

Pokretljivost spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) pri različitim salinitetima i temperaturama

Mužjaci vrste *Rutilus rubilio*, na kojima su vršeni eksperimenti, ulovljeni su u rijeci Bunici u Malom Polju 6. maja 1966. godine. Izlov je vršen elektroagregatom. Kod većine polno zrelih jedinki ove vrste konstatovali smo potpuno sazrele polne produkte, koji su bili spremni za odlaganje.

Obadviije serije eksperimenata izvršene su na spermiji jednog mužjaka. Njegova maksimalna dužina tijela iznosila je 148 mm, a težina 35,5 gr.

Eksperimenti su vršeni 31. maja i 1. juna 1966. godine u laboratoriji Odjeljenja za ihtiologiju i ribarstvo Biološkog instituta Univerziteta u Sarajevu.

Za potrebe ovog eksperimenta pripremljen je veći broj rastvora NaCl različite koncentracije. Upotrebljavani su rastvori od 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 i 15‰. Rastvori su držani na sobnoj temperaturi, a kako je eksperiment trajao duže vremena, i temperatura se u laboratoriji mijenjala, to je i neposredno prije upotrebe određenog rastvora kontrolisana njegova temperatura. U svim eksperimentima obavljenim na ovoj vrsti, temperatura rastvora varirala je od 14,5—16,6°C.

Sperma je uzimana suhom pipetom sa genitalnog otvora životinje i stavljana u ranije pripremljenu suhu Petrijevu šolju. Zatim je spermiji dodavana jedna količina određene koncentracije rastvora NaCl; kapljica rastvora spermatozoida, stavljena na sterilno čisto predmetno staklo, pokrivena je pokrovnim staklom, a zatim je vršeno posmatranje i mjerenje pokretljivosti spermatozoida pod mikroskopom uvećanja 400 i 1000 puta.

Tokom eksperimenta su određivane tri faze pokretljivosti spermatozoida. Prva faza obuhvata period intenzivnog (normalnog) pokretanja; druga faza smanjenu pokretljivost, dok treća faza predstavlja period, u kome najveći broj spermatozoida prestaje sa kretanjem, pa sve do potpunog prestanka kretanja spermatozoida.

Drugi eksperiment je vršen na spermiji iste jedinke. Praćena je pokretljivost spermatozoida u vodi različitim temperaturama, koje su predstavljale slijedeće vrijednosti izražene u °C: 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 i 60. Voda za eksperimenat je uzimana iz akvarijuma, pa je prema tome hladena, odnosno zagrijavana do željenih temperatura. Moramo istaći, da je tokom eksperimenta dolazilo do manjih promjena temperature, koja nije mo-

gla biti kontrolisana. Rezultati iznešene probe predstavljaju prosjek iz dva eksperimenta, odnosno četiri probe.

REZULTATI

a) Uticaj saliniteta

U rastvoru od 1‰ spermatozoidi babura su se pokretali 2 minuta i 18 sekundi (ukupna pokretljivost). Sa povećavanjem koncentracije rastvora ukupna pokretljivost spermatozoida se postepeno povećava, tako da u rastvoru od 7‰ dužina trajanja pokretljivosti iznosi 65 minuta i 4 sekunde. Do bitnog produžavanja pokretljivosti dolazi u rastvoru NaCl od 4‰, kada iznosi 39 minuta i 44 sekunde. U rastvorima koncentracije veće od 7‰, dužina trajanja pokretljivosti se naglo smanjuje, tako da već u rastvoru od 8‰ iznosi polovinu vremena od onog na 7‰ (33'22" : 65'04"). Naglo skraćivanje vremena nastaje takođe i u rastvoru od 9‰ i u rastvoru od 10‰, u kome spermatozoidi zadrže pokretljivost samo 2 minuta i 32 sekunde. Pada u oči da se u rastvoru od 10‰ spermatozoidi pokreću približno isto toliko, koliko i u rastvoru od 1‰. U rastvoru od 15‰ nismo konstatovali nikakvu pokretljivost spermatozoida. Posebnu pažnju ćemo obratiti na analizu prve faze, pošto je ona za samo oplođenje ikre najvažnija, kao i to, da predstavlja vrijeme, u kome su spermatozoidi najaktivniji. U rastvoru od 1‰ prva faza pokretljivosti kod babura traje samo 47 sekundi. Ova faza traje najduže u rastvoru od 6‰ (2'35"), što je samo za 11 sekundi duže od trajanja prve faze u rastvoru od 5‰. Trajanje prve faze u rastvorima jače koncentracije naglo se samnjuje, tako da već u rastvoru od 9‰ nismo mogli uopšte konstatovati prvu fazu pokretljivosti. Interesantno je, da najdužem trajanju prve faze pokretljivosti ne odgovara najduža ukupna pokretljivost. Kao što smo već napomenuli, najduža ukupna pokretljivost zabilježena je u rastvoru od 7‰, dok je trajanje prve faze u tom rastvoru znatno kraće (oko 1 minut) nego u rastvoru od 6‰.

