

# Podatność nasienia gęsiorów białych kołudzkich na proces mrożenia w czterech kolejnych pokoleniach

EWA ŁUKASZEWICZ

Zakład Hodowli Drobiu Wydziału Biologii i Hodowli Zwierząt AR, ul. Chełmońskiego 38a, 51-630 Wrocław

Łukasiewicz E.

## Resistance to the freezing process of White Kołuda gander spermatozoa in four subsequent generations

### Summary

The purpose of the present experiments was to determine the effects of the freezing process on fresh semen quality and spermatozoa susceptibility to cryoinjury stress, evaluated in four subsequent generations obtained after geese insemination with thawed semen. The experiments were carried out on 2-4-year old White Kołuda ganders derived from naturally mated flocks and their four subsequent generations obtained after geese insemination with thawed semen, evaluated in the first cycle of reproduction. The freezing process did not effect the fresh semen quality, but with every subsequent generation the spermatozoa susceptibility to cryoinjury increased, manifested as a higher number of live morphologically intact cells (evaluated in a light microscope) in the thawed semen. In relation to the fresh semen, the freezing process preserved on average 25.6; 39.1; 47.1 and 66.6 percent of the live normal spermatozoa, in the first, second, third and fourth generations, respectively.

**Keywords:** ganders, semen, freezing, spermatozoa morphology

Pomimo że prace nad zamrożeniem nasienia ptaków prowadzone są już od ponad 50 lat (24), wyniki tych badań nie znalazły jak dotąd szerszego zastosowania w praktyce drobiarskiej. Główną przyczyną braku takiego zainteresowania są niezadowalające wyniki zapłodnienia uzyskiwane po inseminacji rozmrożonym nasieniem. Dane literaturowe (2, 5, 7, 12, 15, 27) oraz wyniki badań własnych (17-19) dotyczące mrożenia nasienia różnych gatunków ptaków domowych i dzikich wskazują, że na osiągnięcie pożądanego celu – wysokiej przeżywalności i zdolności zapładniającej rozmrożonego nasienia, ma wpływ wiele, ściśle powiązanych ze sobą czynników, odmiennych dla poszczególnych gatunków ptaków.

Skuteczność procesu kriokonserwacji nasienia ptaków zależy od jakości nasienia świeżego (28, 30), środowiska kriochronnego (rozrzedzalnik i środek osłaniający), tempa spadku temperatury w czasie wstępnego mrożenia i temperatury przemrożenia, techniki rozmrażania nasienia, a także od sposobu unasienniania samic rozmrożonym nasieniem (3, 7, 9, 11, 13, 14, 27). Badania autorki nad mrożeniem nasienia kaczorów piżmowych oraz gęsiorów rasy kubańskiej i białej kołudzkiej wskazują również na zróżnicowanie osobnicze samców pod względem jakości nasienia świeżego oraz jego podatności na proces mrożenia (10, 18, 20). Jednakże, w praktyce hodowlanej, przy stosowaniu sztucznej inseminacji, samice są zazwyczaj

unasienniane nasieniem pobieranym od kilku, a nawet kilkunastu samców, dlatego w przedstawionych badaniach, podobnie jak w innych, dotyczących przechowywania nasienia, analizowano nasienie uzyskiwane od grupy samców pochodzących od tych samych rodziców i utrzymywanych w jednakowych warunkach środowiskowych.

Niska korelacja pomiędzy wartością nasienia świeżego oraz po jego przechowywaniu w stanie płynnym, wskazuje, że ocena nasienia świeżego nie jest miarodajnym wskaźnikiem zdolności zapładniającej nasienia przechowywanego, bowiem wartość przechowywanego nasienia zależy od wielu czynników (6, 23). W wyniku genetycznego doskonalenia kur w kierunku zwiększenia poziomu zapłodnienia po inseminacji nasieniem przechowywanym uzyskano znaczne zróżnicowanie tego wskaźnika, czego nie obserwowano w odniesieniu do nasienia świeżego u selekcyjonowanych linii (29). Wyniki badań Bucklanda (6) również wskazują na możliwość genetycznego doskonalenia kur pod kątem poziomu zapłodnienia i długości okresu wytrwałości zapłodnienia uzyskiwanych po inseminacji nasieniem przechowywanym w stanie płynnym.

Lake i Stewart (16) wykazali, że istnieje możliwość skutecznej selekcji samców w kierunku zwiększenia odporności plemników na niekorzystne skutki mrożenia nasienia w ciekłym azocie. U kur unasiennianych

nasieniem pochodzącym od kogutów będących trzecim pokoleniem doskonalonym w kierunku zwiększenia podatności plemników na mrożenie, stwierdzono istotnie wyższe wskaźniki zapłodnienia i długości okresu wytrwałości zapłodnienia, w porównaniu z grupami kontrolnymi (26).

