

OBIEKTYWNA METODA
OKREŚLANIA KONCENTRACJI I RUCHLIWOŚCI PLEMNIKÓW
W EJAKULACIE BUHAJA

Stefan Jaczewski

Instytut Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej
we Wrocławiu

Gęstość ejakulatu jest obiektywnym wskaźnikiem czynności plemnikotwórczej jąder. W praktyce określa się ją jako liczbę plemników w 1 mm^3 nasienia. Liczba plemników, uzyskiwana w jednym wytrysku, jest wielokrotnie wyższa od niezbędnej ilości do skutecznego zapłodnienia komórki jajowej. Metody sztucznego unasienniania umożliwiają rozcieńczenie nasienia, a przez to obniżenie liczby plemników w dawce do niezbędnego minimum.

Dotychczas stosowane metody określania koncentracji plemników można podzielić na szacunkowe i obiektywne. Pierwsze obarczone są dużym błędem podając orientacyjne dane o gęstości nasienia i ewentualnym jego użyciu do produkcji. Drugie są niejednokrotnie zrudne i pracochłonne, wymagają odpowiedniej aparatury, odczynników chemicznych (metoda kolorymetryczna, hemocytometryczna).

Obiektywne, szybkie i dokładne oznaczenie gęstości plemników jest szczególnie ważne w codziennej technologii obróbki na-

sienia, stosowanej w zakładach unasienniania zwierząt. Opracowanie takiej metody umożliwiłoby działowi laboratoryjnemu stacji łatwiejsze i pewniejsze uzyskanie optymalnego rozrzedzenia nasienia.

Ocena ruchu - w praktyce posługujemy się nadal szacunkową oceną mikroskopową, określającą procent plemników wykazujących ruch postępowy.

W obecnej dobie na całym świecie wiele pracowni fizjologii rozrodu i stacji unasienniania sięga do aparatury elektrycznej celem znalezienia dokładnych metod oceny jakości nasienia. Charakterystyczne zmiany elektrycznego oporu, obserwowane podczas przepływu prądu przez nasienie, wzbudziły duże zainteresowanie badaczy, gdyż mogą one mieć praktyczne znaczenie i stać się dodatkowym testem oceny jakości ejakulatu. Powszechnie wiadomo, że w dostatecznie gęstym nasieniu zauważa się pod mikroskopem charakterystyczny ruch falowy. Polega on na tym, że plemniki nie zaprzestają ruchu dookoła swojej podłużnej osi, rozmieszczają się równolegle koło siebie, a zmieniając kierunek wywołują falowanie. Wiszniewskij [15] podaje, że w związku z różnym położeniem miejsca w podłużnym i poprzecznym przekroju masy ejakulatu zmienia się również jego przewodnictwo elektryczne. Zmiany przewodnictwa elektrycznego odzwierciedlają intensywność zbiorowego ruchu plemników i są zależne od częstotliwości falowania.

Walton i Edwards [14] niezależnie od ruchu falowego wyróżniają ruch poszczególnych plemników, który w bardzo żywotnym nasieniu przybiera postać tzw. „ruchu naprzód”, zwanego też postępowym, natomiast w mało żywotnym nasieniu sprowadza się on

do oscylujących ruchów plemników - z boku na bok. Ruch ten można nazwać wahadłowym lub obrotowym. Zauważa się w tych przypadkach różne zmiany w wartościach oporu lub przewodnictwa elektrycznego.

Rothschild [11-13] zaproponował wykorzystać częstotliwość zmiany przewodnictwa elektrycznego nasienia do określania jego jakości. Wykazał on, że nasienie buhaja i tryka ma różny opór elektryczny, który można mierzyć przy użyciu mostka oporowego lub oscyloskopu. Zmiany oporu zależne są od aktywności plemników, a stopień tych zmian wskazuje odpowiednia szerokość linii w oscyloskopie.

Cechą charakterystyczną każdego elektrolitu nieorganicznego i organicznego jest zdolność do przewodzenia prądu. Wielkość przewodzenia prądu przez ciecz zależy od obecności w niej jonów i odbywa się na zasadzie ich wędrówki pomiędzy elektrodami. Roztwór elektrolitów stawia przepływającemu prądowi pewien opór, którego wielkość zależy od wielu parametrów; między innymi od liczby i rodzaju cząsteczek obdarzonych ładunkiem elektrycznym, temperatury, lepkości roztworu oraz różnych reakcji chemicznych zachodzących między jonami w elektrolicie.