Trajanje druge faze u rastvorima različite koncentracije odvija se uglavnom na isti način kao kod prve faze. Ona je najduža u rastvoru od 6‰ i iznosi 4 minuta i 10 sekundi. Međutim, u rastvoru od 7‰ dolazi do naglog skraćivanja ove faze; druga faza u tom rastvoru trajala je samo 40 sekundi, dok je u

rastvoru od 8‰ trajala nešto duže — 51 sekundu. Moramo istaći, da je vremensko ograničavanje ove faze dosta teško precizirati i da sadrži izvjesnu dozu subjektivne ocjene posmatrača.

U trećoj fazi, koja predstavlja vremensko trajanje od završetka druge faze pa do potpunog prestanka kretanja spermatozoida, nailazimo na interesantnu pojavu. Naime, u koncentracijama od 1—7‰ period pokretljivosti spermatozoida pokazuje progresivan uspon, koji naglo opadne u koncentraciji od 8‰, a već na 9, 10‰ treća faza nije mjerljiva. Prema svim podacima o ukupnom trajanju pokretljivosti vidi se, da najveći interval pripada upravo ovoj fazi. (U koncentracijama od 1—7‰ na treću fazu otpada od 42 do 96%, ili prosječno 78,3% od ukupnog trajanja pokretljivosti). Treba istaći i to da se prilikom komparisanja I, II i III faze ne može uočiti nikakva zakonomjernost, što se najbolje može viditi na primjerima pokretljivosti II i III faze pri koncentracijama od 6 i 7‰. Dok je kod koncentracije od 6‰ druga faza trajala 4 minuta i 10 sekundi, a treća faza 54 minuta i 42 sekunde, dotle je kod koncentracije od 7‰ druga faza trajala svega 40 sekundi, a treća faza čak 62 minute i 50 sekundi.

Tabela I
Ponašanje spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) na različitim koncentracijama saliniteta

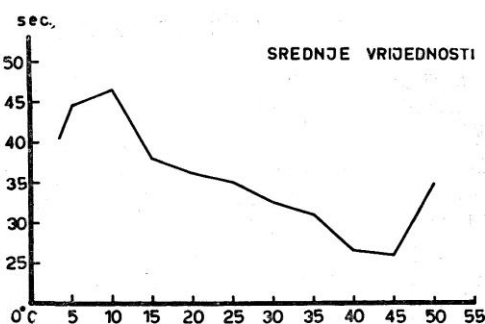
Koncentracija u ‰	Temperatura u °C	I faza normalna pokretlj.	II faza smanjena pokretlj.	Trajanje II faze	III faza uginuće (ukupna pokretlj.)	Trajanje III faze
1	16,0	47"	1'20"	33"	2'18"	58"
2	16,1	59"	1'48"	49"	4'48"	3'00"
3	16,2	1'14"	1'56"	42"	12'17"	10'21"
4	16,2	1'35"	2'51"	1'16"	39'44"	36'53"
5	16,3	2'24"	5'58"	3'32"	47'22"	41'26"
6	16,3	2'35"	6'45"	4'10"	61'27"	54'42"
7	16,6	1'34"	2'14"	40"	65'04"	62'50"
8	14,6	55"	1'46"	51"	33'27"	31'41"
9	14,8	—	—	—	8'34"	—
10	15,0	—	—	—	2'32"	—
15	15,8	—	—	—	—	—

b) Uticaj temperature

Kao što smo i ranije naveli za trajanje pokretljivosti spermatozoida pod uticajem različitih temperatura po fazama, izračunali smo srednje vrijednosti iz dva eksperimenta, odnosno četiri probe, dok je ukupna pokretljivost prikazana sa dvjema probama (srednje vrijednosti iz dva eksperimenta).