Wyniki badań własnych nad doskonaleniem metody kriokonserwacji nasienia gęsiorów rasy białej kołudzkiej oraz obserwacje poczynione w trakcie ich realizacji wskazywały, że u losowo wybieranych gęsiorów w kolejnych pokoleniach uzyskiwanych po inseminacji gęsi rozmrożonym nasieniem zachodziła selekcja naturalna w kierunku zwiększenia odporności plemników na proces mrożenia. Przejawiało się to wyższą liczbą plemników prawidłowych w rozmrożonym nasieniu. Można wnioskować, że badany czynnik, którym była kriokonserwacja nasienia, wywoływał adaptacyjne zmiany genetyczne.

Celem badań było określenie, spowodowanego selekcją niezamierzoną, wzrostu odporności na mrożenie plemników w nasieniu pobieranym od czterech kolejnych pokoleń gęsiorów pochodzących od gęsi po inseminacji nasieniem rozmrożonym.

### Materiały i metody

Badania przeprowadzono w Zakładzie Hodowli Drobiu Akademii Rolniczej we Wrocławiu, w latach 1998-2002.

W pierwszym roku badań (1998) materiał doświadczalny stanowiło 7 gęsiorów białych kołudzkich w wieku 2-4 lat, zakupionych w fermie reprodukcyjnej gęsi (tzw. stado podstawowe). W czterech następnych latach oceniano gęsiory roczne pochodzące z własnego wychowu, będące kolejnymi pokoleniami uzyskanymi po inseminacji gęsi zamrożonym-rozmrożonym nasieniem.

W 1998 r. zamrożonym-rozmrożonym nasieniem pobieranym od gęsiorów stada podstawowego unasienniono 10 gęsi białych kołudzkich. Z 2-3 kolejnych lęgów wybrano losowo 12 gęsiorków, które po okresie wychowu i uzyskaniu dojrzałości płciowej (wiosną następnego roku), stanowiły materiał doświadczalny do dalszych badań (w tym wypadku – I pokolenie po inseminacji rozmrożonym nasieniem). W ten sam sposób postępowano w kolejnych latach uzyskując w 2000 r. – II pokolenie dojrzałych płciowo gęsiorów; w 2001 r. – III pokolenie i w 2002 r. – IV pokolenie pochodzące od samic inseminowanych nasieniem rozmrożonym. Gęsiory rozpoczynały swój pierwszy sezon rozrodczy w wieku 8-9 miesięcy, ale dla uproszczenia określano je jako roczne (tj. w pierwszym cyklu rozrodczym). Co roku inseminowano inną grupę gęsi. Samice oraz samce stada podstawowego pochodziły ze stad krytych naturalnie i były w wieku 2-4 lat.

Gęsiorki wychowywano zgodnie z zasadami wychowu gąsiąt reprodukcyjnych (21). Każdego roku, przed rozpoczęciem okresu rozrodczego gęsiory umieszczano w klatkach indywidualnych z podłożem ściółkowym (o wymiarach 70 x 95 x 85 cm) i pozostawiano w nich do zakończenia okresu rozrodczego. Równocześnie przyzwyczajano je do chwytania i masowania. Gęsi utrzymywano grupowo w boksie z wybiegiem i dostępem do basenu z wodą. Ptaki

przebywały pod wiatą, w naturalnych warunkach środowiskowych i przy naturalnym oświetleniu. W okresie rozrodczym ptaki żywiono pełnoporcjową mieszanką dla gęsi hodowlanych, zawierającą 11,7 MJ energii metabolicznej i 14% białka.

Nasienie pobierano 2-3 razy w tygodniu, metodą masażu grzbietowo-brzusznego, łącznie od całej grupy gęsiorów (8). Dla wyeliminowania wpływu okresu reprodukcyjnego na jakość nasienia, we wszystkich latach analizowano nasienie pobierane między połową kwietnia a drugą dekadą maja. Liczba pobrań oraz prób mrożenia wahała się od 8 do 16. Dla zapewnienia optymalnej jakości nasienia zabieg masażu przeprowadzano zawsze w takich samych warunkach (o tej samej porze dnia, przez te same osoby i według takiego samego toku postępowania). Pobieranie nasienia od wszystkich samców trwało maksymalnie 10-15 minut.

