

# Pobieranie i właściwości nasienia zajęcy szaraków

ROLAND KOZDROWSKI, ANDRZEJ DUBIEL

Katedra i Klinika Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy oraz Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, Pl. Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław

Kozdrowski R., Dubiel A.

## Collection and properties of European brown hare semen

### Summary

The aim of the study was to work out a method of semen collection from hares (*Lepus europaeus*), along with the evaluation of the obtained semen in terms of its usefulness for breeding. Experimental animals (6 males) were born in the wild, caught at an adult age and kept in captivity. Before semen collection, males were treated with xylazine (6 mg/kg b.w, i.m.) and ketamine (15 mg/kg b.w, i.m.), and semen was collected by an electroejaculation method under general anesthesia. During a 3-month study period (March, April, May), 16 ejaculates were sampled. It was demonstrated that European brown hare ejaculates are similar to rabbit ones as to semen volume, spermatozoa concentration and motility, but ejaculates obtained from hares by electroejaculation method are without gelatinous fraction. Properties of hare ejaculates are: semen volume  $0.59 \pm 0.29$  ml, spermatozoa concentration  $248.13 \pm 236.54$  mln/ml, total number of spermatozoa  $184.11 \pm 240.61$  mln and spermatozoa motility  $75.00 \pm 14.72\%$ . It should be indicated that some ejaculates obtained from hares were of poor quality while others were of high quality, suitable for cryopreservation.

**Key words:** hare, semen

W ostatnich dziesięcioleciach obserwuje się stopniowy, lecz z długofalowego punktu widzenia dramatyczny spadek populacji zajęcy (*Lepus europaeus*) w Polsce oraz w innych krajach europejskich. Zmniejszenie liczebności zajęcy jest prawdopodobnie wynikiem oddziaływania wielu czynników biotycznych i abiotycznych, takich jak: choroby (syndrom zająca szaraka – EBHS), monokulturowe uprawy rolne i mechanizacja rolnictwa, presja wzrastającej liczby drapieżników (lis i kruk), zanieczyszczenie środowiska i inne (2, 5, 8, 9, 11, 12, 14, 15). Niemniej jednak, w świetle danych z piśmiennictwa, trudno jest jednoznacznie odpowiedzieć, który z tych czynników jest decydujący.

Z uwagi na spadek liczebności zajęcy wzrosło zainteresowanie hodowlą tych zwierząt w celu ich rozmnażania, a następnie zasiedlania łowisk. Wyniki rozrodu tych zwierząt uzyskiwane w niewoli są jednak niezadowalające, na co głównie wpływają choroby, niska płodność i plenność oraz stosunkowo wysoka śmiertelność młodych osobników. Niepowodzenia i trudności, na jakie natrafiają hodowcy, w dużej mierze wynikają z braku naukowych opracowań dotyczących chowu zajęcy w niewoli oraz nadal nierozwiązanej problematyki kierowania rozrodem tych zwierząt.

Celem badań było opracowanie przyżyciowej metody pobierania nasienia zająca, określenie jego właściwości, a na tej podstawie – przydatności do rozrodu.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w okresie od marca do maja na 6 samcach o masie ciała od 2,6 do 3,3 kg utrzymywanych w niewoli, które jako dojrzałe osobniki zostały odłowione. Do czasu rozpoczęcia eksperymentu samce miały możliwość kry-

cia samic. Z danych uzyskanych z wywiadu oraz badania klinicznego wynikało, że są one zdrowe oraz po wszystkich samcach uzyskano potomstwo. Zające były żywione do woli urozmaiconą dietą, w której skład wchodziła marchew, siano, zielonki, owies oraz pełnoporcjowa mieszanka dla królików. Dodatkowo podawano gałęzie drzew owocowych oraz wierzby.

Z uwagi na płochliwość i nieufność tych zwierząt w stosunku do człowieka nie udało się pobrać nasienia na sztuczną pochwę przy użyciu samicy zająca jako prowokatora. Dlatego też nasienie pobierano metodą elektroejakulacji przy zastosowaniu elektrody jednobiegunowej. Przygotowanie zwierząt do zabiegu polegało na poddaniu ich 12-godzinnej głodówce, a następnie podaniu w formie iniekcji domięśniowej mieszaniny ksylazyny (Sedazin®) oraz ketaminy (Bioketan®) w dawce w przeliczeniu na kilogram masy ciała wynoszącej odpowiednio 6 i 15 mg. Po okresie kilkunastu minut od uzyskania pełnej bezbolesności przystępowano do wykonania zabiegu. Pobieranie nasienia wykonywano według ogólnie przyjętych zasad dla metody elektroejakulacji, przy czym jeżeli po 4-5 impulsach nie doszło do ejakulacji odstępowano w danym dniu od dalszych procedur, a nasienie pobierano z minimum jednotygodniową przerwą pomiędzy zabiegami. W sumie od wszystkich samców uzyskano 16 ejakulatów.

