednio po pobraniu. Pierwszy ejakulat buhajów zdrowych, od których przez dłuższy okres nie pobierano nasienia, może wykazywać właściwości hemolityczne, jednakże następne ejakulatory pobierane w tym samym dniu nie mają tych właściwości.

Zdaniem Millara tworzenie się czynnika hemolitycznego w osoczu nasienia buhaja jest naturalnym procesem fizjologicznym, który może przebiegać *in vitro* i *in vivo* w odpowiednio wysokiej temperaturze. Plemniki nie mają wpływu na pojawianie się czynnika hemolitycznego w nasieniu. Powstawaniu omawianego czynnika sprzyja obecność bakterii, jednakże różni się on od hemolizyn bakteryjnych. Fakt, że czynnik ten, który pojawia się w wydzielinie pęcherzyków nasiennych, stwierdzono w gruczołach dotkniętych podostryimi zmianami zapalnymi, nasuwa podejrzenie, że jego występowanie może się wiązać z obniżoną płodnością buhajów. Skłoniło to nas do przeprowadzenia badań mających na celu ustalenie, jak często wśród buhajów użytkowanych przez

nasze zakłady unasienniania zdarzają się osobniki, których osocze nasienia posiada właściwości hemolityczne. Równocześnie zebrano nieco danych rzucających pewne światło na płodność buhajów wydzielających nasienie z czynnikiem hemolitycznym.

Materiał i metody. Badania zostały przeprowadzone na 100 buhajach, w tym na 61 buhajach z Zakładów Sztucznego Unasienniania Bydła województwa bydgoskiego oraz na 39 buhajach importowanych na przełomie roku 1958/59 z Holandii i NRD.

Nasienie pobierano za pomocą sztucznej pochwy modelu duńskiego w modyfikacji Teklińskiego.

Bezpośrednio po pobraniu i określeniu objętości, ruchliwości oraz gęstości pobierano próbkę nasienia w ilości 0,5—1 ml, którą poddawano próbie hemolitycznej. W przypadkach, gdy wykonanie próby było niemożliwe bezpośrednio po pobraniu, nasienie zamrażano w temperaturze -79°C i w stanie zamrożonym przechowywano aż do chwili nastawienia próby.

Próbę hemolityczną wykonywano według metodyki opisanej przez Millara. Do sześciu probówek dodawano po 0,25 ml uzyskanego przez odwirowanie osocza nasienia rozcieńczonego w stosunku 1 : 4 roztworem soli kuchennej (0,85%). Następnie dodawano po 0,25 ml 0,85-procentowego roztworu soli kuchennej. Zawiesinę przemytych czerwonych krwinek bydlęcych w 0,85-procentowym roztworze przygotowywano w 6 stężeniach: 4%, 2%, 1%, 0,5%, 0,25% i 0,125%. Do każdej z kolejnych probówek dodawano zawiesinę krwinek o odpowiednim stężeniu w ilości 0,25 ml. Po zmieszaniu zawatości probówki pozostawiono w temperaturze pokojowej. Wynik odczytywano po godzinie. Stopień hemolizy określano w sposób następujący: probówki z całkowitą hemolizą czerwonych ciałek, bez śladu osadu na dnie określano wartością 4. Hemolizę z 25% osadem oznaczano jako 3. Rozpuszczenie 50% osadu oznaczano przez 2. Słabą hemolizę z nieznacznym zmniejszeniem osadu oznaczano jako 1. Zabarwienie płynu nad osadem bez dostrzegalnego zmniejszenia ilości krwinek oznaczano jako śl. Przykład próby łącznie z kontrolami podaje tabela 1.

T a b e l a 1

Wyniki próby hemolitycznej z osoczem nasienia buhaja

Osocze nasienia	Zawiesina czerwonych krwinek bydlęcych %					
	4	2	1	0,5	0,25	0,125
1:4						
Osocze badane	śl	1	2	3	4	4
Kontrola pozytywna	4	4	4	4	4	4
Kontrola negatywna	0	0	0	0	0	0
Roztwór 0,85-procentowy NaCl	0	0	0	0	0	0

W dalszym etapie badań ilość poszczególnych komponentów zmniejszono do 0,125 ml, co umożliwiło prowadzenie systematycznych badań buhajów bez narażania zakładów na poważniejsze straty nasienia. W drugiej części doświadczenia unasieniono 134 krowy nasieniem, którego osocze posiadało silne właściwości hemolityczne. Użyte do doświadczenia ejakulatory hemolityczne pod względem ruchliwości i gęstości odpowiadały wymogom unasieniania. Nasienie rozrzedzano w stosunku 1 : 20 za pomocą rozrzedzalnika cytrynianowo-żółtkowego oraz rozrzedzalnika Illini. Wyniki unasieniania sprawdzono badaniem przez prostnicę.