W świeżo pobranym nasieniu oceniano: objętość (przy użyciu pipety, z dokładnością do 0,01 ml); barwę ejakulatów (zwykle związaną ze stopniem czystości nasienia i koncentracją plemników); koncentrację (metodą hemocytometryczną); ruchliwość (w skali 5-stopniowej, od 10% do 100% wg Bielańskiego (4)) oraz obraz morfologiczny plemników. Z uwagi na zmienną liczbę samców w badanych grupach gęsiorów, średnią objętość ejakulatu określano na podstawie objętości łącznej oraz liczby samców reagujących w danym dniu pobrania. W rozmrożonym nasieniu oceniano ruchliwość oraz obraz morfologiczny plemników. Obraz morfologiczny plemników oceniano na podstawie preparatów histologicznych utrwalanych barwnikiem nigrozyno-eozynowym. W każdym preparacie (przy 1250-krotnym powiększeniu; mikroskop Jenaval, Carl Zeiss, Jena) określano 300 plemników różnicowanych na 7 kategorii morfologicznych: sześć zaliczano do tzw. żywych ogółem, a do kategorii 7. – plemniki martwe, całkowicie lub częściowo wybarwione eozyną (17, 18). Wyniki tej oceny przedstawiono jako procentowy udział poszczególnych form plemników (300 = 100,0%). Przy analizie wyników szczególną uwagę zwracano na zawartość plemników żywych prawidłowo ukształtowanych ze względu na ich znaczenie w procesie zapłodnienia. Udział form niedojrzałych (spermatyd) określano jedynie w nasieniu świeżym, jako wskaźnik stopnia zaawansowania procesów spermatogenezy. Dla wyraźniejszego zobrazowania jakości nasienia świeżego, produkowanego w kolejnych pokoleniach gęsiorów, obliczano wskaźnik jakości nasienia (WJN), uwzględniający równocześnie 3 cechy: objętość ejakulatu, koncentrację plemników oraz udział plemników żywych prawidłowo ukształtowanych (18).

Po wstępnej ocenie nasienie rozrzedzano i poddawano procesowi mrożenia według metody własnej mrożenia nasienia gęsiorów białych kołudzkich (17, 18). Nasieniem przechowywanym przez 5-7 dni w ciekłym azocie unasienniano gęsi dwa razy w tygodniu dawką 0,2 ml. Nasienie rozmrażano w łaźni wodnej o temp. 60°C, bezpośrednio przed inseminacją. Jaja zbierano codziennie, raz w tygodniu nakładano do komór lęgowo-klujnikowych Typ C82 (Agraria, Gostyń) i leżono według zasad obowiązujących dla jaj gęsi (21).

W przeprowadzonych badaniach nie określano liczby plemników w dawce inseminacyjnej ani nie analizowano wskaźników zapłodnienia jaj i wylęgowości piskląt, bowiem jedynym celem inseminacji było uzyskanie gęsiorów do dalszych badań.

Wyniki dotyczące oceny nasienia świeżego opracowano statystycznie przy użyciu metody ANOVA. Analizę wyników oceny nasienia zamrożonego-rozmrożonego przeprowadzono przy zastosowaniu metody ANCOVA, uwzględniającej zróżnicowanie w wartości nasienia świeżego. Istotność różnic określono przy pomocy testu Duncana (SAS-System, General Linear Models Procedure). Wartości wyrażone w procentach poddano transformacji  $\arcsin \sqrt{x}$ .

Celem wyeksponowania wpływu procesu kriokonserwacji na obraz morfologiczny plemników obliczano tzw. zmiany relatywne (ZR), tj. odsetek poszczególnych form morfologicznych plemników przeżywających proces mrożenia w stosunku do nasienia świeżego (traktowanego jako 100%).

### Wyniki i omówienie

W nasieniu świeżym badanych grup gęsiorów obserwowano różnice pod względem wszystkich cech ocenianych metodami laboratoryjnymi, ale jedynie w odniesieniu do objętości ejakulatów i koncentracji plemników były one statystycznie istotne (tab. 1). Ogólna zawartość plemników żywych była zbliżona i ulegała niewielkim wahaniom zarówno między kolejnymi pokoleniami, jak i w badanych okresach cyklu rozrodczego. Udział plemników prawidłowych był bardziej zróżnicowany. Najwyższą ich zawartość stwierdzono w nasieniu gęsiorów stada podstawowego (będących w wieku 2-4 lat), a w poszczególnych pobraniach wahała się ona od 30,7 do 66,7%. Spośród

rocznych gęsiorów najwyższą zawartość tej formy plemników wykazywało nasienie gęsiorów II pokolenia (2000 r.). Ich udział w pobieranych ejakulatach wahał się w granicach 18,7-38,7%. Biorąc pod uwagę wskaźniki WJN, najwartościowsze ejakulatory produkowały samce w I (1999 r.) i III (2001 r.) pokoleniu. Wartość tego wskaźnika wahała się odpowiednio od 9,1 do 66,2 oraz od 9,1 do 54,4.