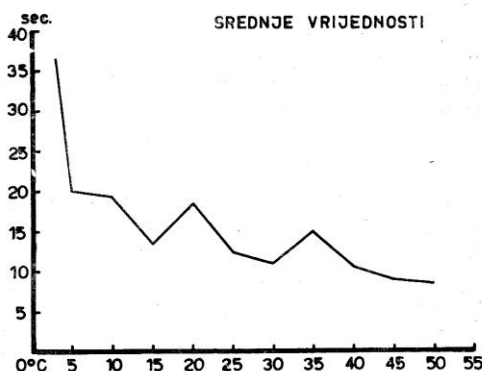
Prva faza pokretljivosti traje najduže na temperaturi od 10°C, što je slučaj i sa trajanjem ukupne pokretljivosti. Međutim, upoređujući pokretljivost spermatozoida na temperaturama vode od 3,5 i 10°C, ne bi se moglo reći da ima nekih vidnijih razlika. Od 10 pa do 45°C primjećuje se blago opadanje vremena trajanja ove faze, da bi na temperaturi

vode od 50°C ponovo nešto poraslo (35 sekundi). Na temperaturi vode od 55°C nije se mogla uopšte konstatovati ova faza. (Grafikon I).



Grafikon I
Trajanje normalne pokretljivosti spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) na različitim temperaturama (I FAZA)

Trajanje druge faze bilo je najduže pri temperaturi vode od 3°C (36,5 sekundi). Sa porastom temperature vode trajanje ove faze opada, sa napomenom, da je ovaj pad prilično nepravilan. Pokretljivost spermatozoida na temperaturi vode od 50°C skoro je neznatna i traje u ovoj fazi svega 8,5 sekundi, a na 55°C nije više zabilježena, kao što je slučaj i sa prethodnom fazom. (Grafikon II).



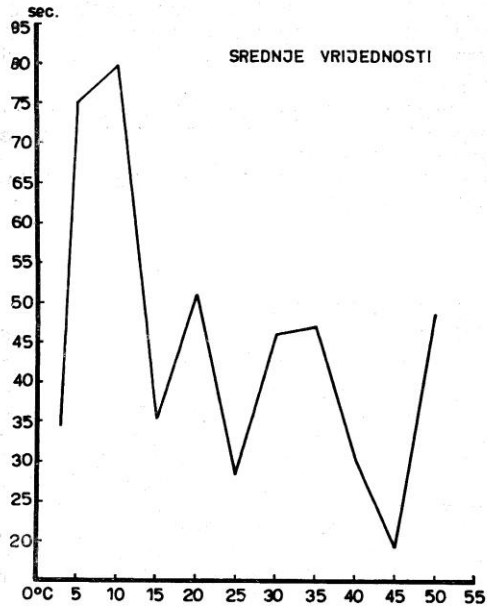
Grafikon II
Trajanje smanjene pokretljivosti spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) na različitim temperaturama (II FAZA)

Treća faza daje prilično neobičnu sliku trajanja pokretljivosti spermatozoida u odnosu na različite temperature vode. Svakako je najvrijednije istaći momenat porasta trajanja. Naime, dok je pokretljivost spermatozoida pokretljivosti unutar početnih temperatura na temperaturi od 3°C trajala svega 34,5 sekundi, već na 5°C ona je iznosila 75 sekundi, odnosno na 10°C predstavljala vremenski in-

