

Streszczenie

Inseminacja samic zwierząt gospodarskich jest obecnie jedną z najważniejszych metod biotechnologicznych. Najbardziej optymalnym sposobem konserwacji w przypadku trzody chlewnej jest używanie nasienia knura przechowywanego w stanie płynnym. Wynika to ze specyficznej budowy i wrażliwości na udar chłodowy błony komórkowej plemników knura, oraz podatności struktur komórkowych na zaburzenia oksydacyjne wywoływane przez reaktywne formy tlenu. Celem badań była analiza funkcjonalno-strukturalnych zmian zachodzących w plemnikach podczas przechowywania nasienia knura w stanie płynnym uwzględniająca ocenę zaburzeń oksydacyjnych plemników, a także określenie wpływu dodatku do rozcieńczalnika dysmutazy ponadtlenkowej (SOD) i katalazy (CAT) na jakość przechowywanego nasienia. Materiał do badań stanowiło nasienie pozyskane od 52 knurów rasy duroc (n=72 ejakulatory) przechowywane przez 7 dni w rozcieńczalniku Vitasem LD (Megapor, Hiszpania). Ochronne oddziaływanie antyoksydantów na plemniki zweryfikowano stosując dodatek do rozcieńczalnika następujących wariantów stężeń SOD: 25 IU/mL, 50 IU/mL i 75 IU/mL oraz CAT: 100 IU/mL, 200 IU/mL 300 IU/mL. Analizę zmian funkcjonalno-strukturalnych w plemnikach przeprowadzano w 1., 3., 5., i 7. dniu przechowywania nasienia w oparciu o komputerowo wspomaganą ocenę ruchliwości plemników, HOS-test, barwienie fluorochromami SYBR-14/PI, JC-1, BODIPY, DCFH-DA oraz ocenę całkowitej zdolności antyoksydacyjnej.

W pierwszym etapie badań stwierdzono, że czas konserwacji nasienia miał istotny wpływ na analizowane wskaźniki ruchliwości, integralność błony komórkowej i aktywność mitochondriów plemników. Wykazano, że w trakcie konserwacji w plemnikach nasila się proces peroksydacji lipidów błonowych oraz wewnątrzkomórkowego generowania H_2O_2 przy spadku całkowitej zdolności antyoksydacyjnej w ich środowisku zewnątrzkomórkowym. W badaniach stwierdzono występowanie współzależności pomiędzy zaburzeniami oksydacyjnymi plemników a pozostałymi ocenianymi wskaźnikami jakości przechowywanego nasienia. W kolejnej części badań stwierdzono, że w odniesieniu do grupy kontrolnej wskaźniki jakości przechowywanego nasienia najkorzystniej kształtowały się w rozcieńczalnikach z dodatkiem 25 IU/mL i 50 IU/mL SOD oraz 100 IU/mL i 200 IU/mL CAT. W tych wariantach doświadczalnych stwierdzono ogólnie wyższy odsetek plemników ruchliwych oraz plemników z integralną błoną komórkową i aktywnymi mitochondriami. Ponadto, w rozcieńczalnikach z dodatkiem enzymów zaobserwowano

mniejszy udział plemników z peroksydacją lipidów błonowych i wewnątrzkomórkowym wytwarzaniem H_2O_2 .

Otrzymane wyniki wskazują, że wraz z czasem przechowywania pogarsza się jakość nasienia knura, co może być spowodowane generowaniem nadmiernej ilości reaktywnych form tlenu. Wydaje się, że zmiany te mogą być kompensowane przez dodatek do rozcieńczalnika związków o działaniu antyoksydacyjnym, co przyczynić się może do poprawy efektywności metod konserwacji nasienia knura.

29.06.23

Stępkowska
Paulina