Obraz morfologiczny plemników w rozmrożonym nasieniu wykazywał znacznie zróżnicowanie między grupami gęsiorów, a istniejące różnice były statystycznie istotne w odniesieniu do większości wyodrębnionych form morfologicznych plemników (tab. 2). Podobnie jak w nasieniu świeżym, ogólna zawartość plemników żywych była zbliżona (jedynie u gęsiorów I pokolenia była istotnie niższa ( $p \leq 0,01$ ) niż u pozostałych grup). Zawartość plemników prawidłowych w rozmrożonym nasieniu gęsiorów III i IV pokolenia była podobna jak w nasieniu gęsiorów stada podstawowego i wahała się od 10,3% do 25,0% w II pokoleniu, od 16,3% do 36,0% w IV pokoleniu oraz od 8,0% do 50,0% w nasieniu gęsiorów ze stada podstawowego. W odniesieniu do pozostałych form morfologicznych plemników zmiany spowodowane procesem kriokonserwacji kształtowały się w różny sposób (tab. 2). W większości prób udział plemników z rozdętymi główkami, załamanymi szyjkami oraz ze zmianami we wstawce był w rozmrożonym nasieniu niższy niż w nasieniu świeżym, co wskazuje, że uszkodzone pierwotnie plemniki nie przetrwały stresu temperaturowego, zwiększając liczbę plemników martwych w rozmrożonym nasieniu.

Interesujące są wyniki analizy zmian relatywnych

Tab. 1. Charakterystyka nasienia świeżego pobieranego od gęsiorów białych kołudzkich w kolejnych pokoleniach uzyskanych po inseminacji gęsi rozmrożonym nasieniem ( $\bar{x} \pm s$ )

Oceniane cechy	Rok badań – kolejne pokolenie					
	1998/P*	1999/I	2000/II	2001/III	2002/IV	
Liczba samców	7	10/9	10	11	10	
Liczba pobrań	8	11	14	12	16	
Okresy pobierania nasienia	15,04–14,05	9,04–24,05	10,04–23,05	9,04–21,05	9,04–22,05	
Łączna objętość ejakulatów (ml)	1,03±0,61	2,27±0,38	2,47±0,48	2,05±0,35	2,05±0,29	
Ejakulat / samca (ml)	0,15 <sup>A</sup> ±0,09	0,25 <sup>B</sup> ±0,04	0,25 <sup>B</sup> ±0,05	0,19 <sup>B</sup> ±0,03	0,20 <sup>B</sup> ±0,03	
Koncentracja plemników ( $n \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ )	185,0 <sup>Aa</sup> ±153,0	308,2 <sup>Ab</sup> ±104,5	297,9 <sup>Aab</sup> ±66,9	429,2 <sup>Bc</sup> ±103,9	252,8 <sup>Aab</sup> ±66,7	
Wskaźnik jakości nasienia / $\sigma^2$	16,57±23,99	33,51±17,23	19,74±8,09	32,58±12,90	19,83±7,90	
Formy plemników (%)	Ogółem żywe	93,38±1,75	91,64±5,42	92,07±3,16	91,44±2,60	90,04±2,69
	Prawidłowe	48,79±11,19	41,82±8,38	26,40±5,07	39,31±7,06	37,35±6,35
	Rozdęte główki	22,25±8,59	26,48±6,48	32,17±5,31	21,28±4,85	24,52±3,59
	Załamane szyjki	10,50±4,37	9,61±2,74	17,24±4,41	15,83±4,43	13,10±3,94
	Zmiany we wstawkach	5,71±2,16	7,39±2,37	8,55±5,88	5,64±2,09	7,35±1,74
	Spermatydy	5,21±1,83	4,79±1,58	5,26±2,06	2,81±1,67	6,65±2,41
	Inne nieprawidłowe	0,92±0,58	1,55±0,97	2,45±1,19	6,58±2,64	1,06±0,94

