

**METABOLIZM I AKTYWNOŚĆ AMINOTRANSFERAZY ASPARAGINIANOWEJ
W NASIENIU BUHAJA**

Zdzisław Boryczko

Katedra Rozrodu Zwierząt z Kliniką, Wydział Weterynarii
SGGW-AR w Warszawie

W układach doświadczalnych, imitujących warunki występujące w trakcie konserwacji nasienia i w czasie kapacytacji, badano wpływ tych procesów na metabolizm plemników i uwalnianie z nich do osocza nasienia aminotransferazy asparaginianowej. W badaniach tych uwzględniano również wyniki uzyskane w trakcie oceny morfologicznej plemników.

METABOLIZM I AKTYWNOŚĆ AspAT W NASIENIU ZAKAŻONYM BAKTERIAMI

Poglądy na temat nieswoistej flory bakteryjnej występującej w nasieniu są różne. Wierzbowski [24] twierdzi, że nie ma wystarczających dowodów na to, aby zakażenie nasienia florą nieswoistą wywierało wpływ na jego zapładnialność, natomiast Króliński [16] donosi o przypadku, kiedy to zakażone nasienie buhaja wykazywało obniżoną żywotność i zapładnialność. Znany jest również fakt wywoływania przez jeden z szczepów *Staphylococcus aureus* zmian strukturalnych w główkach plemników oraz zmian w ich ruchliwości i metabolizmie [19]. Zagadnienie to

analizowano w warunkach doświadczalnych, używając sztucznie zakażonego nasienia. Starano się uzyskać odpowiedź na pytanie, jaki wpływ na biologiczne właściwości nasienia mają takie drobnoustroje jak *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli*, jako najczęściej występujące w nasieniu. Wszystkie badane bakterie powodowały obniżenie zużycia tlenu w inkubowanych próbach nasienia. Różnice te, statystycznie istotne między próbami kontrolnymi i zakażonymi, zawierały się jednak w niewielkim przedziale kilku mikrolitrów zużywanego tlenu w przeliczeniu na 10^8 plemników (tab. 1).

Wyraźnie zwiększone uwalnianie do osocza nasienia aminotransferazy asparaginianowej, które mogło wg Browna i wsp. [8] świadczyć o uszkodzeniu struktury komórkowej plemników, miało miejsce jedynie w przypadku zakażenia bakteriami z gatunków *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus aureus* w próbach o bardzo znacznym stopniu zakażenia, wynoszącym 30 milionów komórek bakteryjnych w 1 ml (tab. 2). W próbach kontrolnych i o zakażeniu 3 milionami komórek bakteryjnych w 1 ml nie stwierdzono znaczących różnic w wysokości odsetka plemników martwych po jednogodzinnej inkubacji [2, 3].

W ostatnich latach dyskutowany jest wpływ, jaki może wywierać osocze nasienia na błonę cytoplazmatyczną bakterii [14]. Z osocza nasienia udało się wyizolować frakcję białkową, semiplazminę, o działaniu antybakteryjnym, polegającym na hamowaniu syntezy RNA w komórce bakteryjnej [20].

W badaniach własnych, w których materiałem do analizy ultrastrukturalnej było nasienie inkubowane z *E. coli* niehemolizującym, zaobserwowano przejaśnienia i fragmentacje protoplazmy ko-

Wpływ 3 i 30 milionów komórek bakteryjnych

Pseudomonas aeruginosa, *Staphylococcus aureus* i *E. coli* na zużycie tlenu przez plemniki buhaja
(pomiar w aparacie Warburga)

