

## BADANIA NAD WPLYWEM MLEKA KRÓW DOTKNIĘTYCH PODKLINICZNYMI ZAPALENIAMI WYMIENIA NA ŻYWOTNOŚĆ NASIENIA BUHAJÓW *IN VITRO*

*Leokadia Kozłowska*

Instytut Weterynarii, Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Inseminacji w Bydgoszczy  
Kierownik: prof. dr Lech Jaśkowski

### WSTĘP

Wszystkie zakłady unasienniania zwierząt w Polsce jako rozrzedzalnik nasienia buhajów stosują mleko krowie. Niewątpliwe zalety mleka jako rozrzedzalnika nasienia nie wymagają dodatkowego omówienia, jednakże — jak każda wydzielina gruczołów zwierzęcych — mleko może wykazywać zmiany właściwości chemicznych i fizycznych, szczególnie w przypadkach toczącego się w gruczole mlecznym procesu chorobowego. Mleko pochodzące od krów dotkniętych podklinicznymi stanami zapalnymi wymienia, niezależnie od czynnika patogennego, charakteryzuje się wzrostem liczby elementów komórkowych [3], zmienionym składem chemicznym [1, 2] oraz podwyższonym pH [3], jednak rzadko bywa zmienione morfologicznie i dlatego może trafiać do Zakładów Unasienniania. W związku ze znacznym rozprzestrzenieniem zapaleń wymienia [5] wynikła konieczność podjęcia wymienionych w tytule badań.

### MATERIAŁ I METODYKA

Doświadczenie przeprowadzono w dwóch seriach. W sumie przebadano przeżywanie w 46,5°C oraz w 3°C — 23 ejakulatów od 17 buhajów. Do rozrzedzania nasienia posłużyło 396 prób mleka pochodzącego od 32 krów, w tym 64 próby kontrolne od krów zdrowych oraz 332 próby od krów dotkniętych podklinicznymi zapaleniami wymienia. Mleko z poszczególnych ćwiartek traktowano jako odrębne próby [7]. Krowy wybierano na podstawie rejestru oborowego i wywiadu z personelem oborowym stosując następnie, celem pośredniego określenia ilości komórek w mleku, terenowy odczyn komórkowy płynem Mastirapid produkcji Drwalewskich Zakładów Przemysłu Biowet. [6]. Mleko pobierano sterylnie od krów będących pomiędzy 6 i 30 tygodniem laktacji, nie

wykazujących przy badaniu klinicznym zmian chorobowych wymienia, ani makroskopowych zmian mleka.

W zależności od nasienia reakcji na Mastirapid próby mleka podzielono na 5 grup. Jako kontrolne przyjęto próby mleka od krów, u których wstępny test w odniesieniu do wszystkich ćwiartek wymienia dał reakcję ujemną.

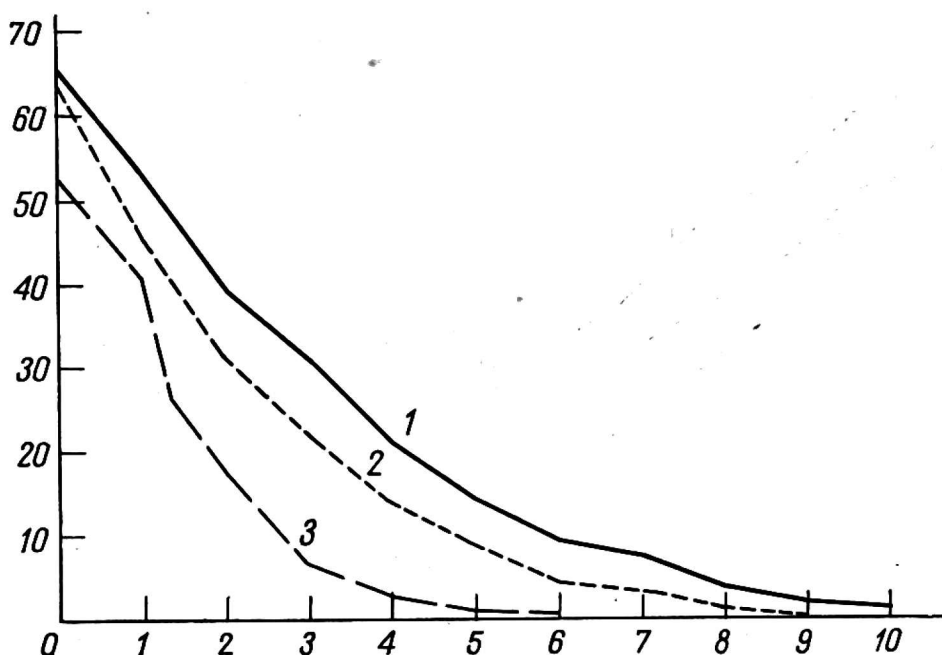
Dla potwierdzenia wyniku wstępnego testu przygotowano preparaty do bezpośredniego liczenia komórek w pobranych próbach mleka wg metody Prescott-Breeda [4]. Odtłuszczone mleko ogrzewano przez 10 min. w temperaturze 92°C. Z każdej próby wykonywano 2 równoległe rozcieńczenia nasienia w stosunku 1 : 10. Jedną partię prób z rozrzedzonym nasieniem umieszczono w temperaturze 3°C i określano procent plemników o ruchu postępowym w odstępach 24-godz. drugą partię umieszczano w temperaturze 46,5°C i określano procent plemników o ruchu postępowym w odstępach 15-min. Pehametrem oznaczano pH próbek mleka użytego do rozrzedzania nasienia.