Objaśnienia: \* P – stado podstawowe; a, b, A, B – średnie w rzędach oznaczone różnymi literami różnią się istotnie: małymi –  $p \leq 0,05$ , dużymi –  $p \leq 0,01$

zmian relatywnych poszczególnych form morfologicznych plemników (tab. 2, ryc. 1). Z każdym kolejnym pokoleniem wzrastała odporność plemników na proces mrożenia, co było szczególnie widoczne w liczbie plemników prawidłowo ukształtowanych. W nasieniu gęsiorów stada podstawowego, w odniesieniu do nasienia świeżego, proces kriokonserwacji przeżywało, zachowując swoją prawidłową budowę morfologiczną, od 18,6% do 82,7%

Tab. 2. Obraz morfologiczny rozmrożonego nasienia gęsiorów w kolejnych pokoleniach oraz zmiany relatywne w odniesieniu do nasienia świeżego

Formy plemników (%)	Rok badań – kolejne pokolenie									
	1998/P*		1999/I		2000/II		2001/III		2002/IV	
	$\bar{x} \pm s$	ZR**	$\bar{x} \pm s$	ZR	$\bar{x} \pm s$	ZR	$\bar{x} \pm s$	ZR	$\bar{x} \pm s$	ZR
Ogółem żywe	52,83 <sup>A</sup> ±7,1	56,64±7,9	42,24 <sup>B</sup> ±13,0	46,17±14,4	64,05 <sup>A</sup> ±4,9	69,64±8,9	61,53 <sup>A</sup> ±5,4	67,34±6,2	67,00 <sup>A</sup> ±4,5	74,63±5,5
Prawidłowe	21,54 <sup>A</sup> ±13,0	46,74±29,8	10,06 <sup>B</sup> ±5,9	25,65±15,3	10,07 <sup>B</sup> ±2,7	39,13±12,3	18,25 <sup>Aa</sup> ±4,3	47,11±11,8	24,82 <sup>Ab</sup> ±5,7	66,55±17,7
Rozdęte główki	15,75 <sup>Ab</sup> ±6,6	90,96±70,5	20,73 <sup>b</sup> ±7,3	78,15±19,7	30,36 <sup>B</sup> ±2,7	96,46±15,6	20,56 <sup>b</sup> ±2,6	103,5±38,4	21,88 <sup>b</sup> ±4,3	90,17±17,9
Załamane szyjki	6,25 <sup>A</sup> ±1,8	72,88±48,4	8,27 <sup>A</sup> ±2,5	96,07±48,5	17,55 <sup>B</sup> ±3,4	108,8±39,9	14,33 <sup>B</sup> ±2,2	99,31±38,6	13,27 <sup>B</sup> ±3,8	108,29±23,4
Zmiany we wstawkach	8,29 <sup>Aa</sup> ±4,2	166,7±121,1	3,15 <sup>B</sup> ±1,5	46,58±22,7	4,45 <sup>b</sup> ±2,3	71,1±52,7	5,58 <sup>Aa</sup> ±1,4	113,1±55,6	6,43 <sup>Aa</sup> ±2,2	92,55±31,1
Liczba prób mrożenia	8		11		14		12		16	

Objaśnienia: \*\*ZR – zmiany relatywne, tj. udział poszczególnych form morfologicznych plemników w nasieniu rozmrożonym, w stosunku do nasienia świeżego (100,0%); Pozostałe objaśnienia jak w tab. 1.