Próba	n	Zużycie tlenu w mikrolitrach przez 10^8 plemników po			
		15 min	30 min	45 min	60 min
Kontrola	16	4,84	8,31	11,75	14,42
Nasienie z 3 mln <i>Ps. aeruginosa</i> /ml	16	4,12	7,21	10,36	12,79
Nasienie z 30 mln <i>Ps. aeruginosa</i> /ml	16	4,09	6,25	9,05	10,31
Kontrola	20	7,34	12,48	16,07	20,30
Nasienie z 3 mln <i>Staph. aureus</i> /ml	20	5,84	9,82	13,29	16,00
Nasienie z 30 mln <i>Staph. aureus</i> /ml	20	4,38	7,62	11,10	14,06
Kontrola	20	8,83	13,09	19,93	24,23
Nasienie z 3 mln <i>E. coli</i> niehemol.	20	8,25	12,03	17,33	20,96
Nasienie z 30 mln <i>E. coli</i> /ml niehemol.	20	7,98	11,25	16,28	20,25
Kontrola	20	7,09	13,62	17,74	22,21
Nasienie z 3 mln <i>E. coli</i> hemol.	20	5,84	11,22	15,45	19,34
Nasienie z 30 mln <i>E. coli</i> /ml hemol.	20	5,89	10,93	14,77	18,69

x = $P \leq 0,05$.

xx = $P \leq 0,01$.

Aktywność GOT w próbach nasienia
 po dodaniu *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *E. coli*
 i po jednogodzinnej inkubacji w temp. 37°C

Próba	n	Aktywność w mikrojednostkach/ml		Różnica
		przed inkubacją	po inkubacji	
Kontrola	12	280,30	321,60] XX] X
Nasienie z 3 mln <i>Ps. aeruginosa</i> /ml	12	300,13	364,30	
Nasienie z 30 mln <i>Ps. aeruginosa</i> /ml	12	284,98	443,70	
Kontrola	16	325,4	350,0] XX] XX
Nasienie z 3 mln <i>Staph. aureus</i> /ml	16	325,1	372,0	
Nasienie z 30 mln <i>Staph. aureus</i> /ml	16	305,5	422,6	
Kontrola	18	269,50	316,46	
Nasienie z 3 mln <i>E. coli</i> /ml niehemol.	18	265,40	334,50	
Nasienie z 30 mln <i>E. coli</i> /ml niehemol.	18	264,30	364,16	
Kontrola	20	216,0	258,8	
Nasienie z 3 mln <i>E. coli</i> /ml hemol.	20	217,3	274,3	
Nasienie z 30 mln <i>E. coli</i> /ml hemol.	20	225,6	287,4	

x = P ≤ 0,05.

xx = P ≤ 0,01.

mórek bakteryjnych. Protoplazma wydostawała się na zewnątrz w formie pęcherzyków. Stwierdzono także uszkodzenie błon komórkowych bakterii. Stopień uszkodzenia komórek bakteryjnych był w niektórych próbach nasienia znaczny [5].

W trakcie inkubacji kontaminowanych prób nasienia dokonano również pomiarów zawartości ATP i ADP metodą bioluminiscencji opisaną przez Kühna i wsp. [15]. Zawartość ATP i ADP spada w przebiegu 6-godzinnej inkubacji. Spadek ten jednak był podobny w próbach kontrolnych i zakażonych bakteriami [4].

METABOLIZM PLEMNİKÓW I AKTYWNOŚĆ AspAT

W PROCESIE ROZMRAŻANIA NASIENIA

Zdaniem Robinsa i wsp. [22] żywotność nasienia poddanego procesowi zamrażania, a następnie rozmrażania, zależy od wielu czynników. Bardzo istotny jest sposób rozmrażania nasienia. Dla nasienia mrożonego w słomkach najlepszą ruchliwość i najniższy odsetek uszkodzonych plemników wykazywały próby krótkotrwale rozmrażane w temp. 56°C .

