

FIZJOLOGIA I PATOLOGIA ROZRODU ORAZ SZTUCZNE UNASIENIANIE

WIEŚLAW KARETA, MACIEJ OSIKOWSKI, STEFAN WIERZBOWSKI

Próba zastosowania sztucznego unasieniania owiec na stacjach oceny tryków

Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Zwierząt
Instytut Zootechniki, Balice k/Krakowa
Kierownik: prof. dr WŁADYSŁAW BIELAŃSKI

Zakład Hodowli Owiec
Kierownik: dr WŁADYSŁAW NAWARA

W Stacjach Oceny Tryków (SOT) prowadzących wycenę hodowlaną tryków na podstawie potomstwa, przyjętą metodą rozplodu jest krycie naturalne. W tym układzie możliwe jest uzyskanie tylko w stacji ograniczonej liczby potomstwa po wycenianym tryku co utrudnia wycenę i ogranicza wykorzystanie cennych tryków w owczarniach macierzystych. Zastosowanie sztucznego unasieniania, pozwalające na wprowadzenie nasienia ocenianych tryków równocześnie do owczarni i stacji, usprawniłoby pracę SOT. Mając ten cel na uwadze podjęto w Instytucie Zootechniki prace nad unasienianiem owiec nasieniem konserwowanym i transportowanym.

Metody

Unasienianie owiec prowadzono w owczarniach należących do Zakładów Doświadczalnych IZ. W 1963 r. inseminowano owce w owczarniach A i B, w 1964 r. w owczarniach B i C, a w 1965 r. w owczarni A. Owczarnia C posiada polską owcę górską, a pozostałe owczarnie owce merynosowe. W owczarniach merynosowych sezon kopulacyjny trwa od 10 czerwca do końca lipca. W owczarni z hodowlą polskiej owcy górskiej sezon rozpoczyna się 15 września i trwa do końca października.

Przewidziano kilka kolejnych etapów rozwiązania stawianych zadań. Konieczność etapowego prowadzenia badań wynikała przede wszystkim z ograniczonej liczby owiec, które mogły być jednorazowo przeznaczone do celów doświadczalnych. Badania zostały rozpoczęte w 1963 r. W 1964 r. wprowadzono nowe elementy nasuwające się w wyniku poprzednich prac. W zasadzie niezmienną pozostała strona pobierania i oceny nasienia.

Przygotowanie tryków, pobieranie i ocena nasienia: Tryki pochodziły z kilku owczarni i były przeważnie w wieku około 1½ roku, a wyjątkowo w owczarni B trzy miały powyżej 3 lat. Przygotowanie przewidziane na 6 tygodni przed rozpoczęciem stanówki obejmowało: a) ujednoczenie żywienia, b) przyuczenie do oddawania nasienia na sztuczną pochwę, c) selekcję pod względem jakości nasienia.

Codziennie pobierano od wszystkich tryków po jednym lub dwa ejakulatory. Czynność tę wykonywano na wolnym powietrzu lub w przylegającym do laboratorium pomieszczeniu. Ocena makro- i mikroskopowa nasienia obejmowała:

- 1) objętość w mililitrach,
- 2) barwa nasienia,
- 3) ruch falowy masy plemników.
- 4) procent plemników o ruchu postępowym,
- 5) pH nasienia,
- 6) koncentracja nasienia w 1 mm³.

Postępowanie z nasieniem. Przed każdym pobieraniem przygotowywano świeży rozcieńczalnik o składzie:

- 2,8 g cytrynianu sodu,
- 0,8 g fruktozy bezwodnej,
- 20 ml żółtka świeżego jaja kurzego,
- 100 ml wody destylowanej.