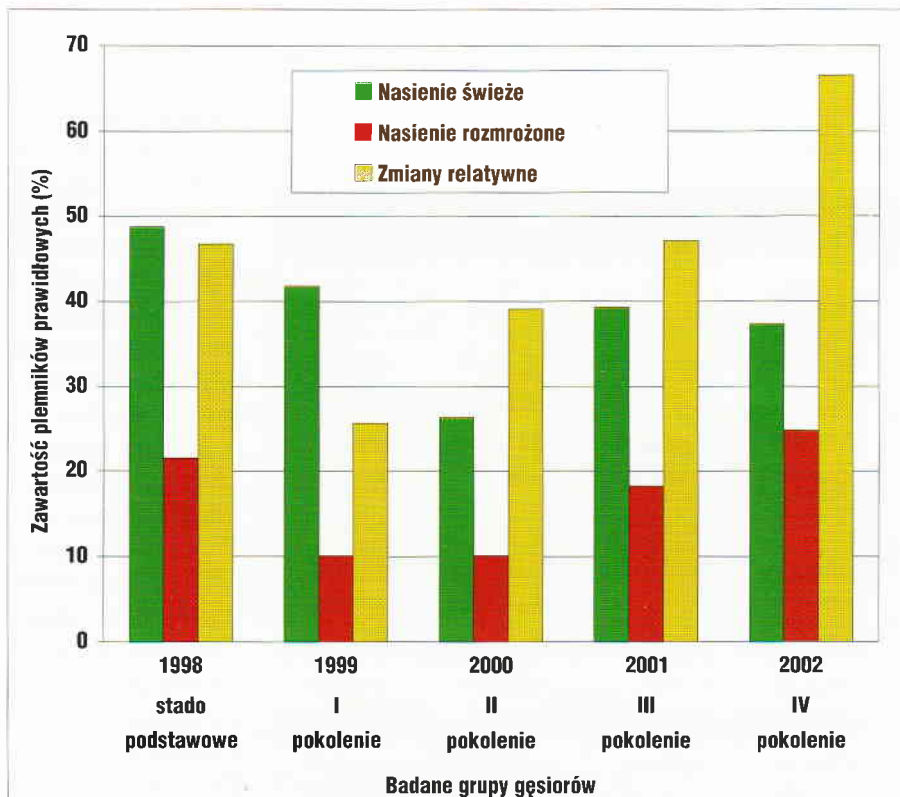
plemników, ale w nasieniu gęsiorów stanowiących I pokolenie tylko od 3,3% do 50,4%. Mimo że w świeżym nasieniu gęsiorów II pokolenia średni procent plemników żywych prawidłowo ukształtowanych był niższy niż w nasieniu gęsiorów I pokolenia (26,4 vs. 41,8), udział tej formy plemników w nasieniu rozmrożonym był wyższy (10,4% vs. 9,6%), a procent plemników, który przetrwał proces mrożenia wynosił średnio 25,7 w I pokoleniu i 39,1 w II pokoleniu. W IV pokoleniu proces kriokonserwacji przeżywało średnio 66,6% (od 46,1% do 83,9%) plemników prawidłowo ukształtowanych. Jest to najwyższy wskaźnik, jaki uzyskano w dotychczas przeprowadzonych badaniach

własnych nad mrożeniem nasienia gęsiorów rasy białej kołudzkiej.

Analiza wyników niniejszych badań potwierdza wcześniejsze obserwacje (17, 18, 20), że jakość nasienia świeżego jest ważnym, ale nie jedynym czynnikiem decydującym o podatności na mrożenie plemników gęsiorów wywodzących się od gęsi *Anser anser* L. Stwierdzone w tych badaniach zmiany relatywne w zawartości plemników prawidłowo ukształtowanych, spowodowane procesem mrożenia, zarówno w odniesieniu do nasienia gęsiorów stada podstawowego, jak i gęsiorów rocznych z I pokolenia, są zbliżone do wyników uzyskanych we wcześniejszych eksperymentach (18, 20). Wskazują one, że zarówno jakość nasienia świeżego, jak i podatność plemników na mrożenie są istotnie wyższe u gęsiorów starszych (2-4-letnich) w porównaniu z osobnikami jednorocznymi.

W prezentowanych badaniach, w każdym pokoleniu potomnym oceniano nasienie gęsiorów jednorocznych, pobierane w zbliżonym okresie cyklu rozrodczego. Przeprowadzona analiza kowariancji, uwzględniająca różnicę w jakości nasienia świeżego, wykazała statystycznie istotne różnice ( $p \leq 0,01$ ) w liczbie plemników żywych prawidłowo ukształtowanych w rozmrożonym nasieniu gęsiorów I, II oraz III, IV pokolenia, a także między III i IV pokoleniem ( $p \leq 0,05$ ).

W badaniach nad doskonaleniem genetycznym kur w kierunku zwiększenia długości okresu wytrwałości zapłodnienia po inseminacji rozmrożonym nasieniem uzyskano, począwszy od III pokolenia statystycznie istotny ( $p \leq 0,01$ ) wzrost doskonałych cech (1). Wartości te systema-



Ryc. 1. Udział plemników prawidłowych w świeżym i rozmrożonym nasieniu oraz zmiany relatywne oceniane w stadzie podstawowym i czterech kolejnych pokoleniach gęsiorów białych kołudzkiej

tycznie rosły do VII pokolenia, a w VIII pokoleniu uległy obniżeniu. Długość wytrzymałości zapłodnienia wynosiła średnio w III pokoleniu 2,92 dni w grupie selekcyjowanej oraz 2,36 dni w grupie kontrolnej, natomiast w VII pokoleniu odpowiednio 5,88 i 3,44 dni. Procent jaj zapłodnionych wynosił 11,7 i 8,0 w III oraz 47,4 i 27,6 w VII pokoleniu, odpowiednio w grupie selekcyjowanej i kontrolnej. Badania wspomnianych autorów (1) wykazały, że wraz z istotnym wzrostem wskaźników płodności w stadach selekcyjowanych, uzyskiwanych po inseminacji nasieniem rozmrożonym, występował równoległy wzrost wskaźników płodności po inseminacji nasieniem świeżym. Mitchell i wsp. (22) sugerowali, że odziedziczalność wskaźników zapłodnienia po inseminacji nasieniem świeżym jest niższa niż po nasieniu rozmrożonym, a Wilcox i wsp. (29) są zdania, że genetyczny wpływ na zdolność zapładniającą nasienia przechowywanego *in vitro* jest wyższy niż w przypadku nasienia świeżego.