Biorąc pod uwagę powyższe, wydawało się celowe prześledzenie żywotności, oddychania i aktywności AspAT nasienia konserwowanego metodą kulek po jego rozmrożeniu w różnych temperaturach [6]. Rozmrażanie przeprowadzano w izotonicznym roztworze NaCl w temp. 4, 20 i 40°C . Z tabeli 3 wynika, że najwyższą aktywność aminotransferazy asparaginianowej wykazywały próby nasienia rozmrażanego w temp. 4°C . Mimo braku statystycznie istotnych różnic można było zauważyć prawidłowość polegającą na tym, że najmniej enzymu uwalnianego było do osocza w próbach rozmrażanych w

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej w mikrojednostkach/ml
 osocza nasienia prób rozmrażanych w różnych temperaturach, a następnie poddanych inkubacji

Temp. rozmr- żania	Czas inkubacji prób w temperaturze 37°						
	0 min	30 min	60 min	90 min	120 min	180 min	240 min
4°	310 [±] 60	315 [±] 61	322 [±] 67	326 [±] 69	334 [±] 64	343 [±] 77	353 [±] 86
20°	308 [±] 62	310 [±] 61	314 [±] 64	316 [±] 66	327 [±] 66	338 [±] 79	345 [±] 86
40°	300 [±] 67	303 [±] 65	305 [±] 65	311 [±] 63	316 [±] 69	325 [±] 76	327 [±] 76

temp. 40°C. Poziom zużywanego tlenu w próbach rozmrażanych w temp. 40°C był zdecydowanie najwyższy, co zresztą związane było przypuszczalnie również z przeżywalnością tak rozmrażanego nasienia (tab. 4 i 5).

T a b e l a 4

Objętość zużytego tlenu w mikrolitrach
w przeliczeniu na 10^8 plemników w próbach nasienia
rozmrażanych w różnych temperaturach
w trakcie godzinnej inkubacji w aparacie Warburga
w temperaturze 37°C

Temperatura rozmrażania	n	Czas inkubacji i objętość zużywanego tlenu			
		15 min	30 min	45 min	60 min
4°	6	8,05	15,30	20,75	23,38
20°	6	8,10	16,05	18,23	22,13
40°	6	15,70	23,26	27,76	31,95

METABOLIZM I AKTYWNOŚĆ ASPAT NASIENIA BUHAJA

PODDANEGO PRÓBIE KAPACYTACJI IN VITRO

Celem ostatnio podjętych badań było prześledzenie zmian biochemicznych i morfologicznych zachodzących podczas kapacytacji plemników buhaja w warunkach in vitro. Kapacytacja plemników według klasycznej definicji Austina [1] określana jest jako zespół

Procent plemników o ruchu postępowym w próbach nasienia
rozmrzażanych w różnych temperaturach poddanych inkubacji w temp. 37°C (n = 21)

Grupa	Temp. rozmrza- żania	Czas inkubacji prób w minutach						
		0	30	60	90	120	180	240
I	28 ±5,2 A	22 ±8,1 A	15 ±7,8 aA	9 ±6,8 A	4 ±5,3 A	1 ±2,6 A	brak	-
II	32 ±5,4 AB	27, ±7,3 B	20 ±7,7 bB	14 ±9,0 AB	8 ±8,0 a	2 ±4,3 a	brak	-
III	35 ±5,5 C	33 ±4,8 C	27 ±8,0 C	21 ±9,4 C	14 ±8,8 bC	6 ±6,1 bC	3 ±4,7	1 ±3,9

Objaśnienie: Średnie oznaczone różnymi literami różnią się istotnie w kierunku pionowym przy:
p ≤ 0,05 (a, b, c) i p ≤ 0,01 (A, B, C).