#### WYNIKI

Na podstawie bezpośredniego liczenia leukocytów w pobranych próbach mleka stwierdzono, że ich ilość w poszczególnych próbach wahała się od 0 do 16 mln w 1 ml. Wynik liczenia okazał się w ogólnych zarysach zgodny z wynikiem wstępnego testu komórkowego. Poszczególne próby mleka w zależności od ilości leukocytów w 1 ml zaliczono do następujących grup: mleko o zawartości do 200 000, od 200 000 do 500 000, od 500 000 do 1 500 000 i ponad 1 500 000 leukocytów w 1 ml.

Na rys. 1 przedstawiono spadek średniej ruchliwości plemników w nasieniu rozrzedzonym mlekiem o różnej zawartości leukocytów w trakcie konserwacji w temperaturze 3°C. Za wartość wyjściową przyjęto odsetek plemników o ruchu postępowym, zaobserwowany bezpośrednio po rozrzedzeniu nasienia. Różne położenie punktu wyjściowego poszczególnych linii wskazuje na to, że bezpośrednio po rozrzedzeniu nasienia odsetek plemników o ruchu postępowym w mleku zawierającym ponad 1 500 000 leukocytów wynosił 52,5%, w porównaniu z mlekiem kontrolnym — 67%. Linie obrazujące spadek ruchliwości plemników w mleku zawierającym od 200 000 do 500 000 oraz od 500 000 do 1 500 000 leukocytów w 1 ml pominięto na wykresie, gdyż znalazłyby się one w położeniu pośrednim pomiędzy wykreślonymi liniami. Największa różnica w odsetku plemników o ruchu postępowym na korzyść nasienia rozrzedzonego mlekiem kontrolnym wystąpiła trzeciego dnia konserwacji: mleko kontrolne średnio 31,9%; mleko o zawartości leukocytów ponad 1 500 000 — 12,4%.

Wartości średnich wskaźników przeżywania nasienia w temperaturze 3°C oraz 46,5°C podaje tabela. Linie spadku ruchliwości nasienia w tem-



Rys. 1. Spadek ruchliwości nasienia rozrzedzonego mlekiem o różnej zawartości leukocytów w trakcie przechowywania w temperaturze 3°C. 1 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem kontrolnym, 2 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem zawierającym do 200 000 leukocytów w 1 ml, 3 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem zawierającym powyżej 1 500 000 leukocytów w 1 ml