Po pobraniu nasienie poddawano standardowym badaniom z uwzględnieniem objętości, barwy i konsystencji ejakulatu. Odsetek plemników ruchliwych oceniano w mikroskopie świetlnym pod powiększeniem 200-krotnym. Koncentrację plemników w jednostce objętości obliczano metodą cytometryczną w komorze Thoma-Zeissa. Na podstawie objętości ejakulatu i koncentracji plemników obliczano całkowitą liczbę plemników w ejakulacie. W ramach przeprowadzonych badań dokonano klinicznej oceny jąder i najądrzy z uwzględnieniem badania palpacyjnego oraz testometrii przy użyciu suwmiarki. Dokonano jednorazowego pomiaru długości jąder (od końca dogłowego do końca doogonowego) oraz szerokości od po-

wierzchni bocznej do przyśrodkowej. Otrzymane wyniki przedstawiono w postaci średnich i odchyłań standardowych.

### Wyniki i omówienie

Dane dotyczące testometrii przedstawiono w tab. 1. Jądra w badaniu palpacyjnym charakteryzowały się wiotką konsystencją i były przesuwalne. Wyraźnie wyczuwalne były najądrza, zwłaszcza ogon, będący konsystencji bardziej tęgiej od jądra i wielkości ziarna małej fasoli. Badania jąder i najądrzy dokonano w maju, a więc w szczycie sezonu rozrodczego, który trwa od stycznia do sierpnia. Blottner i wsp. (3), badając procesy proliferacji i apoptozy zachodzące w jądrach zajęcy w okresach przejściowych, tj. czerwiec-sierpień (regresja jąder) i listopad-grudzień (wznawianie aktywności), wykazali różnice między tymi okresami w zakresie badanych procesów. W badaniach poświęconych sezonowym zmianom morfometrycznym jąder zajęcy wykazano, że masa jąder jest wysoka w okresie od stycznia do lipca, po czym spada, osiągając minimum w październiku, aby ponownie rozpocząć wzrost w grudniu (4). Opisanemu procesowi towarzyszą zmiany w obrazie histologicznym jąder, polegające na zmianie średnicy kanalików i wysokości nabłonka. Średnica kanalików i wysokość nabłonka najniższa jest w październiku, następnie rośnie, osiągając szczyt w maju. Przeprowadzone badania własne wskazują, że jądra i najądrza u zajęcy były dobrze wykształcone i powinny prawidłowo spełniać swoje funkcje, co potwierdziły udane próby pozyskania nasienia.

Zastosowana w celu pobrania nasienia metoda znieczulenia dawała pełną tolerancję i pozwalała bezpiecznie przeprowadzić zabieg. Zwierzęta wybudzały się w ciągu kilkunastu minut od zakończenia zabiegu, a klinicznie nie stwierdzano powikłań.

Pomimo rosnącego w ostatnich latach, szczególnie w Austrii i w Niemczech zainteresowania rozrodem zajęcy (1, 3, 4, 10, 13, 14) brak jest w dostępnym piśmiennictwie danych dotyczących właściwości nasienia tych zwierząt. W jednym tylko przypadku wskazano na możliwość zastosowania elektroejakulacji do pobierania ich nasienia (10). W badaniach własnych wykazano, że zastosowana metoda pobierania nasienia może być zastosowana u zajęcy, chociaż nie każda próba musi kończyć się powodzeniem. W około 30% przeprowadzonych prób nie udało się pobrać nasienia lub uzyskiwano mocz.

Pozyskiwane nasienie było bez zapachu i miało barwę od szarej do kremowej i konsystencję od wodnistej do śmietany w zależności od koncentracji plemników. W tab. 2 przedstawiono właściwości nasienia zajęcy. W oparciu o przedstawione w tabeli dane można stwierdzić, że właściwości nasienia zajęcy zbliżone są do nasienia królika, choć nie zaobserwowano, występującej w ejakulatach u pewnego odsetka królików, frakcji galaretowatej (6, 7). W zakresie koncentracji plemników i ogólnej ich liczby w ejakulacie występowały duże rozbieżności pomiędzy poszczególnymi ejakulatami, pochodzącymi od różnych oraz tych samych samców, na co wskazują wysokie wartości odchyłań standardowych. Koncentracja plemników wahała się od 10 do 750 mln./ml, a ogólna liczba plemników w ejakulacie od 3 do 750 mln. Powyższe rozbieżności mogą wynikać z zastosowanej metody pobierania