zmian zachodzących w plemnikach w trakcie wędrówki nasienia przez drogi rodne żeńskie, umożliwiających im zapłodnienie komórki jajowej. W czasie kapacytacji dochodzi do podwyższenia metabolizmu nasienia, które Hammer i Williams [13] stwierdzili w formie zwiększonego zużycia O_2 . Łączy się to także z hiperaktywacją ruchu plemników. Proces kapacytacji powoduje rozwinięcie się reakcji akrosomalnej w główce plemnika. W osoczu nasienia stwierdzono obecność czynnika dekapacytującego, nad identyfikacją którego trwają badania [17]. Oceny efektywności różnych metod kapacytacji nasienia buhaja w warunkach in vitro dokonał Fukui i wsp. [12]. Z pracy tej wynika, że najlepszy efekt kapacytacji uzyskuje się przy stosowaniu płynu pęcherzykowego. Obserwacje dokonane podczas owulacji in vitro wskazują na to, że płyn ten prawie w całości - po przerwaniu ciągłości ściany pęcherzyka jajnikowego - wlewa się do lejka jajowodu [18]. W kilku wcześniejszych pracach [11, 25] wykazano, że płyn pęcherzykowy może mieć udział w procesie kapacytacji plemników, a ostatnio stwierdzono, że aktywnym czynnikiem w płynie ustrojowym, odpowiedzialnym za indukcję reakcji akrosomalnej, jest siarczan glukozaminoglykanu [21].

W trakcie reakcji akrosomalnej zachodzi zjawisko destabilizacji błony komórkowej plemnika i błony zewnętrznej akrosomu [17]. Jednym ze składników biorących udział w procesie kapacytacji plemników i rozwinięcia się reakcji akrosomalnej plemników u zwierząt laboratoryjnych i człowieka jest albumina, która nie bierze udziału w zjawisku hiperaktywacji plemników [9, 10].

W badaniach własnych stosowano albuminę surowiczą bydlęcą i płyn pęcherzykowy. Inkubacja nasienia z płynem pęcherzykowym

spowodowała znaczny wzrost zużycia tlenu w tych próbach (tab. 6). Odmiennie zachowywały się próby z dodatkiem albuminy. Najniższe zużycie tlenu zanotowano w próbach nasienia o najwyższym stężeniu albuminy, tzn. 10 mg/ml.

Zarówno płyn pęcherzykowy, jak i albumina, stymulowały ruchliwość nasienia buhaja w trakcie czterech pierwszych godzin inkubacji w temp. 37°C w łaźni wodnej. W trakcie inkubacji obserwowano „splywanie” materiału, przypuszczalnie z główki plemnika, i osadzenie go w formie kropli w regionie wstawki plemnika (dotyczyło to głównie prób nasienia z płynem pęcherzykowym). Czterogodzinna inkubacja nasienia z płynem pęcherzykowym powodowała tworzenie się kompleksów plemników aglutynujących główkami. W toku kolejnych dwóch godzin inkubacji obserwowano obniżenie odsetka plemników ruchliwych w próbach z płynem pęcherzykowym, natomiast albumina podtrzymywała tę ruchliwość.

Aktywność AspAT była kilkakrotnie wyższa w próbach nasienia z płynem pęcherzykowym w porównaniu z próbami kontrolnymi, przy czym uwalnianie tego enzymu do osocza nasienia miało już miejsce w momencie zmieszania próbki nasienia z płynem pęcherzykowym (tab. 7). Albumina nie powodowała takich zmian. W przypadku prób nasienia inkubowanych z albuminą o stężeniu 10 mg/ml najniższą aktywność AspAT zaobserwowano w nich po czterech godzinach inkubacji (tab. 8).

W preparatach barwionych metodą Watsona, w których oceniano morfologię akrosomu, stwierdzono po sześciu godzinach inkubacji z płynem pęcherzykowym wyższy odsetek plemników z reakcją akrosomalną niż w próbach z albuminą i w próbach kontrolnych.

Zużycie tlenu w próbach nasienia inkubowanych z dodatkiem płynu pęcherzykowego
oraz albuminy surowiczej bydłowej