W y n i k i b a d a ń. Od stu buhajów pobrano i zbadano 277 ejakulatów, z czego od 46 buhajów po jednym ejakulacie, od pozostałych od 2 do 21 ejakulatów. W grupie tej czynnik hemolityczny w nasieniu stwierdzono u 46 buhajów.

Z 277 zbadanych ejakulatów właściwości hemolityczne wykazało 99 (35,7⁰/o).

Nasienie 10 buhajów badano systematycznie przez 2 miesiące. U jednego z buhajów czynnik hemolityczny w nasieniu występował stale. Z pobranych 22 ejakulatów tylko dwa nie wykazywały właściwości hemolitycznych.

Tylko trzy buhaje w okresie dwumiesięcznej obserwacji dawały nasienie wolne od czynnika hemolitycznego. U buhajów, w których nasieniu czynnik hemolityczny występował sporadycznie, pojawienie się osocza o właściwościach hemolitycznych łączyło się zazwyczaj ze znacznym pogorszeniem jakości nasienia. W większości przypadków ejakulatory zostawały uznane wówczas jako nieprzydatne do unasieniania. Zwrócono także uwagę na natężenie czynnika hemolitycznego w poszczególnych ejakulatach, pobieranych od buhaja w jednym dniu.

Z uzyskanych danych wynika, iż w 15 przypadkach pierwszy ejakulat posiadał silniejsze właściwości hemolityczne niż drugi. W innych 15 przypadkach drugi ejakulat silniej hemolizował krwinki bydłce niż pierwszy, przy czym w 4 przypadkach pierwszy ejakulat był całkowicie wolny od czynnika hemolitycznego. W seriach hemolitycznych ani jeden z 7 pobranych trzecich ejakulatów nie był wolny od czynnika hemolitycznego. W jednej serii w trzecim ejakulacie czynnik hemolityczny wystąpił najwyraźniej. 14 ejakulatów posiadających właściwości hemolityczne pobranych od buhaja „Szwed” użyto do unasieniania krów. Ejakulatory dzielono na dwie równe części i jedną część rozrzedzano rozrzedzalnikiem cytrynianowo-żółtkowym, drugą rozrzedzano rozrzedzalnikiem Illini. Nasieniem tym unasieniono łącznie 134 krowy, w tym 56 nasieniem rozrzedzonym rozrzedzalnikiem cytrynianowo-żółtkowym, pozostałe 78 — nasieniem rozrzedzanym rozrzedzalnikiem Illini.

Z całej grupy zacieliło się 81 (60,4⁰/o) krów, w tym 34 (60,7⁰/o) krów unasienionych nasieniem rozrzedzonym rozrzedzalnikiem cytrynianowo-

-żółtkowym i 47 (60,3%) unasienionych nasieniem konserwowanym według metody Van Demarka.

Jako kontrolę używano w tym samym czasie nasienia wolnego od czynnika hemolitycznego od 10 buhajów, które było rozrzedzone także rozrzedzalnikiem cytrynianowo-żółtkowym i Illini. Nasieniem tych buhajów unasieniono 2 082 krowy. Z tego nasieniem z rozrzedzalnikiem cytrynianowo-żółtkowym 838, nasieniem Illini 1 254 krowy. Z grupy kontrolnej zacieliło się łącznie 1 240 krów (59,6%), w tym 509 (60,7%) krów unasienionych nasieniem z rozrzedzalnikiem cytrynianowo-żółtkowym i 731 (58,2%) unasienionych nasieniem Illini.