Mann [9] podaje, że plemnik zawiera niewielkie ładunki elektryczne, ale ich znak i wielkość zależą głównie od stężenia różnych dodatnio i ujemnie naładowanych jonów w otaczającym go środowisku.

Wielu badaczy zajmowało się oporem właściwym płynów ustrojowych. Davydoff [1], Davydoff i Sautier [2] oraz Fonty [3] badając opór właściwy osocza krwi sugerują, że jest on wypadkową stężenia aktualnie wolnych jonów i poziomu białek. Hamburger

i wsp. [4], przyjmując założenia wymienionych autorów, uważają opór właściwy za miernik tzw. skutecznego ciśnienia osmotycznego osocza, tj. ciśnienia wywołanego przez cząsteczki obdarzone ładunkiem elektrycznym.

Celem pracy było określenie oporu właściwego ejakulatu buhaja za pomocą aparatury elektrycznej, aby na tej podstawie oznaczyć gęstość plemników w nasieniu i przewidywać ilość plemników wykazujących ruch postępowy.

MATERIAŁ I METODY

Wykorzystując te zjawiska i wiadomości o elektrolitach pochodzenia organicznego, skonstruowano naczynia pomiarowe wraz z prototypowym przyrządem. Przyrząd nazwany CME-3 [5] wykonany został na zasadzie układów scalonych. Służy on do pomiaru prądu i spadku napięcia na elektrodach, wyznacza iloraz tych wartości, a wynik wyświetla w postaci cyfrowej. Do naczynia pomiarowego uprzednio zamocowanego w zaciskach aparatu wprowadza się pipetą 0,2 ml świeżego nasienia i po 3-4 sekundach wyświetlany jest wynik oporności właściwej ejakulatu.

W doświadczeniu trwającym ponad 12 miesięcy wykonano szereg badań towarzyszących, między innymi określano gęstość nasienia metodą tradycyjną na stoliku Thoma-Zeissa, oceniano odsetek plemników o ruchu postępowym. Badania wykonano w PZUZ we Wrocławiu na 518 próbach nasienia, pochodzącego od 16 losowo wybranych buhajów rasy nob z pierwszego ejakulatu. Zebrane wyniki poddano obliczeniom statystycznym. Obliczono współczynniki korelacji między oporem właściwym nasienia a jego gęstością i plemnikami wykonującymi ruch postępowy.

WYNIKI I OMÓWIENIE

Stwierdzono bardzo wysoko istotne zależności ($p \ll 0,001$) pomiędzy koncentracją nasienia a jego oporem właściwym ($r = 0,982$), co zgodne jest z wcześniej przeprowadzonymi badaniami [6-8]. Radev [10] donosi o występowaniu istotnej korelacji między oporem elektrycznym, pojemnością buforową a procentem ruchliwych plemników w nasieniu. Potwierdzają tę hipotezę wyniki niniejszych badań. Korelacja między oporem właściwym nasienia a procentem plemników o ruchu postępowym wynosi $r = 0,908$ i jest statystycznie bardzo istotna. Zależności między tymi cechami są tak wysokie, że na podstawie zmierzonego oporu właściwego można dokładnie przewidzieć jego koncentrację oraz ilość plemników wykazujących ruch postępowy, to jest tych, które teoretycznie mają największe szanse zapłodnienia komórki jajowej. Wartość tych cech można określić na podstawie równań regresji

$$Y_k = 27,143x - 1521,93$$

$$Y_p = 26,833x - 1812,51$$

w których:

x - zmierzony opór właściwy nasienia w omach,

Y_k - przewidywana koncentracja plemników w 1 mm^3 nasienia (wyrażona w tys.),

Y_p - przewidywana koncentracja plemników o ruchu postępowym w 1 mm^3 nasienia (wyrażona w tys.).

