ZESZYTY PROBLEMOWE POSTĘPÓW NAUK ROLNICZYCH 1988 z. 335

AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZY ASPARAGINIANOWEJ (AspAT) W ŚWIEŻYM I PRZECHOWYWANYM NASIENIU KNURÓW

Andrzej Łyczyński

Zakład Hodowli i Produkcji Trzody Chlewnej AR w Poznaniu

Aminotransferaza asparaginianowa (AspAT) należy do enzymów wewnątrzkomórkowych, występujących głównie we wstawce plemnika. Pomiar aktywności AspAT w osoczu nasienia stosowany jest jako wskaźnik uszkodzeń błony komórkowej plemników samców zwierząt gospodarskich. W efekcie tych uszkodzeń dochodzi do „przecieku" AspAT z plemników do osocza [1, 2, 4, 8]. Wielu badaczy wykazało współzależność między aktywnością AspAT w osoczu nasienia a zdolnością zapładniającą plemników [3, 4, 6, 12]. Celowy więc i wysoce uzasadniony wydaje się pomiar aktywności AspAT w nasieniu i plazmie nasienia.

Celem omawianej pracy było określenie wpływu niektórych czynników fizycznych na aktywność AspAT w świeżym i przechowywanym nasieniu knurów.

Materiał i metody

Badania aktywności AspAT przeprowadzono na 58 ejakulatach pobranych metodą manualną od 5 knurów rasy wielkiej białej polskiej (w.b.p.) i 7 knurów rasy polskiej białej zwisłouchej (p.b.z.), użytkowanych w Stacji Hodowli i Unasieniania Zwierząt (SHiUZ). Aktywność enzymatyczną AspAT oznaczano metodą kolorymetryczną Reitmana i Frankela, przedstawioną przez Tulczyńskiego [11]. Korzystano przy tym z testów enzymatycznych w zastosowaniu do oceny stanu błon cytoplazmatycznych plemników, opracowanych w ART w Olsztynie [9]. Aktywność AspAT oznaczano w nasieniu „pełnym" (nie rozrzedzonym) i rozrzedzonym, po jego pobraniu (świeżym) i po jego konserwacji (w stanie nie rozrzedzonym i rozrzedzonym). Ponadto oznaczano aktywność enzymatyczną w osoczu pozyskanym z nasienia świeżego nie rozrzedzonego i rozrzedzonego oraz w osoczu pozyskanym po konserwacji nasienia w stanie nie rozrzedzonym i rozrzedzonym. Nasienie rozrzedzano w stosunku 1 : 2 rozcieńczalnikiem Pliško [7], a konserwację przeprowadzano w temperaturze 16^{o}C przez 3-4 dni, a więc w warunkach zbliżonych do tych, które występują w punktach inseminacyjnych. Oznaczeń aktywności AspAT w nasieniu świeżym dokonywano po upływie około 4 h od czasu jego pobrania.

Tabela 1
Table 1

Aktywność AspAT w nie rozrzedzonym i rozrzedzonym nasieniu knurów (j R.F.)
AsoAT activity in undiluted and diluted semen of boars (R.F.u)

Analizowane wartości Analyzed values		w.b.p. - PLW				p.b.z. - PL				w.b.p. + p.b.z. - PLW + PL			
		nie rozrzedzone undiluted		rozrzedzone diluted		nie rozrzedzone undiluted		rozrzedzone diluted		nie rozrzedzone undiluted		rozrzedzone diluted	
		świeże fresh	przechowywane stored	świeże fresh	przechowywane stored	świeże fresh	przechowywane stored	świeże fresh	przechowywane stored	świeże fresh	przechowywane stored	świeże fresh	przechowywane stored
Nasienie Semen	$\bar{x}$	10,8	32,3	38,7	46,2	8,9	26,5	24,8	34,6	9,6	28,6	30,3	39,1
	D	21,4**		7,5		17,6**		9,8		19,0**		8,9	
	v	41,8	59,0	58,0	64,3	69,3	44,2	83,2	79,9	59,0	52,1	73,4	73,5
Osocze nasienia Seminal plazma	$\bar{x}$	9,1	49,1	26,7	41,8	9,1	32,1	30,3	26,4	9,1	38,2	28,9	32,4
	D	40,0**		15,1*		23,0**		3,9		29,2**		3,5	
	v	40,5	54,3	70,5	54,8	80,1	43,6	85,7	96,6	68,1	54,9	80,6	78,6

* - $P \leq 0,05$, ** - $P \leq 0,01$.

Tabela 2

Table 2

Aktywność AspAT w świeżym i przechowywanym nasieniu knurów (j R.F.)