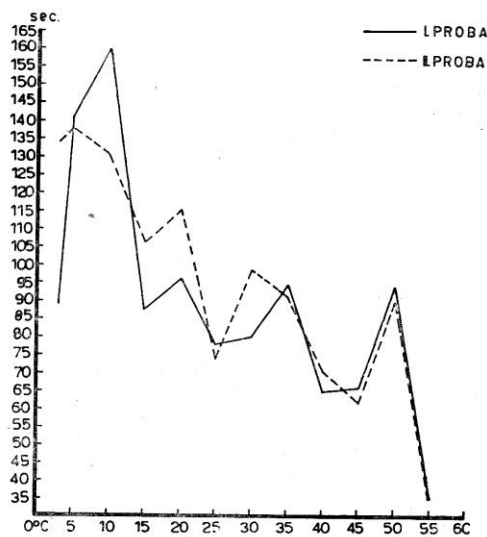
terval od 80 sekundi, što je ujedno najduže zabilježeno trajanje pokretljivosti u ovoj fazi, pa i u svim fazama pojedinačno. Sa porastom temperature vode trajanje pokretljivosti nepravilno opada, da bi na temperaturi od 45°C iznosila svega 19 sekundi. Na 50°C ponovo je

zabilježeno duže trajanje pokretljivosti, koje iznosi 48,5 sekundi. Slična pojava konstatovana je i u prvoj fazi. Na temperaturi vode od 55°C nije uopšte zapažena nikakva pokretljivost. (Grafikon III).

Ukupno trajanje pokretljivosti spermatozoida na temperaturama od 3—55°C kreće se u granicama od 35—160 sekundi. Najduža pokretljivost zapažena je na temperaturi vode od 5 i 10°C, što se podudara sa prvom i trećom fazom, dok se za drugu fazu to ne bi moglo reći. Na temperaturi od 10°C zabilježena je najduža pokretljivost od 160 sekundi. Već na temperaturi od 15°C ova vrijednost opada čak na 86,5 sekundi, da bi sa porastom temperature do 45°C pokazivala dalje nepravilno opadanje. Na 50°C primjećen je ponovni porast dužine trajanja pokretljivosti (99,5 sekundi), da bi na 55°C opala na 35 sekundi. Na 60°C nismo primjetili nikakvu pokretljivost. (Grafikon IV + Tabela II)



Grafikon III
Trajanje završne pokretljivosti spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) na različitim temperaturama (III FAZA)



Grafikon IV
Ukupno trajanje pokretljivosti spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) na različitim temperaturama

Tabela II
Srednje vrijednosti trajanja pokretljivosti spermatozoida babura (*Rutilus rubilio*) pri različitim temperaturama vode.

Temper. vrij. u °C	I faza normal. pokretlj.	II faza smanjena pokretlj.	Trajanje II faze	III faza uginuće	Trajanje III faze
3	40,5"	77"	36,5"	111,5"	34,5"
5	44,5"	64,5"	20,0"	139,5"	75,0"
10	46,5"	66,0"	19,5"	145,5"	79,5"
15	38,0"	52,5"	13,5"	97,0"	35,5"
20	36,0"	54,5"	18,5"	105,5"	51,0"
25	35,0"	47,5"	12,5"	76,0"	28,5"
30	32,5"	43,5"	11,0"	89,5"	46,0"
35	31,0"	46,0"	15,0"	93,0"	47,0"
40	26,5"	37,0"	10,5"	67,5"	30,5"
45	26,0"	35,0"	9,0"	64,0"	19,0"
50	35,0"	43,0"	8,5"	92,0"	48,5"
55	—	—	—	35,0"	—
60	—	—	—	—	—

Diskusija

Naša ispitivanja uticaja saliniteta (rastvoreni NaCl u vodi) na dužinu trajanja pokretljivosti spermatozoida kod babura su pokazala, da kao i kod svih ostalih ribljih vrsta, salinitet vode ima veliki uticaj na vrijeme, u kome spermatozoidi zadrže pokretljivost. Najduža pokretljivost u našem eksperimentu na spermatozoidima babura je zabilježena u rastvorima 6 i 7‰, a pokretljivost je takođe bila duga i u rastvorima 4, 5 i 8‰. Sudeći po našim rezultatima, izotonični rastvor za spermatozoide babura bi vjerovatno bio negdje između 6 i 7‰. Poznato je, da spermatozoidi riba, nezaštićeni opnama (kao što je to sa ikrom), troše najveći dio svoje energije na osmoregulaciju. Stoga je sasvim razumljivo, što njihova pokretljivost najduže traje baš u izotoničnom rastvoru. Pokretljivost spermatozoida babura u rastvoru od 7‰ oko 24 puta je duža od najduže pokretljivosti, koju smo

zabilježili u običnoj vodi iz akvarijuma. U rastvoru od 15‰ spermatozoidi babura se više nisu pokretali.