PIŚMIENNICTWO

1. Davydoff S.: Mesure de la resistivité électrique du plasma. *Ann. Biol. Clin.*, 9, 1951, 386.
2. Davydoff S., Sautier C.: Relation entre la resistivité électrique du plasma et sa concentration en électrolytes. *Ann. Biol. Clin.*, 10, 1952, 549.
3. Fonty P.: Valeur de la resistivité pour la détermination des mEq totaux du plasma et liquide céphalo-rachidien. *Ann. Biol. Clin.*, 14, 1956, 602.
4. Hamburger J., Richet G., Crosnier J.: Technique de réanimation médicale et contrôle de l'équilibre humoral en médecine d'urgence. Éditions Médicales Flammarion, Paris 1954.
5. Jaczewski S., Kałuski M., Lisiecki J.: Urządzenie do określenia koncentracji plemników w nasieniu oraz udziału plemników wykazujących ruch postępowy. Zgłoszono jako wynalazek do UP PRL nr P 205908/78.
6. Jaczewski S.: Współzależność między wartością oporu elektrycznego nasienia buhajów a procentem zapłodnień krów unasiennionych tym nasieniem. *Medycyna Wet.*, 21, 1965, 557.
7. Jaczewski S.: Próba testowania zdolności zapładniającej nasienia buhajów na podstawie oporu elektrycznego ejakulatu mierzonego metodą czteroelektrodową. *Pol. Arch. Wet.*, 12, 1972, 15.
8. Jaczewski S., Pałasz A.: Badania nad współzależnością oporu elektrycznego a koncentracją nasienia tryków i kogutów. *Medycyna Wet.*, 31, 1975, 496.
9. Mann T.: *Biochemia nasienia*. PWRiL, Warszawa 1958.
10. Radev G.: Opiti za izpolzuvane na elektrospaprotivlanieto i bufernija kapacitet na spermata za prognoziranje oploditelnata sposobnost na bici. *Nauc. Trud. Vys. Selskochoz. Inst. Fak. Zoot.*, 22, 1971, 133.
11. Rothschild L.: Electrical measurement of bull sperm activity. Comparison with visual assesment. *J. Agric. Sci.*, 40, 1950, 82.

12. Rothschild L.: Electrical measurement of bull sperm activity. The effect of small electrical currents of fertilizing capacity. J. Agric. Sci., 39, 1949, 294.
13. Rothschild L.: Measurement of sperm activity before artificial insemination. Nature, 163, 1949, 358.
14. Walton A., Edwards J.: Criteria of fertility in the bull. The exhaustion test. Rec. Proc. Am. Soc. Anim. Prod., 1938, 254.
15. Wiszniewskij W.J.: Elektroprowodnost spermy byków kak pokazatel aktivnosti spierm. Sielskohozejstwiennaja Biologia, 6, 1971, 882.

S. Jaczewski

AN OBJECTIVE METHOD OF EVALUATING SPERM CONCENTRATION
AND MOTILITY IN BULL EJACULATES

S u m m a r y

Objective and quick determination of spermatozoa concentration is particularly important in the routine work of A.I. Centres. The same applies to the estimation of sperm motility, which up to day is based on rough microscopical estimation of the percent of motile spermatozoa. In the present study using a prototypical device the so called "numeric electrolyte measurer" a highly significant correlation has been found between the specific impedance value and the concentration of spermatozoa as well as the percent of progressively moving spermatozoa. The correlation between these characters is so high that on the basis of measurement of specific impedance in

a semen sample (0.2 ml) one can determine exactly the sperm concentration and the percent of progressively moving spermatozoa.

С. Ячевски

Объективный метод определения концентрации и подвижности живчиков в эякулятах быков

Резюме

В соответствующих исследованиях употребляя прототип т. наз. цифрового измерителя электролитов установлены очень высоко-существенные корреляции между величиной электрического сопротивления свойственного и концентрацией семени и живчиками проявляющими поступательное движение, т. е. такими, которые теоретически обладают наибольшей шансой оплодотворения яйцеклетки. Зависимости между теми признаками имеются и они на столько высокие, что по измерениям сопротивления свойственного для образца испытуемого семени (около 0,2 мл) можно точно предусмотреть его густоту и количество живчиков с поступательным движением. Величину этих признаков определяют по уравнению регрессии.