Rozcieńczalnik przechowywany był w łaźni wodnej o stałej temperaturze 28°. Nasienie rozcieńczano i powtórnie badano pod mikroskopem. Owinięte w ligninę zbiorniki wkładano do statywu. Rozcieńczone ejakulatory przechowywano w temperaturze pokojowej do chwili zakończenia pobierania (½—1 godziny). Nasienie do wysyłki rozlewano w ampułki po 2 ml i korkowano. Ampułki zawinięte ligniną wsuwano do probówki i szczelnie zamykano gumowym korkiem. Do termosu z probówkami i lodem dolewano ok. 50 ml wody i wysyłano. Nasienie przeznaczone do użytku na miejscu przykrywano w zbiorniczkach ligniną i wkładano do lodówki (temp. 2°). Po pobraniu nasienia w każdym ejakulacie obliczano koncentrację plemników przy zastosowaniu wybarwienia plemników wodnym roztworem eozyny (Smith, Mayer, 1955). Stosownie do wyliczonej koncentracji w 1 mm³ nasienie rozcieńczano tak, aby w dawce inseminacyjnej o objętości 0,15 ml mieściła się znana liczba plemników żywych. W kolejnych latach zwiększono liczbę plemników żywych w dawce przechodząc od 10 do 100 milionów. Stosowano transport kolejowy i samochodowy na trasie długości od 100 do 150 km. Ważność konserwowanego nasienia używanego do produkcji wynosiła 24 godziny.

Unasienianie owiec. Maciorki w rui wyszukiwano dwa razy dziennie: rano i wieczorem. Owce inseminowano dwukrotnie podczas jednej rui z przerwą 12 godzin (1964 r. — 24 godziny). Unasienianie obejmowało tylko jedną ruję. Maciorki, które po unasienianiu w następnym cyklu wykazywały ruję, były kryte naturalnie „z ręki”. Unasieniano owce metodą wierzniłkową, doszykowo stosując strzykawki z dawkomierzami. Jako wskaźnik skuteczności unasieniania brano pod uwagę stosunek macioerek unasienionych do wykoczonych i porównywano je z wynikami uzyskanymi przy kryciu naturalnym tymi samymi trykami. Nie brano pod uwagę owiec, które się nie zakoiły, ani drogą sztucznego unasieniania, ani też po kryciu naturalnym, traktując je jako sztuki jałowe.

Wyniki

Stosownie do przyjętego założenia opracowano model unasieniania owiec, który mógłby znaleźć zastosowanie na Stacjach Oceny Tryków. Wyniki unasieniania z kolejnych lat trwania doświadczenia zostały przedstawione w tab. 1.

Ocena przydatności tryków do sztucznego unasieniania była przeprowadzona przed rozpoczęciem sezonu kopulacyjnego. Nie odpowiadające wymogom pod względem właściwości nasienia, wydolności płciowej, czy też wykazujące zmiany chorobowe, zwłaszcza w zakre-

Tab. 1. Wyniki unasiennienia owiec w kolejnych latach trwania doświadczenia

Rok	Owczarnia	Nasienie transport.		Nasienie nietransp.		Krycie naturalne	
		Liczba unasienn.	Wykonecone szt. %	Liczba unasienn.	Wykonecone szt. %	Liczba krytych	Wykonecone szt. %
1963	A	—	—	99	57 57,5	—	—
1963	B	94	31 32,9	—	—	—	—
1964	B	189	54 49,7	—	—	43	39 90,7
1964	C	111	74 66,6	20	14 70,0	46	35 76,1
1965	A	139	80 57,5	—	—	132	101 76,5
Razem		533	279 52,3	119	71 59,6	221	175 79,1

się narządów płciowych tryki nie były dopuszczone do rozplodu. Niezależnie jednak od tego wystąpiła bardzo znaczna rozbieżność w wynikach zakocen po poszczególnych trykach co obrazuje tab. 2.

W 1963 r. przeprowadzona została próba po-

równania przydatności transportu kolejowego i samochodowego. Uzyskane wyniki zostały przedstawione w tab. 3.

Wiek nasienia transportowanego wynosił w chwili inseminowania owcy od 4 do 20 godzin. Dla uchwycenia wpływu czasu przechowywania nasienia na wynik zapłodnień zestawiono ze sobą wyniki unasiennienia owiec nasieniem mającym 4 godziny i nasieniem przechowywanym 17 godzin (tab. 4). Dłużej przechowywanym nasieniem były inseminowane tylko pojedyncze owce.