AspAT activity in fresh and stored semen of boars (R.F.u)

Analizowane wartości Analyzed values		w.b.p. - PLW				p.b.z. - PL				w.b.p. + p.b.z. - PLW + PL			
		świeże fresh		przechowywane stored		świeże fresh		przechowywane stored		świeże fresh		przechowywane stored	
		nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted	nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted	nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted	nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted	nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted	nie rozrzedzone undiluted	rozrzedzone diluted
Nasienie Semen		10,8	38,7	32,3	46,2	8,9	24,8	26,5	34,6	9,6	30,3	28,6	39,1
	$\bar{x}$	27,9**		13,9**		16,0**		8,1		20,7**		10,5*	
	D	41,8	58,0	59,0	64,3	69,3	83,2	44,2	79,9	59,0	73,4	52,1	73,5
Osocze nasienia Seminal plasma	v	9,1	26,7	49,1	41,8	9,1	30,3	32,1	26,4	9,1	28,9	38,2	32,4
	D	17,6**		7,3		21,2**		5,7		19,8**		5,9	
	v	40,5	70,5	54,3	54,8	80,1	85,7	43,6	96,6	68,1	80,6	54,9	78,6

* - $P \leq 0,05$, ** - $P \leq 0,01$.

Wyniki i omówienie

W tabelach 1 i 2 przedstawiono dane dotyczące aktywności AspAT w nie rozrzedzonym i rozrzedzonym nasieniu knurów, po 4 h od czasu jego pobrania (aktywność wyjściowa) i po 3-4 dniach konserwacji w temperaturze 16°C. W wyniku przechowywania nasienia „pełnego" w stanie nie rozrzedzonym (tab. 1) obserwowano wyższą aktywność AspAT w jego osoczu (38,2 j R.F.) niż w osoczu pozyskanym z nasienia konserwowanego w stanie rozrzedzonym (32,4 j R.F.). I choć uzyskane różnice (tab. 2) okazały się statystycznie nieistotne, to jednak w osoczu pozyskanym z nasienia przechowywanego w stanie nie rozrzedzonym obserwowano wyższą aktywność AspAT (38,2 j R.F.) niż w nasieniu „pełnym" (28,6 j R.F.). W osoczu pozyskanym z nasienia przechowywanego w stanie rozrzedzonym stwierdzono niższą aktywność AspAT (32,4 j R.F.) w stosunku do aktywności enzymatycznej nasienia „pełnego" (39,1 j R.F.). Wzrost aktywności omawianego enzymu w plazmie nasienia może świadczyć o uszkodzeniach błony komórkowej plemników, co jest zgodne z interpretacją wyników badań innych autorów [1, 2, 8, 10]. Łyczyński [5] wykazał w nasieniu przechowywanym w podobnych warunkach wyższy i statystycznie istotny odsetek plemników martwych niż w nasieniu świeżym. Stwierdzono również [1, 2, 5] istotne statystycznie zależności między aktywnością AspAT w plazmie nasienia a odsetkiem plemników morfologicznie zmienionych. Porównując wyniki badań własnych, dotyczące poziomu aktywności AspAT w nasieniu przechowywanym, z wynikami, jakie uzyskali inni autorzy [8], nie wykazano pełnej zgodności, co przypuszczalnie spowodowane było różnymi warunkami przechowywania nasienia. Obserwowano ponadto, że sam proces rozrzedzania po pobraniu nasienia powodował, zarówno w nasieniu „pełnym", jak i w jego osoczu, 3-krotny wzrost aktywności AspAT (tab. 2), co jest zgodne z wynikami badań innych autorów [10]. Rozrzedzanie nasienia powodowało również wzrost współczynników zmienności badanej cechy nasienia (tab. 1 i 2). Na ogół aktywność enzymatyczna w nasieniu knurów p.b.z. była bardziej zmienna niż w nasieniu knurów w.b.p.

Na podstawie przeprowadzonych badań własnych oraz cytowanych w pracy autorów [1, 2, 5, 8, 10] można przypuszczać, że wzrost aktywności AspAT w plazmie nasienia po jego konserwacji może świadczyć o uszkodzeniu błony komórkowej plemników, powodującym obniżenie ich zdolności zapładniającej.

Wnioski

1. Przetrzymywanie nasienia w stanie rozrzedzonym w rozcieńczalniku Pliško zmniejsza aktywność AspAT w plazmie nasienia. Przechowywanie zaś „pełnego" nasienia w stanie nie rozrzedzonym doprowadza do wzrostu aktywności omawianego enzymu w plazmie nasienia.