Rodzaj próby	Zużycie tlenu w mikrolitrach przez 10^8 plemników							
	15 min		30 min		45 min		60 min	
	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s	\bar{x}	s
BFF 20%	7,29	$\pm 2,44$	19,74	$\pm 5,28$	24,38	$\pm 8,52$	29,55	$\pm 9,03$
BFF 40%	8,91	$\pm 3,17$	18,15	$\pm 4,18$	24,88	$\pm 6,53$	31,14	$\pm 7,86$
BFF 60%	10,67	$\pm 4,33$	19,27	$\pm 8,47$	25,76	$\pm 10,40$	31,96	$\pm 12,04$
BFF 80%	11,90	$\pm 3,82$	23,47	$\pm 7,67$	30,63	$\pm 9,02$	29,31	$\pm 12,88$
BSA 2 mg/ml	6,19	$\pm 2,70$	13,49	$\pm 3,80$	18,69	$\pm 3,58$	23,81	$\pm 7,31$
BSA 4 mg/ml	5,33	$\pm 2,95$	10,33	$\pm 4,74$	16,23	$\pm 3,66$	19,70	$\pm 4,80$
BSA 6 mg/ml	5,59	$\pm 4,04$	12,93	$\pm 4,15$	16,45	$\pm 4,38$	19,13	$\pm 5,77$
BSA 10 mg/ml	5,49	$\pm 2,23$	9,18	$\pm 3,30$	11,39	$\pm 2,60$	14,96	$\pm 3,24$
Kontrola	6,09	$\pm 2,93$	12,18	$\pm 4,91$	16,18	$\pm 6,23$	21,82	$\pm 7,62$

Objaśnienia:

BFF - Płyn pęcherzykowy jajnikowy.

BSA - Albumina bydłowa surowicza (frakcja V-ta, Sigma).

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej w mikrojednostkach/ml
osocza nasienia prób inkubowanych z płynem pęcherzykowym

Rodzaj próby	Czas inkubacji w godzinach					
	0	2	4	6		
BFF 20%	156,82 ±48,66	213,18 ±34,63	256,13 ±58,94	255,65 ±82,15		
BFF 40%	195,27 ±36,79	280,45 ±62,95	270,66 ±60,46	270,58 ±68,25		
BFF 60%	234,83 ±39,20	294,0 ±34,07	318,27 ±48,99	317,45 ±54,52		
BFF 80%	276,44 ±73,02	314,12 ±9,22	320,05 ±16,35	329,12 ±17,70		
Kontrola	84,73 ±34,82	169,56 ±16,0	161,71 ±44,23	170,14 ±45,26		

Objaśnienia:

BFF - Płyn pęcherzykowy jajnikowy.

Aktywność aminotransferazy asparaginianowej w mikrojednostkach/ml
osocza nasienia prób inkubowanych z albuminą (frakcja V-ta Sigma)

Rodzaj próby	Czas inkubacji w godzinach				
	0	2	4	6	
BSA 2 mg/ml	99,91 ±64,58	113,28 ±26,62	109,09 ±31,96	106,76 ±15,98	
BSA 4 mg/ml	94,34 ±55,91	114,98 ±24,98	111,35 ±51,58	110,77 ±19,66	
BSA 6 mg/ml	76,26 ±40,03	91,01 ±15,47	108,20 ±46,54	103,26 ±17,74	
BSA 10 mg/ml	82,10 ±56,98	101,87 ±10,97	96,02 ±37,62	114,36 ±29,38	
Kontrola	98,51 ±49,17	119,11 ±28,5	128,30 ±43,89	124,41 ±32,10	

Objaśnienia:

BSA - Albumina bydlęca surowicza.

Wyniki penetracji jaj chemicznych po kapocytacji nasienia mrożonego buhajów
w płynie pęcherzykowym

Nazwa buhaja	Koncentracja plemników $\times 10^6$ w inkubacji	Ruchliwość w %		Procent penetrowanych ocytów chemicznych preinkubacji
		przed okresem preinkubacji	po okresie 5-godzinnej preinkubacji	
Fuks	9,0	40	40	63,3
Flawiusz	11,0	45	30	67,5
Tohórz	12,0	50	30	49,0
Fatos	10,0	25	5-10	37,5
Akropol	8,0	45	25	78,2
Rejen	12,0	40	20	40,8
Aldon	11,25	50	15	76,2
Gen	12,25	50	10	60,4
Fleston	10,0	45	10	66,6

Sprawdzeniem skuteczności kapacytacji *in vitro* nasienia buhaja w płynie pęcherzykowym były wyniki penetracji oocytów chemicznych (Yanagimachi i wsp. [26]), które wahały się od 37,5 do 78,2% dla prób nasienia mrożonego, pochodzącego od różnych buhajów (tab. 9).