W niniejszych badaniach nie prowadzono zamierzonej selekcji zootechnicznej. Obserwowany, pozytywny wpływ inseminacji gęsi rozmrożonym nasieniem na podatność plemników na mrożenie w kolejnych pokoleniach wskazuje, że u losowo wybieranych gęsiórów zachodziła selekcja naturalna w kierunku zwiększenia odporności plemników na stres temperaturowo-osmotyczny mający miejsce podczas kriokonserwacji nasienia. W każdym z dotychczas badanych pokoleń (do IV włącznie) zmniejszał się stres wywołany mrożeniem. Nie stwierdzono także wykazanego przez Ansa i Bucklanda (1) wpływu inseminacji rozmrożonym nasieniem na jakość nasienia świeżego w kolejnych pokoleniach gęsiórów, ale z behawioralno-fenotypowych obserwacji wynika, że w pokoleniach potomnych samce wykazywały lepszą reakcję na zabieg pobierania nasienia, jak również charakteryzowały się lepiej rozwiniętym narządem kopolacyjnym w porównaniu z osobnikami stada podstawowego. Według Chełmońskiej (8, 11), w nieselekcyjowanej populacji gęsiórów białych włoskich, pochodzących tak jak gęsiory białe kołudzkie, od gęsi gęgawej *Anser anser* L., pozytywne reakcje na masaż wykazuje zaledwie 30% samców. W badanych pokoleniach, z 12 losowo wybranych samców uzyskiwano regularnie ejakulatory wysokiej jakości od 10-12 gęsiórów.

Uzyskane wyniki skłaniają do dalszych badań nad dokładniejszą oceną właściwości nasienia gęsiórów pochodzących od gęsi po inseminacji rozmrożonym nasieniem, a także czy i do którego pokolenia będzie następował wzrost odporności plemników na proces mrożenia, co stwierdzone zostało wcześniej u kogutów selekcyjowanych genetycznie w tym kierunku (1).

Wydaje się również interesujące, z hodowlanego punktu widzenia, określenie kształtowania się cech reprodukcyjnych gęsi pochodzących od matek inseminowanych nasieniem rozmrożonym, a także wskaźników odchowu gęsiąt rzeźnych, oraz czy obserwowana selekcja naturalna, dotycząca zwiększenia odporności

plemników na mrożenie i lepszej reakcji samców na zabieg pobierania nasienia, wywoła również zmiany w obrębie cech pożądaných w produkcji gęsi, jak np. zwiększonej przeżywalności piskląt czy odporności na choroby.