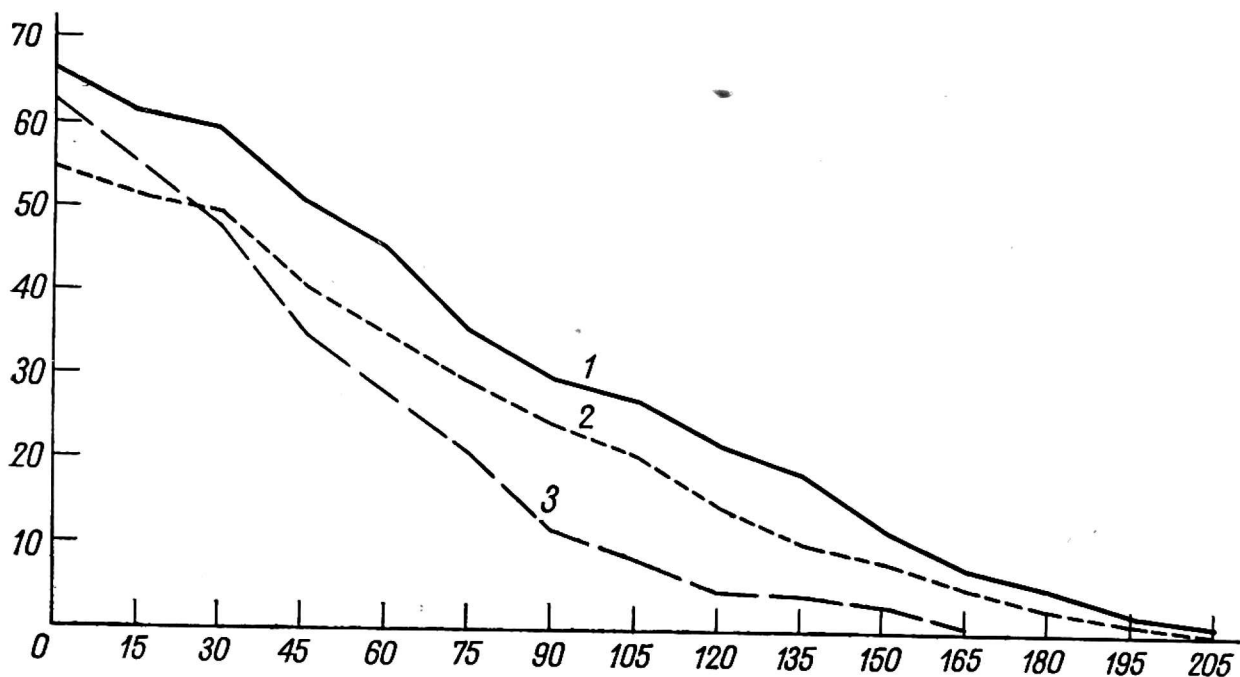
Tabela

Wartość średnich wskaźników przeżywania nasienia rozcieńczonego mlekiem o różnej zawartości leukocytów w temperaturze 3°C i 46°C

Temperatura przechowywania	Do 200 000 leukocytów	Od 200 000 do 500 000 leukocytów	Od 500 000 do 1 500 000 leukocytów	Ponad 1 500 000 leukocytów	Mleko kontrolne
3°C	35,8 ± 3,000	30,8 ± 0,953	34,4 ± 3,368	28,0 ± 1,993	50,6 ± 2,845
46,5°C	0,652 ± 0,018	0,897 ± 0,059	0,828 ± 0,007	0,832 ± 0,012	1,050 ± 0,068

peraturze 46,5°C (rys. 2) ułożyły się inaczej niż w temperaturze 3°C; najłagodniej następował spadek ruchliwości plemników w mleku kontrolnym, najgwałtowniejszy w mleku o zawartości leukocytów do 200 000 w 1 ml. Podobne wyniki dało zestawienie średnich wskaźników przeżywania nasienia w 46,5°C (tab.). Jakkolwiek nasienie rozrzedzone mlekiem kontrolnym osiągnęło najwyższy średni wskaźnik przeżywania (1,050), a najniższy nasienie w mleku o zawartości leukocytów poniżej 200 000 w 1 ml (0,652), to średnie wskaźniki przeżywania nasienia rozrzedzonego pozostałymi grupami mleka zajęły pozycję pośrednią i nie różniły się zasadniczo pomiędzy sobą.

Obliczenie współczynników korelacji pomiędzy ilością leukocytów w mleku i czasem przeżywania rozrzedzonego tym mlekiem nasienia w temperaturze 3°C dało współczynnik  $r = -0,361$ . Stwierdzono również, że spadek czasu przeżywania postępuje równomiernie do wzrostu



Rys. 2. Spadek ruchliwości nasienia rozrzedzonego mlekiem o różnej zawartości leukocytów w trakcie przechowywania w temperaturze 46,5°C. 1 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem kontrolnym, 2 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem zawierającym do 200 000 leukocytów w 1 ml, 3 — ruchliwość nasienia rozrzedzonego mlekiem zawierającym powyżej 1 500 000 leukocytów w 1 ml

liczby leukocytów tylko do pewnej granicy, którą jest ilość leukocytów ok. 1 500 000 w 1 ml. Dlatego też ten sam współczynnik korelacji obliczony dla prób mleka, w których ilość leukocytów nie przekroczyła 1 500 000 w 1 ml, jest znacznie wyższy i wyraża się  $r = -0,611$ . W temperaturze 46,5°C obliczenie współczynników korelacji dało wynik  $r = -0,071$  oraz  $r = -0,118$ .

Pomiary pH prób mleka użytego do rozrzedzenia nasienia wykazały rozpiętość od 6,4 do 7,1, przy czym nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy wartością pH mleka i przeżywaniem nasienia (współczynnik  $r = +0,02$ ).

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Przytoczone wyniki świadczą o ujemnym wpływie mleka pochodzącego od krów dotkniętych podklinicznymi stanami zapalnymi wymienia na przeżywanie nasienia *in vitro*. Wpływ ten ujawnił się już bezpośrednio po rozrzedzeniu nasienia i zaznaczył się wyraźnie w czasie przechowywania w temperaturze 3°C.