Zakażenia bakteryjne nie wydają się wywierać znacznego wpływu na metabolizm, plemników i uwalnianie enzymu aminotransferazy asparaginianowej do osocza nasienia. Natomiast istotnym czynnikiem wpływającym na te procesy jest temperatura rozmrażania. Proces kapacytacji plemników powoduje wzrost ich aktywności metabolicznej. Dlatego też może to być dobrym parametrem do oceny przebiegu tego procesu.

LITERATURA

1. Austin C. R.: Capacitation of the mammalian sperm, *Nature* 1952, 170, 326.
2. Boryczko Z.: Der Einfluss von Bakterien auf den Stoffwechsel des Bullenspermas. Proc. 30. Intern. Fachtagung für Fortpfl. und Besamung der Haustiere 24-26 sept. 1981 Wels.
3. Boryczko Z.: Der Einfluss von *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* auf die metabolischen Prozesse und die Vitalität von Bullenspermien. *Zucht-hyg.*, 1983, 17.13.- 17
4. Boryczko Z., Kähn W., Velez G.: Auswirkungen von Bakterien im Bullensperma auf die Motilität der Spermien sowie ihren Gehalt an ATP und ADP. *Zuchthyg*, 1985 - w druku.
5. Boryczko Z., Radziun K., Wilk G.: Właściwości nasienia buhajów zakażonego pałeczką *E. coli*. Rozród zwierząt i sztuczne unasiennienie, PAN (zeszyt poświęcony pamięci Prof. dr hab. Władysława Bielańskiego) wyd. im. Ossolińskich, 1982, 51-53.

6. Boryczko Z., Udała J., Kawęcka M., Lasota B.: Właściwości biologiczne nasienia buhajów w procesie zamrażania i po rozmrożeniu. *Med. Wet.*, 1984, 40, 228-230.
7. Brackett B. G., Oh. Y. K., Evans J. F. and Donowick W. J.: Fertilization and early development of cow ova, *Biol. Reprod.* 1980, 23, 189-205.
8. Brown K. J., Crabo B. G., Graham E. F., Pace M. M.: Some factors affecting loss of intracellular enzymes from spermatozoa. *Cryobiol.* 1971, 8, 220-225.
9. Davis B. K.: Interaction of lipids with the plasma membrane of sperm cells. I. The antifertilization action of cholesterol *Arch. Androl.* 1980, 5, 249-254.
10. Davis B. K., Byrne R., Hungund B.: Studies on the mechanism of capacitation II. Evidence for lipid transfer between plasma membrane of rat sperm and serum albumin during capacitation in vitro. *Biochim. Biophys Acta* 1979, 558, 257-266.
11. Faundez R., Fitko R., Liminowicz J.: Stymulacja in vitro aktywności plemników buhajów przez płyn jajników. *Endokrynologia Polska* 1977, 5, 413-418.
12. Fukui J., Fukuskima M., Ono H.: Fertilization in vitro Bovine oocytes after various sperm procedures. *Theriogenology* 1983, 20, 651-660.
13. Hammer C. E. and Williams W. L.: Effect of the female reproductive tract on sperm metabolism in the rabbit and fowl. *J. Reprod. Fert.* 1963, 5, 143-150.
14. Jarvis B. D. W.: Effect of bovine seminal plasma on bacteriae membranes. *New Zeal. J. Agricult. Res.* 1979, 22, 33-38.
15. Kähn W., Pfetsch J., Leidl W.: Methodische Aspekte zur ATP -, ADP und AMP Bestimmung im Sperma mit dem Biolumineszenzverfahren, *Zuchthyg.* 1983, 17, 1-3.
16. Króliński J.: Wpływ *Pseudomonas aeruginosa* na żywotność plemników w nasieniu buhaja. *Medycyna Wet.* 1977, 33, 298-300.
17. Mastroianni L. and Biggers J. D.: Fertilization and embryonic development in vitro. 1981 Plenum Press, New York.