W ciągu trzech lat trwania doświadczenia stosowano dawki inseminacyjne zawierające od około 10 do 100 milionów plemników. Wyniki zostały przedstawione w tab. 5.

Omówienie

W przedstawionym doświadczeniu uzyskano stopniową poprawę wyników, co wskazuje na opanowanie zagadnień metodycznych. I tak w 1963 r. zakończyło się 32,9% i 57,5% unasiennio-

Tab. 2. Przeciętne właściwości nasienia oraz uzyskane wyniki zakocen po sztucznym unasiennieniu.

Lp	Rok	Owczarnia	Nr tryka	Liczba zbadanych ejakul.	Objętość ejakul. w ml	pH nasienia	Ruch. fal. masy plemników	Ruch ogólny plemników	Ruch postęp. plemników	Koncentracja plemn. x 10 ³	Og. ilość plemników żywych w ejak. x 10 ⁶	Procent zakocen
1	1964	C	1615	23	0,6	6,9	3,9	0,8	0,8	3887	2527	78,9
2	1964	C	637	21	0,7	6,9	3,9	0,9	0,8	4210	2867	76,5
3	1964	C	3081	17	0,7	7,0	3,9	0,8	0,8	2940	1696	75,0
4	1963	A	213	16	0,8	—	3,9	0,9	—	2611	1796	72,2
5	1965	A	3514	18	0,8	7,0	4,0	0,9	0,8	2316	1630	71,4
6	1965	A	3698	18	0,9	7,1	3,9	0,9	0,8	1620	1165	70,6
7	1963	A	264	12	0,9	—	3,9	0,9	—	2255	1804	68,7
8	1964	C	1646	22	0,8	7,0	3,8	0,8	0,8	3494	2213	68,5
9	1964	B	325	19	0,5	7,0	3,2	0,9	0,8	1871	851	65,5
10	1965	A	3605	18	0,7	7,1	4,0	0,9	0,8	1839	1072	64,7
11	1964	B	877	15	0,8	6,8	3,2	0,9	0,8	2693	1623	63,1
12	1965	A	2576	18	0,8	7,0	3,7	0,8	0,7	2034	1389	61,2
13	1965	A	4353	17	0,8	7,0	4,0	0,9	0,8	1810	1154	60,0
14	1964	C	3357	20	0,9	6,9	3,9	0,8	0,8	4354	3130	58,0
15	1963	A	538	8	0,7	—	3,8	0,9	—	2273	1525	52,9
16	1963	A	82	14	0,7	—	3,7	0,9	—	2594	1654	52,9
17	1964	C	0660	25	0,7	6,9	3,8	0,8	0,8	3655	2510	52,6
18	1963	A	3334	9	0,6	—	4,0	0,9	—	1936	1088	47,4
19	1964	B	2376	19	0,5	7,1	1,5	0,8	0,7	1107	425	46,4
20	1965	A	5234	18	0,7	6,9	3,9	0,9	0,8	2106	1161	45,8
21	1963	A	165	13	0,8	—	3,8	0,9	—	2258	1443	44,4
22	1965	A	3070	18	0,6	7,2	3,4	0,9	0,8	1073	523	41,7
23	1964	B	1218	21	0,7	6,9	2,6	0,9	0,8	1750	1167	40,9
24	1965	A	3413	16	0,7	7,0	4,0	0,9	0,8	1963	1165	33,4
25	1964	B	1242	18	0,4	7,1	2,2	0,8	0,7	1033	449	4,7

Tab. 3. Procent zapłodnień w zależności od rodzaju transportu nasienia

Sposób przechowania nasienia	Rodzaj transportu	Ilość szt. unasienionych	Wykonanych szt. %
0 do 2°C lodówka	nie stosowano	99	57 57,5
0 do 2°C termos	samochodowy	47	16 33,3
0 do 2°C termos	kolejowy	48	13 27,0

