

mgr inż. Alicja Mizera

Dziedzina: nauki rolnicze

Dyscyplina: zootechnika

Data wszczęcia przewodu doktorskiego: 6 luty 2018 r.

Temat: Optymalizacja środowiska przechowywania nasienia buhajów

Promotor: prof. dr hab. inż. Marian Kuczaj

Promotor pomocniczy: dr Jarosław Jędraszczyk

Recenzenci: prof. dr hab. inż. Jan Udała

dr hab. n. wet. Waldemar Grzegorzewski

STRESZCZENIE

Celem badań była optymalizacja środowiska przechowywania nasienia buhajów. Przeprowadzone badania składały się z trzech eksperymentów.

- Określenie wpływu dodatku kobalaminy do rozrzedzalnika nasienia na ruchliwość, żywotność oraz stopień defragmentacji DNA mrożonych/rozrożonych plemników buhajów.
- Określenie wpływu dodatku octanu busereliny do rozrzedzalnika nasienia na ruchliwość i żywotność plemników buhajów przechowywanych w stanie płynnym
- Określenie wpływu dodatku ekstraktu ze Spiruliny (*Spirulina maxima*) do rozrzedzalnika nasienia na ruchliwość, żywotność, stopień defragmentacji DNA mrożonych/rozrożonych plemników buhajów oraz poziom intensywności fluorescencji emitowanej przez ROS.

Nasienie pobrano od 12 buhajów rasy simmentalskiej za pomocą sztucznej pochwy. Witaminę B₁₂ dodano w stężeniach 1,50, 2,50, 3,50 i 5,00 mg/ml do prób nasienia rozrzedzonych rozrzedzalnikiem Bioexcell®. Porcje nasienia zamrożono w słomkach (0,25 ml). Wpływ dodatku witaminy B₁₂ oceniono po rozmrożeniu nasienia. Wyniki wykazały, że witamina B₁₂ wpływa pozytywnie ($P < 0,05$) na cechy takie jak żywotność, fragmentacja DNA i ruchliwość plemników. W celu poprawy jakości nasienia mrożonego/rozrożonego rekomenduje się zastosowanie 2,50 mg/ml witaminy B₁₂.

Nasienie pobrano od 20 buhajów rasy polskiej holsztyńsko-fryzyjskiej za pomocą sztucznej pochwy. Ejakulaty odwirowano, podzielono i rozrzedzono stosując komercyjny

rozzredzalnik BIOXcell® uzupełniony o 0, 2, 4 lub 8 µg/ml octanu busereliny. Jakość nasienia oceniano bezpośrednio po rozrzedzeniu, w 8 i 24 godzinie inkubacji (temp. 16°C). Dodatek octanu busereliny do rozrzedzalnika BIOXcell® wpłynął pozytywnie (P<0,05) na ogólną ruchliwość, ruch postępowy i żywotność plemników poddanych inkubacji. Zaleca się uzupełnienie rozrzedzalnika nasienia o 4 µg/ml octanu busereliny w celu poprawy jakości przechowywanego nasienia buhajów.

Nasienie pobrano od 20 buhajów rasy simmenstalskiej za pomocą sztucznej pochwy. Następnie podzielono i rozrzedzono stosując komercyjny rozrzedzalnik BIOXcell® uzupełniony o 0, 2, 4, 6 i 8 µg/ml ekstraktu ze Spiruliny (*Spirulina maxima*). Porcje nasienia zamrożono w słómkach (0,25 ml). Wpływ dodatku SME oceniono po rozmrożeniu nasienia. Wyniki wykazały istotny (P<0,05) wpływ SME na żywotność, rychliwość, stopień defragmentacji DNA plemników oraz syntezę reaktywnych form tlenu w nasieniu poddanemu kriokonserwacji. Biorąc pod uwagę uzyskane wyniki, zaleca się uzupełnienie rozrzedzalnika o 4 µg/ml SME w celu poprawy jakości mrożonego/rozmrożonego nasienia buhajów.

ABSTRACT

The aim of this study was the storing environment optimization of the bulls semen. The research carried out consisted of three experiments.

- Determination of the effect of cobalamin addition to the semen extender on the motility, viability and degree of DNA defragmentation of frozen / thawed bull sperm.

- Determination of the influence of buserelin acetate addition to the semen extender on the motility and viability of bull spermatozoa stored in a liquid state.

- Determination of the effect of the addition of Spirulina extract (*Spirulina maxima*) to the semen extender on the motility, viability, degree of DNA defragmentation of frozen / thawed bull spermatozoa and the intensity of fluorescence emitted by reactive oxygen species.

The semen was collected from 12 Simmental bulls using an artificial vagina. Vitamin B₁₂ was added at concentrations of 1.50, 2.50, 3.50 and 5.00 mg/ml for semen samples diluted with a Bioexcell® extender. Portions of semen were frozen in straws (0,25 ml). The effect of the vitamin B₁₂ supplement was evaluated after thawing. The results showed that vitamin B₁₂ positively affected (P <0,05) on features such as viability, DNA fragmentation and sperm motility. In order to improve the quality of frozen/thawed bull semen, it is recommended to use 2.50 mg/ml of vitamin B₁₂.

The semen was collected from 20 Polish Holstein-Friesian bulls using an artificial vagina. The ejaculates were centrifuged, divided and diluted using a commercial diluent BIOXcell® supplemented with 0, 2, 4 or 8 µg/ml buserelin acetate. Sperm quality was evaluated immediately after dilution, at 8 and 24 hours incubation (16 ° C). The addition of buserelin acetate to the BIOXcell® extender positively influenced ($P < 0,05$) the total motility, progressive motile and viability of the incubated spermatozoa. It is recommended that the sperm is diluted with a diluent supplemented with 4 µg/ml buserelin acetate to improve the quality of incubated bull semen.

The semen was collected from 20 Simmenstal bulls using an artificial vagina. It was then divided and diluted using a commercial extender BIOXcell® supplemented with 0, 2, 4, 6 and 8 µg / ml of the *Spirulina maxima* extract. Portions of semen were frozen in straws (0,25 ml). The effect of the SME supplement was evaluated after thawing. The results showed a significant ($P < 0.05$) effect of SME on viability, motility, degree of DNA defragmentation of spermatozoa and synthesis of reactive oxygen species in semen subjected to cryopreservation. Taking into account the obtained results, it is recommended to supplement the extender by 4 µg/ml of SME in order to improve the quality of frozen / thawed bulls' semen.