Tab. 1. Wymiary jąder zajęcy

Długość jąder (mm)		Szerokość jąder (mm)	
lewe	prawe	lewe	prawe
46,50 ± 5,68	47,17 ± 5,81	16,17 ± 1,72	16,67 ± 1,63

Tab. 2. Właściwości nasienia zajęcy

Objętość ejakulatu (ml)	Koncentracja plemników (mln/ml)	Ogólna liczba plemników (mln)	Odsetek plemników ruchliwych (%)
0,59 ± 0,29	248,13 ± 236,54	184,11 ± 240,61	75,00 ± 14,72
Właściwości nasienia królików rasy Biały nowozelandzki, cyt. Dubiel i wsp. (6)			
0,97 ± 0,33	309,0 ± 113,0	-	65,7 ± 4,9

nasienia, która nie zawsze gwarantuje możliwość pozyskania nasienia wysokiej jakości. Podobnie przy pobieraniu nasienia królików na sztuczną pochwę również obserwuje się znaczne różnice pomiędzy poszczególnymi ejakulatami pochodzącymi od tych samych osobników (6, 7). W badaniach własnych nasienie pobierano w sezonie rozrodczym od samców, które zgodnie z danymi wywiadu były płodne. Dlatego też dla pełnej oceny jakości nasienia zajęcia w aspekcie oceny jego przydatności do rozrodu jednorazowe pobranie ejakulatu nie jest wystarczające. Jedynie bowiem uzyskanie pełnego ejakulatu, na co czasem potrzeba kilku prób, daje możliwość przeprowadzenia pełnej oceny nasienia. Natomiast rozpatrując możliwość pozyskania nasienia od zajęcy do celów kriokonserwacji, co może mieć znaczenie z uwagi na spadek populacji zajęcia i tworzenie banku nasienia, należy stwierdzić, że pobranie nasienia wysokiej jakości, nadającego się do tych celów jest możliwe.

### Piśmiennictwo

- Bensinger S., Kugelschafter K., Sobiraj A.: Studies on the reproduction of the European hare (*Lepus europaeus*). *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 23-24.
- Blottner S.: Necessity and difficulties to discriminate between physiological and anthropogenic factors influencing the fertilising capacity. *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 23.
- Blottner S., Hingst O., Meyer H. H. D.: Inverse relationship between testicular proliferation and apoptosis in mammalian seasonal breeders. *Theriogenology* 1995, 44, 320-328.
- Brodowski A. K., Jewgenow K., Blottner S.: Seasonal changes in morphometric parameters of testis in European brown hare. *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 23.
- Chassey D., Duff J. P.: European brown hare syndrome and associated virus particles in the UK. *Vet. Rec.* 1990, 23, 623-624.
- Dubiel A., Króliński J., Karpiak C.: Właściwości nasienia królików wybranych ras. *Medycyna Wet.* 1979, 35, 175-178.
- Dubiel A., Króliński J., Karpiak C.: Właściwości nasienia królików różnych ras w poszczególnych porach roku. *Medycyna Wet.* 1985, 41, 680-684.
- Duff J. P., Chassey D., Munro R., Woolldridge M.: European brown hare syndrome in England. *Vet. Rec.* 1994, 25, 669-673.
- Edwards P. J., Fletcher M. R., Berny P.: Review of the factors affecting the decline of the European brown hare, *Lepus europaeus* (Pallas, 1978) and the use of wildlife incident data to evaluate the significance of paraquat. *Agric. Ecos. Envir.* 2000, 79, 95-103.
- Faßbender M., Broich A., Gilles M., Göritz F., Hildebrandt T. B., Lange A., Quest M., Lengwinat T., Spittler H.: Assessment of reproductive fitness in wild European brown hare (*Lepus europaeus*). *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 23.
- Fruziński B.: Wpływ czynników środowiskowych na liczebność populacji zwierząt łownych. *Mat. Konf.: Choroby i zagrożenia populacyjne zwierząt łownych.* Wrocław 2001, s. 7-19.
- Goszczyński J., Wasilewski M.: Predation of foxes on a hare population in central Poland. *Acta Theriologica* 1992, 37, 329-338.
- Hackländer K., Ruf T.: Litter size and reproductive energetics in female European hares (*Lepus europaeus*). *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 24.
- Huber S., Möstl E., Palme R., Arnold W.: Stress and its impact on fecundity in the European brown hare. *Reprod. Dom. Anim.* 2000, 35, 24.
- Mól H.: Lada rok wymrą nasze zajęce. *Życie Wet.* 2004, 79, 384-287.

Adres autora: dr Roland Kozdrowski, Plac Grunwaldzki 49, 50-366 Wrocław; e-mail: rkozdzowski@wp.pl