

MALGORZATA NYTKO

## Wpływ procesu konserwacji nasienia, ciśnienia osmotycznego oraz stężenia jonów wodorowych (pH) na szybkość ruchu plemników ogiera

Instytut Stosowanej Fizjologii Zwierząt AR, Al. Mickiewicza 24/28, 30-059 Kraków

Szybkość i rodzaj ruchu plemników zależy m. in. od: temperatury, ciśnienia osmotycznego, pH, stopnia utlenienia, aktywności enzymatycznej oraz czasu i sposobu przechowywania nasienia (6, 9). Rutynowe metody oceny nasienia opierają się na subiektywnym badaniu ruchliwości plemników, jakim jest szacunkowa ocena nasienia. Wprowadzenie metody spermatokinezografii do tych badań pozwala na bardziej precyzyjną ocenę szybkości i rodzaju ruchu plemników, a zatem i lepszą ocenę płodności samca oraz wpływu czynników środowiska na tę szybkość. Dotychczas przeprowadzono tylko sporadyczne obserwacje szybkości ruchu plemników ogiera oraz wpływu niektórych czynników, od których ten ruch zależy (cyt. 5, 8).

Celem niniejszych badań była ocena szybkości i rodzaju ruchu plemników ogiera w zależności od procesu konserwacji nasienia, ciśnienia osmotycznego i pH środowiska.

### Materiał i metody

Badania przeprowadzono w trzech etapach.

W pierwszym etapie określono wpływ procesu konserwacji nasienia w ciekłym azocie na szybkość ruchu plemników. Badania przeprowadzono na nasieniu 8 ogierów, w wieku 4-9 lat, po 2 ogiery każdej z następujących ras: śląska, anglo-arab, murinsulan, konik polski. Nasienie po pobraniu poddawano ocenie szacunkowej makro- i mikroskopowej, a następnie rozrzedzano rozrzedzalnikami wg Naumienkova i Romankowej (7). Rozrzedzone nasienie schładzano w lodówce o temp. +2 do +4°C przez okres 2,5 godz. Następnie zamrażano je w tubach aluminiowych wg metody podanej przez Bielańskiego i Tischnera (2). Próbkę do badania pobrane z nasienia świeżego, zaraz po rozrzedzeniu, po ekwilibracji oraz po rozmrożeniu rozrzedzano w zależności od koncentracji plemników w 6% roztworze glukozy o pH 7,0 w stosunku 1:500 lub 1:800 i fotografowano.

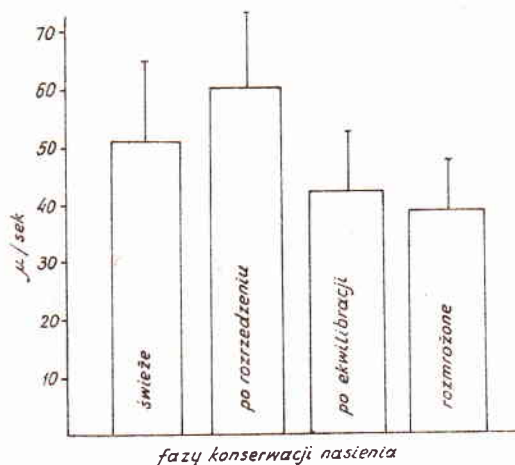
W drugim etapie badano wpływ ciśnienia osmotycznego na szybkość i rodzaj ruchu plemników. Obserwacje przeprowadzono na nasieniu 5 ogierów w wieku 6—8 lat, rasy konik polski-3, angloarab-2. Do badań przygotowano 13 roztworów glukozy o stężeniu wzrastającym co 0,5% od 2 do 8%, których ciśnienie osmotyczne wzrastało o 112 do 478 mOsm przy stałym pH od 6,9 do 7,0. Pomiar ciśnienia osmotycznego wykonano przy użyciu aparatu Halbmikro-Osmometr (produkcji Knauer and Co., RFN), natomiast pH zmierzono pH-metrem typu N-512 (produkcji Mera-Elmat). Próbkę nasienia pobierane z ejakulatów rozcieńczano kolejno we wszystkich roztworach w stosunku 1:500, i 1:800 i fotografowano.

W trzecim etapie pracy badano wpływ pH środowiska na szybkość i rodzaj ruchu plemników. Do ba-

dań użyto nasienie 4 ogierów w wieku 7—8 lat, rasy konik polski-2, anglo-arab-2. Próbkę pobrane z nasienia tych ogierów rozrzedzano w roztworach (buforowych) o pH wzrastającym od 5,5 do 8,0 przy czym ciśnienie osmotyczne roztworów regulowane zawartością glukozy wynosiło od 320 do 330 mOsm (pomiar wykonano na aparaturze podanej w poprzednim etapie). Roztwory buforowe (fosforanowe) przygotowano wg Sørensen (10). Próbkę pobrane z nasienia rozrzedzano kolejno we wszystkich buforach w stosunku 1:500, 1:800 i fotografowano.