Brak istotnej korelacji pomiędzy stopniem nasilenia patologicznych zmian w mleku a przeżywaniem rozrzedzonego nasienia w temperaturze 46,5°C należy tłumaczyć krótkim czasem trwania próby przeżywania w podwyższonej temperaturze, który ograniczał działanie czynników szkodliwych dla nasienia.

Stwierdzenie istoty czynników szkodliwych dla nasienia w mleku



pochozących od krów dotkniętych podklinicznymi stanami zapalnymi wymienia jest przedmiotem dalszych badań. Wniosek praktyczny, jaki nasuwa się w związku z przytoczonymi wynikami to konieczność nie tylko klinicznego badania krów, od których mleko ma służyć jako rozrzedzalnik nasienia, ale również konieczność badania mleka na obecność leukocytów, przy czym wystarczy posługiwanie się metodą pośredniego określania ilości elementów komórkowych w mleku przy pomocy płynu diagnostycznego.

#### PIŚMIENNICTWO

1. Ashworth U. S., Blosser T. H.: Relationship between the California mastitis test and the chemical composition of milk from opposite quarters. J. Dairy Sci. 47, 696, 1964.
2. Dżurow C., Kostow L., Witkow M.: Zmiany w składzie mleka u subklinicznego mastitomu. Wet. Medicinski Nauki 6, 118, 1969.
3. Kowalczyk S.: Badania porównawcze nad wynikami ważniejszych prób stosowanych w diagnostyce stanów zapalnych wymienia u bydła z uwzględnieniem elektroforezy bibułowej serwatki mleka krowiego. Dział Wydawnictw SGGW, Warszawa 1966.
4. Prescott S. C., Breed R. S.: The determination of the number of body cells in milk by a direct method. J. Infect. Diseases 7, 632, 1910.
5. Wiśniowski J., Grajewska P., Grajewski H.: Występowanie oraz niektóre problemy zwalczania chorób gruczołu mlecznego u krów. Zeszyty Bydg. Tow. Naukowego, seria przyrodnicza 4, 1963.
6. Wiśniowski J.: Comparative studies of the diagnostic value of Mastirapid used for the cell count in milk. Biul. Inst. Puławy 9, 3, 84, 1965.
7. Voigtländer K. H.: Composition of milk from individual quarters of the udder. Arch. Tierz. 9, 213, 1966.

*Л. Козловска*

#### ИССЛЕДОВАНИЯ ПО ВЛИЯНИЮ МОЛОКА ОТ КОРОВ БОЛЬНЫХ ПОДКЛИНИЧЕСКИМ ВОСПАЛЕНИЕМ ВЫМЕНИ НА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ СЕМЕНИ БЫКОВ

##### Резюме

Исследовали 23 образца семени на переживаемость в температуре 3°C и 46,5°C. Для разбавления семени отобрали 396 образцов молока, в том числе 332 образца молока от коров больных подклиническим воспалением вымени. Средний показатель переживаемости семени равнялся в температуре 3°C:

в образцах молока содержащих до 200 000 лейкоцитов в 1 мл — 35,8;

в образцах молока содержащих свыше 1 500 000 лейкоцитов в 1 мл — 28,0;

в образцах молока контрольных — 50,6;

а в температуре 46,5°C соответственно: 0,652, 0,832 и 1,050. Получена отрицательная корреляция между содержанием лейкоцитов в молоке и временем переживаемости семени в температуре 3°C, выражаемом коэффициентом  $r = -0,361$  (для образцов содержащих до 1 500 000 лейкоцитов в 1 мл  $r = 0,611$ ). Не установлена корреляция между pH молока и переживаемостью разбавленного в нем семени.

*L. Kozłowska*

INVESTIGATIONS ON INFLUENCE OF MILK FROM COWS WITH  
SUBCLINICAL MASTITIS ON THE VITALITY OF BULL SPERMATOZOA  
IN VITRO

Summary

The survival time of 23 ejaculates diluted with 392 milk samples from cows with subclinical mastitis and 64 samples from apparently healthy cows was examined at 3°C and 46.5°C. Mean survival indexes for semen kept at 3°C were: in milk samples with less than 200,000 leukocytes/ml — 35.8, in milk samples with more than 1,500,000 leukocytes/ml — 28.0, in milk samples from apparently healthy cows — 50.6. The survival indexes for semen kept at 46.5°C were 0.652, 0.832 and 1.050. The correlation between the leukocyte number and survival time at 3°C was found at  $r = -0.361$  (in samples containing less than 1,500,000 leukocytes/ml  $r = -0.611$ ). No correlation was found between initial pH of milk samples used for semen dilution and its survival time.