O m ó w i e n i e w y n i k ó w. Jak wykazały przeprowadzone badania, obecność czynnika hemolitycznego w osoczu nasienia buhajów jest zjawiskiem dość częstym, które stwierdzono u 46 na 100 objętych doświadczeniem buhajów. Z pobranych 277 ejakulatów 99 (35,7%) posiadało właściwości hemolityczne. Z obserwacji wynika, że zjawisko to nie ma większego znaczenia w praktyce sztucznego unasieniania, nie udało się bowiem stwierdzić zależności między występowaniem czynnika hemolitycznego w nasieniu buhajów a obniżeniem płodności. Czynniki hemolityczne stwierdzono w nasieniu buhajów bardzo płodnych, jak również w nasieniu buhajów o płodności nieco obniżonej.

Interesujące zjawisko stanowi wyraźnie gorsza jakość nasienia w ejakulatach zawierających czynniki hemolityczne. Ejakulaty takie w spostrzeżeniach naszych pajawiły się u niektórych buhajów sporadycznie, u niektórych okresowo — towarzysząc kilku- lub kilkunastodniowym pogorszeniem jakości nasienia. U jednego z buhajów stwierdzono stałe występowanie czynnika hemolitycznego w osoczu. U buhaja tego nie stwierdzono fluktuacji w jakości nasienia i jak wynika z doświadczenia zdolność zapładniająca nasienia była dobra.

Uzyskane dane wskazują, że natężenie czynnika hemolitycznego w poszczególnych ejakulatach pobieranych w jednym dniu przedstawia się różnie. Spostrzeżenie Millara, iż pierwszy ejakulat z reguły hemolizuje silniej niż następne pobierane bezpośrednio potwierdziły się tylko w 15 przypadkach na 34.

PIŚMIENNICTWO

- Jaśkowski L. (1953): Badania nad zarazą rzęsistkową. Przenoszenie się choroby przez nasienie zarzonego buhaja. Rocz. Nauk Roln. E., t. 66, 2.
- Jaśkowski L. (1958): Badania nad konserwacją nasienia buhaja. III — Rozrzedzalnik do konserwacji nasienia buhaja w temp. zmiennej. Med. Wet. 3.
- Lawson J. R. (1956): III international Congress on Animal Reproduction. Cambridge, Plenary Papers, 42.
- Millar P. G. (1956): Observations on the presence of a haemolysin in bovine semen. The British Vet. J. 112, 3.

- Van Demark N. L., Sherma U. D. (1957): Preliminary fertility results from the preservation of bovine semen at room temperatures. *J. Dairy Sci.* 40, 4.
- Wierzbowski S. (1959): Szwedzkie badania nad nowym schorzeniem u bydła, przenoszonym przez krycie naturalne lub unasiennianie. *Med. Wet.* 8.

Я. Романюк (Быдгощ)

ВЫСТУПАНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ФАКТОРА В ПЛАЗМЕ СЕМЕНИ БЫКОВ

Резюме

Автором исследовано наличие гемолитического фактора в плазме семени 277 эякулятов, взятых от 100 быков. В 99 эякулятах (33,7%), происходящих от 46 быков, обнаружено гемолитический фактор.

Из наблюдений следует, что гемолитические свойства семени могут появляться периодически и у некоторых быков они выступают перманентно. Усиление гемолитического фактора в эякулятах, отобранных одного дня, может формироваться различным образом, независимо от очередности взятия.

Констатировано, что плодовитость быка, которым гемолитический фактор перманентно выделялся в плазме семени, была хорошей. Семением этого быка осеменено за один раз 134 коровы, получая 81 (60,4%) зателений.

J. Romanuk (Bydgoszcz)

OCCURENCE OF HAEMOLYTIC FACTOR IN BULLS' SEMEN PLASMA

Summary

The author examined 277 ejaculates collected from 100 bulls for the presence of haemolytic factor in semen plasma. The haemolytic factor has been found in 99 (33,7%) ejaculates of 46 bulls.

It results from observations that hemolytic properties of semen may appear periodically, in some bulls however they appear constantly. The concentration of the haemolytic factor in ejaculates collected on the same day may vary in consecutive semen samples.

It has been found that fertility of one bull, that permanently excreted haemolytic factor in semen plasma was good. Out of 134 cows inseminated with its semen, 81 (60,4%) became pregnant after a single insemination.