## Piśmiennictwo

1. Ansa G. A., Buckland R. B.: Eight generations of selection for duration of fertility of frozen-thawed semen in the chicken. *Poultry Sci.* 1983, 62, 1529-1538.
2. Bakst M. R., Sexton T. J.: Fertilizing capacity and ultrastructure of fowl and turkey spermatozoa before and after freezing. *J. Reprod. Fert.* 1979, 55, 1-7.
3. Bellagamba F., Carolini S., Cavalchini L. G.: Cryopreservation for poultry semen: A review. *World's Poultry Sci. J.* 1993, 49, 158-166.
4. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, Warszawa 1972, 395-401.
5. Blanco J. M., Gee G., Wildt D. E., Donoghue A. M.: Species variation in osmotic, cryoprotectant, and cooling rate tolerance in poultry, Eagle, and Peregrine Falcon spermatozoa. *Biol. Reprod.* 2000, 63, 1164-1171.
6. Buckland R. B.: Activity of six enzymes of chicken seminal plasma and sperm. 1. Effect of *in vitro* storage and full sib families on enzyme activity and fertility. *Poultry Sci.* 1971, 50, 1724-1734.
7. Buss E. G.: Cryopreservation of rooster sperm. *World's P. Sci.* 1993, 72, 944-954.
8. Chełmońska B.: Próby sztucznego unasienniania gęsi. *Medycyna Wet.* 1967, 7, 432-436.
9. Chełmońska B., Chrzanowska M., Koch E.: Wpływ deglicerolizacji mrożonego nasienia gęsiórów na jego właściwości morfologiczne i zdolność zapładniającą. *IZ, Wyniki Prac Bad. Zakł. Hod. Drobiu.* 1984, 10, 173-180.
10. Chełmońska B., Łukaszewicz E.: Badania nad możliwością mrożenia nasienia różnych gatunków i ras ptaków. Doskonalenie metody unasienniania kaczek pekín mrożonym nasieniem kaczorów piżmowych. *Sprawozdanie COBRD*, 1990.
11. Chełmońska B., Łukaszewicz E.: Current state and future of artificial insemination in waterfowl. *Proc. 10<sup>th</sup> Europ. Symp. on waterfowl*. Halle, Germany, 1995, s. 225-240.
12. Gee G. F.: Artificial insemination and cryopreservation of semen from non-domestic birds. *First Internat. Symp. on the Artificial Insemination of Poultry*. Bakst M. R., Wishart G. J. (eds) *Poult. Sci. Assoc.*, Savoy, Illinois 1995, 262-279.
13. Hammerstedt R. H., Graham J. K.: Cryopreservation of poultry sperm: The enigma of glycerol. *Cryobiology* 1992, 29, 26-38.
14. Kumararaj R., OmPrakash A. V.: Effect of different diluents, cryoprotectants and equilibration period on freezing of poultry semen. *Proc. XX WPC, Delhi, India* 1996, s. 555-568.
15. Lake P. E., Ravie O., McAdam J.: Preservation of fowl semen in liquid nitrogen: Application to breeding programmes. *British Poultry Sci.* 1981, 22, 71-77.
16. Lake P. E., Stewart T. M.: The examination of the morphology in spermatozoa of domestic fowl. *Artificial insemination in poultry*. *Min. Agri. Fish. Bulletin* 1978, 213, 30-32.
17. Łukaszewicz E.: Effects of semen filtration and dilution rate on morphology and fertility of frozen gander spermatozoa. *Theriogenology* 2001, 55, 1819-1829.
18. Łukaszewicz E.: Kriokonserwacja nasienia gęsiórów *Anser anser* L. *Praca hab. Zesz. Nauk AR we Wrocławiu* 2002, 440, Rozpraw CXC.
19. Łukaszewicz E., Chrzanowska M., Jerysz A., Chełmońska B.: Badania wstępne nad zamrożeniem nasienia gęsiórów gęgawych (*Anser anser*). *Zesz. Nauk. Prz. Hod.* 2000, 49, 504-505.
20. Łukaszewicz E., Kruszynski W.: Evaluation of fresh and frozen-thawed semen of individual ganders by assessment of spermatozoa motility and morphology. *Theriogenology*, 2003, 59, 1627-1640.
21. Mazanowski A.: Gęsi. PWRiL, Warszawa 1980.
22. Mitchell R. L., Buckland R. B., Kennedy B. W.: Heritability of fertility of frozen and fresh chicken semen and the relationship between the fertility of frozen and fresh semen. *Poultry Sci.* 1977, 56, 1168-1171.
23. Phillip L. E., Buckland R. B., Bernon D. E.: A note on the relationship between fertility of fresh semen and that stored varying lengths of time, and the effect of storage on duration and percent fertility. *Poultry Sci.* 1974, 53, 2216-2218.
24. Polge C., Smith A. V., Parker A. S.: Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 1949, 164, 666-667.
25. Scott T. A., Buckland R. B., Kennedy B. W.: The effect of selection for fertility of frozen-thawed semen on spermatozoa oxygen uptake, motility and concentration and ejaculate volume in the chicken. *Theriogenology* 1980, 14, 281-298.
26. Sexton T. J., Buckland R. B., Lopez R.: Comparison of two procedures for freezing semen from cocks of high and low fertility with frozen semen. *Poultry Sci.* 1978, 57, 550-552.
27. Surai P. F., Wishart G. J.: Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. *World's Poultry Sci. J.* 1996, 52, 27-43.
28. Wambeke Van F.: Factors affecting the storage of fowl and turkey semen in the liquid state. *Proc. XX WPC, Delhi, India* 1996, s. 531-538.
29. Wilcox F. H., Shaffner C. S., Wilson H. R.: Breed differences in storing chicken semen. *J. Heredity* 1961, 52, 119-121.
30. Voorst Van A., Leenstra F. R.: Fertility rate of daily collected and cryopreserved fowl semen. *Poultry Sci.* 1995, 74, 136-140.