Tab. 4. Wpływ czasu przechowywania nasienia na wynik zapłodnień (transport samochodowy)

Nr tryka	Nasienie przechowywane 4 godz.			Nasienie przechowywane 17 godz.		
	Ogółem sztuk	Wykocone sztuk	%	Ogółem sztuk	Wykocone sztuk	%
325	36	22	61,1	18	12	66,6
877	15	8	53,3	18	12	66,6
2376	18	8	44,4	6	4	66,6
1218	20	6	30,0	15	5	33,3
1242	11	0	0	7	0	0
Razem	100	44	44,0	64	33	51,5

Tab. 5. Procent zapłodnień w zależności od liczby plemników żywych w dawce inseminacyjnej

Rok	Owczarnia	Dawki plemników w milionach											
		do 30 mil			do 60 mil			do 90 mil			powyżej 90 mil		
		ins.	wyk.	%	ins.	wyk.	%	ins.	wyk.	%	ins.	wyk.	%
1963	A	2	2	100	46	17	37,0	42	23	53,2	5	5	100
1963	B	—	—	—	51	16	31,3	32	14	43,7	—	—	—
1964	B	—	—	—	—	—	—	93	32	34,4	96	62	67,4
1964	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	111	74	66,6
1965	A	14	6	42,8	95	55	57,9	30	20	66,7	—	—	—
Razem		16	8	50,0	192	88	45,8	197	89	45,2	212	141	66,5

nych owiec, w 1964 r. 49,7% i 66,6%, a w 1965 r. — 57,5%. W wyniku krycia naturalnego zakończyło się po tych samych trykach w 1964 r. — 90,7% i 76,1% oraz w 1965 r. 76,5%.

Występujące znaczne różnice należy niewątpliwie przypisać przede wszystkim niedostatecznemu jeszcze opanowaniu metod konserwacji nasienia tryków.

Kulinicz i Malinowski (1964) w doświadczeniu nad konserwacją i transportem nasienia tryków uzyskali 44,2% zapłodnień (73,3% przy kryciu naturalnym). W doświadczeniu Malikowa (cyt. za Łoginową i Łopyrinem, 1965) procent wykotów leżał w granicach od 50 do 76, a w pewnych wypadkach obniżał się do 35. Radomska i Trzópek (1964) w przeprowadzonej próbie konserwacji i transportu nasienia uzyskały 45,8% zakoceń. Nasienie w tym doświadczeniu było schłodzone do temperatury 0 do 5°C i przechowywane w ciągu 24—72 godzin. Jak

wynika z powyższego przeglądu uzyskane w naszym doświadczeniu wyniki nie odbiegają od uzyskanych przez innych autorów. Dodatkowe trudności w ocenie wyników sprawia praktykowany sposób dokrywania owiec unasienionych „wolno kryjącymi” trykami. Łoginowa i Łopyrin (1965) prostują często podawane w oficjalnych sprawozdaniach wyniki unasieniania owiec konserwowanym nasieniem. Informują, że podawane wyniki leżące w granicach 92—95% nie dotyczą procentu owiec zapłodnionych w pierwszej rui, a maciorek zakończonych w ciągu całego sezonu kopulacyjnego obejmującego również wolne dokrywanie.

Wśród tryków użytych do inseminacji wystąpiły bardzo znaczne indywidualne różnice w uzyskiwanych wynikach. Wahania w liczbie zakończonych owiec wynoszą od 4,7 do 78,9% (tab. 2). Jak wynika z przytoczonego zestawienia, opieranie się na podstawowej wycenie nasienia, jaką jest ocena ruchu i szacunkowej liczby plemników żywych, stwarza tylko ograniczone możliwości wnioskowania o przydatności nasienia tryka do inseminacji.