2. Rozrzeszanie nasienia po jego pobraniu powoduje 3-krotny wzrost aktywności AspAT w plazmie nasienia.

Literatura

1. Brown K.I., Crabo B.G., Graham E.F., Pace M.M.: Some factors affecting loss of intracellular enzymes from spermatozoa. Cryobiology, 1971, nr 8, s. 220.
2. Crabo B.G., Brown K.I., Graham E.F.: Effect of some buffers on storage and freezing of boar spermatozoa. J. Anim. Sci., 1972, t. 35, nr 2, s. 377.
3. Derevinskij V., Folomeev V.: Svjaz' kačestva spermy s aktivnostju aminotransferaz. Svinovodstvo, 1975, nr 7, s. 24.
4. Larsson K., Einarsson S., Nicanoler L.: Fertility of deep frozen boar spermatozoa. Influence of thawing diluents and of boars. Acta Vet. Scand., 1976, t. 17, s. 83.
5. Łyczyński A.: Przydatność knurów do sztucznego unasieniania na podstawie oceny aktywności płciowej i cech jakości nasienia. Roczniki AR w Poznaniu. Rozprawy naukowe, 1984, z. 139.
6. Mudra K., Ueckert H.: Ocenka povreždenij spermiev metodom obnaruženija ekstrakletočnoj aktivnosti fermentov v spermie chrjakov. Tagungsbericht,1978,nr 151, s. 211.
7. Pliško N.T.: Sposób prodlenija žizni i oplodotvorjajuščej sposobnosti polowych kletok chrjaka. Svinovodstvo, 1965, nr 6, s. 37.
8. Strzeżek J., Czechot H., Glogowski J.: Wpływ temperatur i okresów inkubacji nasienia knura na zmiany aktywności aminotransferaz. Mater. XVI Sesji Nauk. Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania PTNW,część 2, PWRiL, Poznań 1979, s. 139.
9. Strzeżek J., Glogowski J., Śmigielska J., Czeczot H.: Testy enzymatyczne w zastosowaniu do oceny stanu błon cytoplazmatycznych plemników po zamrożeniu w ciekłym azocie. Wydanie własne ART w Olsztynie, 1979.
10. Strzeżek J., Śmigielska J., Liminowicz J., Czeczot H., Glogowski J.: Metabolizm nasienia knura przechowywanego w różnych rozcieńczalnikach w temperaturze 18--20°C. Mater. XVI Sesji Nauk. Sekcji Fizjologii i Patologii Rozrodu oraz Sztucznego Unasieniania PTNW, część 2, PWRiL, Poznań 1979, s. 153.
11. Tulczyński M.: Metody laboratoryjne diagnostyki lekarskiej. PZWL, Warszawa 1962.
12. Žilcov N.Z., Žučkov V.K.: Vlijanie aktivnosti otdelnych fermentov v semeni životnych na pereživaemost spermy vne organizma. Selskochozjajst. Biołogija, 1973, t. 8, nr 6, s. 933.

А. Лычиньски

АКТИВНОСТЬ АСПАРТАТАМИНОТРАНСФЕРАЗЫ (АспАт) В СВЕЖЕЙ И ХРАНИМОЙ СПЕРМЕ ХРЯКОВ

Р е з ю м е

Исследования энзиматической активности (АспАт) были проведены на 58 эякулятах, отобранных мануальным методом от 12 хряков крупной белой польской (кбп) и польской белой вислоухой (пбв) пород, упот-

ребляемых на Станции животноводства и искусственного осеменения животных (SHiUZ). Было обнаружено, что сам процесс разбавления спермы вызывал 3-кратный рост энзиматической активности. Кроме того, в плазме спермы, хранимой в разбавленном состоянии была обнаружена более низкая активность АспАт (32,4 ед. R.F.), чем в плазме, хранимой без разбавления (38,2 ед. R.F.). Можно предполагать, что рост активности АспАт в плазме спермы после её консервации свидетельствует о повреждении клеточных структур живчиков, вызывая тем самым понижение их оплодотворяющей способности.

A. Łyczyński

ACTIVITY OF ASPARTATE AMINOTRANSFERASE (AspAT) IN FRESH AND STORED BOAR SEMEN

S u m m a r y

Investigations of the activity of enzymes (AspAT) were carried out on 58 ejaculates collected by manual method from 12 boars of Polish Large White (w.b.p.) and Polish Landrace (p.b.z.) breeds, used in the Station of Breeding and Artiticial Insemination of Animals (SHiUZ). It was found that the process of diluting the semen caused a threefold growth of enzymatic activity. In addition, in semen stored when diluted the activity of AspAT in plasma was lower (32.4 j R.F.) than in semen stored undiluted (38.2 j R.F.). The increased AspAT activity in the semen plasma after conservation may indicate that the cell structure of spermatozoa was damaged, lowering their fertilizing ability.