18. Merkt H.: Owulacja u klaczy. Film prezentowany na zebraniu PTNW Warszawa, 10 października 1985.
19. Meyer M., Sonnenschein B., Bispins W. und Krause D.: Untersuchungen über die samenschädigende Wirkung der Stoffwechselproducte von *Staphylococcus aureus*. Berl. Münch. Tierärztl. Wochr. 1980, 4, 66-68.
20. Reddy E. S. P., Bhargara P. M.: Seminalplasmin - an anti microbial protein from bovine seminal plasma which acts in *E. coli* by specific inhibition of - RNA synthesis. Nature, 1979, 279, 725-726.
21. Reyes R., Carraneo A., Hernandez I., Rosado A., Merchant H., Delgado M. M.: Glycosamineglycan sulfate as acrosomal reaction inducing factor of follicular fluid. Arch. Andrology, 1984, 12, 203-209.
22. Robins E. K., Saacke R. G., Chandler P. T.: Influence of freeze rate, thaw rate and glycerol level on acrosomal Retention and survival of bovine spermatozoa frozen in french straws, J. Anim. Sci. 1976, 42, 145-151.
23. Triana L. R., Babcock D. F., Lorton S. P., First N. L., Lardy H. A.: Release of acrosomal hyaluronidase follows increased membrane permeability to calcium in the presumptive capacitation sequence of spermatozoa of the bovine and other mammalian species Biol. Reprod. 1980, 23, 47-53.
24. Wierzbowski S.: Występowanie i znaczenie warunkowo - patogennych i wszechobecnych bakterii w nasieniu buhajów. Medycyna Wet. 1982, 38, 66-68.
25. Yanagimachi R.: In vitro acrosome reaction and capacitation of golden hamster spermatozoa by bovine follicular fluid and its fractions. J. Exp. Zool. 1969, 170, 269-280.
26. Yanagimachi R., Yanagimachi H., Rogers B. T.: These of zona - free animal ova as a test - system for the assessment of the fertilizing capacity of human spermatozoa, Biol. Reprod. 15: 471-476, 1976.

Zdzisław Boryczko

THE METABOLISM AND ACTIVITY OF ASPARAGINE
AMINOTRANSFERASE IN THE SEMEN OF BULL

S u m m a r y

The oxygen consumption and activity of asparagine aminotransferase in frozen bull semen were most favourable on unfreezing the sample at 40°C. Bacterial contamination had not had any significant influence on the value of the above parameters. A significant influence, i.e. increase of asparagine aminotransferase activity and of the oxygen consumption index, have been observed in samples subjected to capacitation in vitro in the vesicular fluid. The high ratio of penetrated hamster oocytes had enabled to verify the efficiency of semen capacitation in the vesicular fluid.

Здзислав Борычко

МЕТАБОЛИЗМ И АКТИВНОСТЬ ГЛЮТАМАТАСПАРТАТТРАНСАМИНАЗЫ
В СЕМЕНИ БЫКА

Р е з ю м е

Потребление кислорода и активность глутаматаспартаттрансаминазы в замороженном семени быка формировались наиболее благоприятно при размораживании проб в температуре 40°C. Бактериальные загрязнения оказывали небольшое влияние на значения вы-

неупомянутых параметров. Значительное влияние, т.е. повышение активности глутаматспартаттрансаминазы и индекс потребления кислорода было отмечено в пробах семени быка, подвергнутых капацитации *in vitro* в фолликулярной жидкости. Показателем эффективности капацитации семени в фолликулярной жидкости был высокий процент проникаемых комячих ооцитов.