W 1964 r. na 10 wytypowanych w jednej owczarni tryków, dopuszczono do sztucznego unasieniania tylko pięć. Jednym ze wskaźników, dalece odbiegającym od normy, był wysoko zasadowy odczyn nasienia, wynoszący średnio 7,5. W efekcie krycia naturalnego tymi trykami zakończyło się 11 maciorek na 40 pokrytych (28%). W wyniku badania bakteriologicznego stwierdzono obecność prątka gruźlicy w nasieniu jednego tryka.

Definitywnie wydaje się być rozstrzygnięta sprawa transportu. Wyraźnie niższe wyniki uzyskane po transporcie kolejowym oraz związane z tym rodzajem transportu trudności natury technicznej przesądziły zdecydowanie na rzecz transportu samochodowego.

Przydatność nasienia konserwowanego sprawdzono w granicach 17 godzin przechowywania, nie stwierdzając obniżenia liczby zakończonych owiec w stosunku do nasienia przechowywanego przez 4 godziny.

W toku prowadzonego doświadczenia zwiększono liczbę plemników zawartych w dawce inseminacyjnej, dochodząc do około 100 milionów. Wydaje się, że wysoką dawkę plemników można uważać za jeden z czynników wpływających na polepszenie wyników. Inni autorzy zalecają stosowanie dawek zawierających 90—100 milionów plemników (Astian 1961, Bielakow i wsp. 1964 i inni). Według danych Kuźniecowa i Kuprianowej (1961) obniżenie dawki plemników z 100 do 50 milionów pociągnęło za sobą spadek liczby zakończonych owiec, dochodzący do 14%.

Podjęta w 1964 r. próba przechowywania nasienia w temperaturze pokojowej została przeprowadzona na niewielkim materiale. Uzyska-

ne wyniki sugerują, że przy krótkotrwałym przechowywaniu nasienia w temp. pokojowej, można uzyskać rezultaty lepsze, niż przy przechowywaniu w niższej temperaturze. *Iwachnienko* i *Rak* (1964), *Kozakow* (cyt. za *Iwachnienko*) inseminując owce nasieniem przechowywanym do 2 godzin w temperaturze pokojowej uzyskali 74% zapłodnień.

Inseminacja owiec nasieniem konserwowanym i transportowanym, mimo że jest stosowana już od wielu lat, pozostaje nierozwiązana w zastosowaniu praktycznym. Znaczna rozbieżność wyników uzyskiwanych przy użyciu nasienia konserwowanego wskazuje, że istnieją niewątpliwie trudności metodyczne, które jeszcze nie zostały opanowane.

Wnioski

1. Wyniki sztucznego unasieniania owiec nasieniem konserwowanym i transportowanym są niższe niż przy kryciu naturalnym. Uzyskano około 55% maciorek kotnych po unasienianiu w pierwszej rui.

2. Zastosowanie sztucznego unasieniania do wyceny tryków jest organizacyjnie i technicz-

nie możliwe, wymaga jednak prowadzenia dalszych badań, przede wszystkim nad metodami konserwacji nasienia.

Piśmiennictwo

1. *Aslanian M. M.*: Informacje ustne, Askania Nowa, 1961.
2. *Bieliakow S. P. i współautorzy*: Opłodoworajemost owiec osiemnienych razbawlenym semieniem pri temperaturie chranienija plus 2—18°C. Owcewodstwo 11, 18—20, 1964.
3. *Iwachnienko W. K., Rak Ł. P.*: O srokach chranienija semieni barana pri komnatnoj temperaturie. Owcewodstwo 8, 11—13, 1964.
4. *Kozakow*: Cyt. za *Iwachnienko*, 1964.
5. *Kulmicz I., Malinowski P.*: Opłodoworajemost, płodowitojemost i kaczestwo potomstwa pri raznych sposobach osiemnienia. Owcewodstwo 5, 16—17, 1964.
6. *Kuźniecowa M. P., Kuprianowa Ł. P.*: Naucznyje osnovy dozirowanija semieni barana pri iskusztwiennom osiemnienii owiec. Owcewodstwo 9, 24—27, 1961.
7. *Łoginowa N. W., Łopyrin A. J.*: Sowierszestwowanije semieni barana pri chranienija semieni baranow i miery po powyszeniju opłodoworajemosti owiec. Żiwotnowodstwo 4, 67—70, 1965.
8. *Malikow*: Cyt. za *Łoginową i Łopyrinem*, 1965.
9. *Radomska M. J., Trzópek J.*: Próba unasieniania owiec nasieniem konserwowanym. Przeg. Hod. 6, 42—43, 1964.
10. *Salamon S., Robinson T. J.*: The Effect of Semen Diluents and of Storage on Lambing Performance. Proceedings of a Conference on Artificial Breeding of Sheep in Australia. 134—137, 1961.
11. *Smith J. T., Mayer D. T.*: Evaluation of sperm concentration by the haemacytometer method. Fert. a. steril. 6, 271—275, 1955.