Temperatura vode takođe pokazuje određeni uticaj na dužinu trajanja pokretljivosti spermatozoida. Kao što bi se moglo i očekivati, najduža pokretljivost spermatozoida je zabilježena pri nižim temperaturama vode. Ovdje je bilo važno uočiti, da su se spermatozoidi kraće vrijeme pokretali pri temperaturi vode od 3°C, nego pri temperaturama od 5°C, odnosno 10°C. Skraćivanje dužine trajanja pokretljivosti spermatozoida sa podizanjem temperature vode, kod babura protiče vrlo sporo i neujednačeno. Na 40°C spermatozoidi babura su se pokretali samo 21 sekundu kraće nego na temperaturi od 15°C. Interesantno je, da ukupno trajanje pokretljivosti spermatozoida kod babura na temperaturama od 20° do 50°C pokazuje istu vrijednost u prvoj probi (95 sekundi), pa i u drugoj probi razlika nije tako značajna (115 : 90 sekundi). U analizama rezultata prve faze vidi se, da je trajanje pokretljivosti spermatozoida bilo najduže (46,5 sekundi) na temperaturi vode od 10°C. To upravo odgovara temperaturi vode (sredine), gdje ova vrsta ribe živi i mrijesti se, pa ovaj podatak smatramo i najvažnijim sa gledišta prakse, jer do oplodnje dolazi upravo u prvoj fazi pokretljivosti spermatozoida.

Uticaj različitih temperatura i saliniteta na pokretljivost spermatozoida kod babura predstavlja početak istraživanja iz domena ove naučne oblasti. U slijedećim radovima objavićemo rezultate, dobivene istraživanjem drugih vrsta riba, a posebnu pažnju obratićemo na endeme jadranskog sliva, koji su vrlo malo ili nikako ispitivani.

Kratak sadržaj

U ovom radu ispitivan je uticaj različitih koncentracija saliniteta i temperatura na pokretljivost spermatozoida kod babura (*Ruti-*

lus rubilio). Konstatovali smo da izotonični rastvor za spermatozoide ove vrste ribe predstavlja koncentraciju od 6 i 7‰, iako je pokretljivost spermatozoida bila duga i u rastvorima od 4, 5 i 8‰. Najduža ukupna pokretljivost spermatozoida pri različitim temperaturama vode, zabilježena je na temperaturi od 10°C i trajala je 160 sekundi, dok je posebno interesantna prva faza pokretljivosti na istoj temperaturi pokazala vrijednost od 46,5 sekundi.

Smatramo da je sa praktičnog stanovišta vrlo važno upoznavanje dužine trajanja prve faze pokretljivosti, jer upravo za vrijeme najintenzivnijeg pokretanja spermatozoida i dolazi do oplodnje.

Zusammenfassung

Die Beweglichkeit der Spermatozoiden des Rotauges (Rutilus rubilio) bei verschiedenen Salinitätskonzentrationen und Temperaturen

Der Einfluss verschiedener Salinitätskonzentrationen und Temperaturen auf die Beweglichkeit der Spermatozoiden des Rotauges (*Rutilus rubilio*) wurde untersucht. Es ist festgestellt worden dass die isotonische Lösung für die Spermatozoiden dieser Fischart bei 6—7‰ liegt, wenn auch die Beweglichkeit in Lösungen von 4,5 und 8‰ eine lang andauernde war. Die längste gesamte Beweglichkeit der Spermatozoiden bei verschiedenen Wassertemperaturen ist bei 10°C beobachtet worden und dauerte 160 Sekunden, während die besonders interessante erste Phase bei der gleichen Temperatur den Wert von 46,5 Sekunden aufwies.

Vom praktischen Standpunkt ist die Kenntnis der Beweglichkeitsdauer der ersten Phase am wichtigsten, da während dieser Zeit der intensivsten Beweglichkeit der Spermatozoiden die Befruchtung stattfindet.