Adres autora: Wiesław Karetka, Balice k/Krakowa, Zakład Doświadczalny Instytutu Zootechniki.

STEFAN WIERZBOWSKI, JERZY BRANNY, WŁADYSŁAW BIELAŃSKI

Technologia przygotowywania nasienia buhaja do konserwacji w niskich temperaturach. III. Unasienianie krów nasieniem konserwowanym w płynnym azocie

Instytut Zootechniki, Zakład Fizjologii Rozrodu i Sztucznego Unasieniania Zwierząt, Balice k/Krakowa
Kierownik: prof. dr WŁADYSŁAW BIELAŃSKI

Od czasu zastosowania w praktyce sztucznego unasieniania bydła, nasienia zamrażanego do niskich temperatur przez *Polge'a* i *Rowsona* w 1952 r. obserwuje się stały wzrost zainteresowania tą metodą. W początkowym okresie dla uzyskania niskich temperatur posługiwano się zestalonym dwutlenkiem węgla. W latach 1955—1956 zaczęto wprowadzać skroplone gazy, najpierw powietrze, a potem tlen i azot. Ostatecznie, szerokie zastosowanie znalazł płynny azot. Łatwość zaopatrywania się w płynny azot w krajach wysoko uprzemysłowionych, oraz możliwość nabycia wysoko wydajnych urządzeń, służących do przechowywania nasienia w płynnym azocie (kontenery produkcji firm Linde czy Minnesota Valley Engr.) złożyło się na coraz szersze wprowadzanie nasienia mrożonego do praktyki sztucznego unasieniania. W Stanach Zjednoczonych, Kanadzie i Australii obecnie jest już więcej krów unasienianych nasieniem mrożonym niż płynnym. Również i w licznych krajach Europy metoda ta znajduje zastosowanie w coraz szerszym zakresie. I tak:

na Węgrzech w 1964 unasieniono ok. 80.000 szt. (*Sajo* 1965)

w Anglii w 1963 r. unasieniono ok. 26.300 szt. (*M.M.B.* 1964)

w Norwegii w 1964 r. unasieniono ok. 25.000 szt. (*Buskap og Avdratt* 1965)

w NRD w 1964 r. unasieniono ok. 20.000 szt. (*Hermann* 1965)

Największy wzrost liczby unasienionych krów nasieniem mrożonym notuje się we Francji, gdzie w 1964 r. unasieniono już nasieniem mrożonym 599.756 sztuk (*Mignon* 1965). Brak danych za ostatni rok ze Związku Radzieckiego, aczkolwiek wiadomo, że metodę tę zaczęto wprowadzać tam do praktyki już około 1960 r.

Poza tym została podjęta międzynarodowa wymiana nasienia, specjalnie z krajów o wysokim poziomie hodowli (Anglia, Holandia) do krajów o niekorzystnym klimacie dla importowanego bydła europejskiego. Dla przykładu podajemy, że z Anglii w 1963—1964 r. (MMB) eksportowano nasienie buhajów do 14 krajów, położonych głównie w Afryce, Azji i Ameryce Południowej.

Potrzeby hodowli krajowej oraz dogodnie ukształtowanie się w niektórych okolicach naszego kraju możliwości nabywania płynnego azotu, uzasadniły celowość podjęcia prób