We wszystkich trzech etapach nasienie ogierów było pobierane w okresie jesienno-zimowym, w miesiącach od listopada do stycznia, przeciętnie 1 do 3 ejakulatów w ciągu tygodnia. Wszystkie badane konie pod względem płodności nie wykazywały żadnych odchyśleń od normy. Nasienie pobierano przy użyciu sztucznej pochwy typu otwartego. Do badań używano tylko frakcję nasienia bogatą w plemniki zawierającą pierwsze 2—3 wyrzuty. We wszystkich etapach poruszające się plemniki fotografowano wg metody spermatokinezografii Czakarowa, Maczewa i Andrejewa (3) w modyfikacji Plewińskiej-Wierzbowskiej (8). Do zdjęć używano: mikroskopu firmy Zeiss (typ LgOg) z przesłoną do ciemnego pola umieszczoną pod kondensorem, lampą mikroskopową i stolik podgrzewczy o temp. +38°C, na którym umieszczano hemocytometr Bürkera z próbką nasienia. Aparat fotograficzny łączono z mikroskopem za pomocą nasadki fotograficznej. Czas naświetlania (ekspozycji) we wszystkich etapach wynosił 4 sekundy. Zarejestrowane ślady plemników na taśmie filmowej mierzono przy pomocy krzywki pod powiększalnikiem obliczając długość drogi przebytej przez plemniki. Prędkość plemników wyliczano wg wzoru  $V = \frac{s}{t}$ , gdzie; V — prędkość, s

— droga, t — czas naświetlania. Otrzymane wyniki poddano prostej analizie wariancji, a otrzymane średnie testowi Duncana w wyniku czego wyłoniono istotności różnic pomiędzy poszczególnymi ogierami oraz roztworami, w których rozrzedzano nasienie.

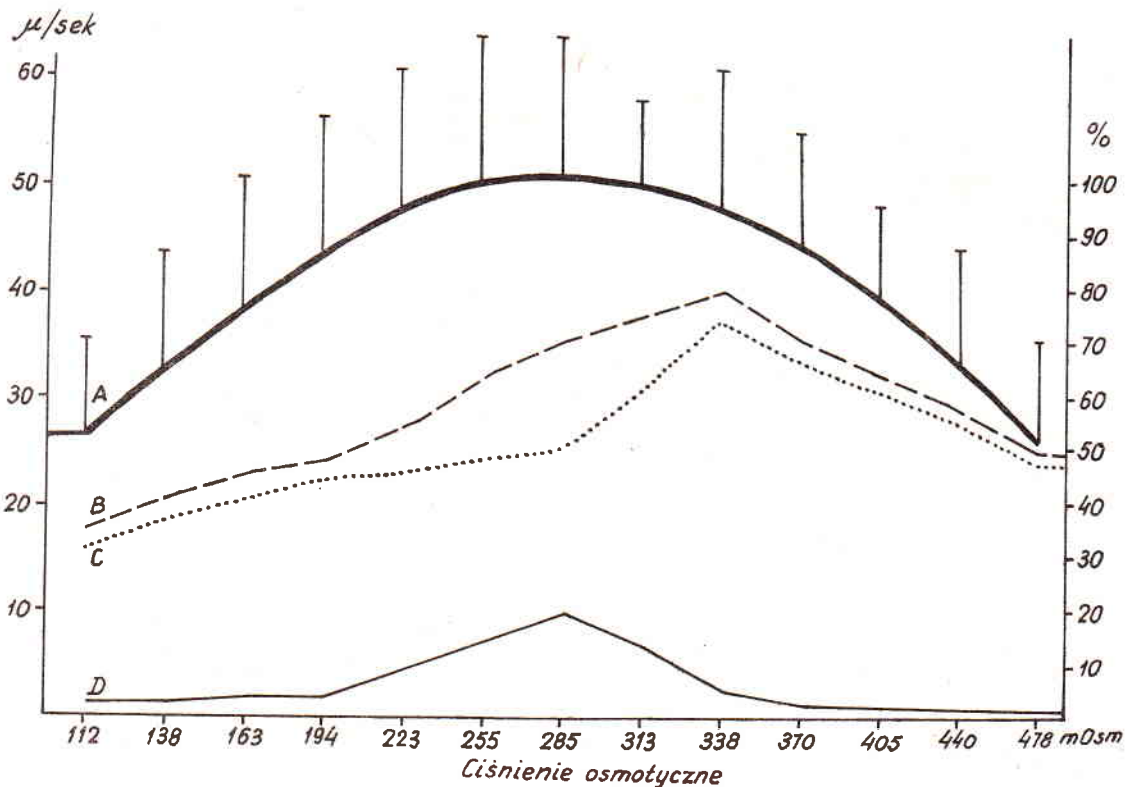


Ryc. 1. Wpływ konserwacji nasienia w ciekłym azocie na prędkość plemników

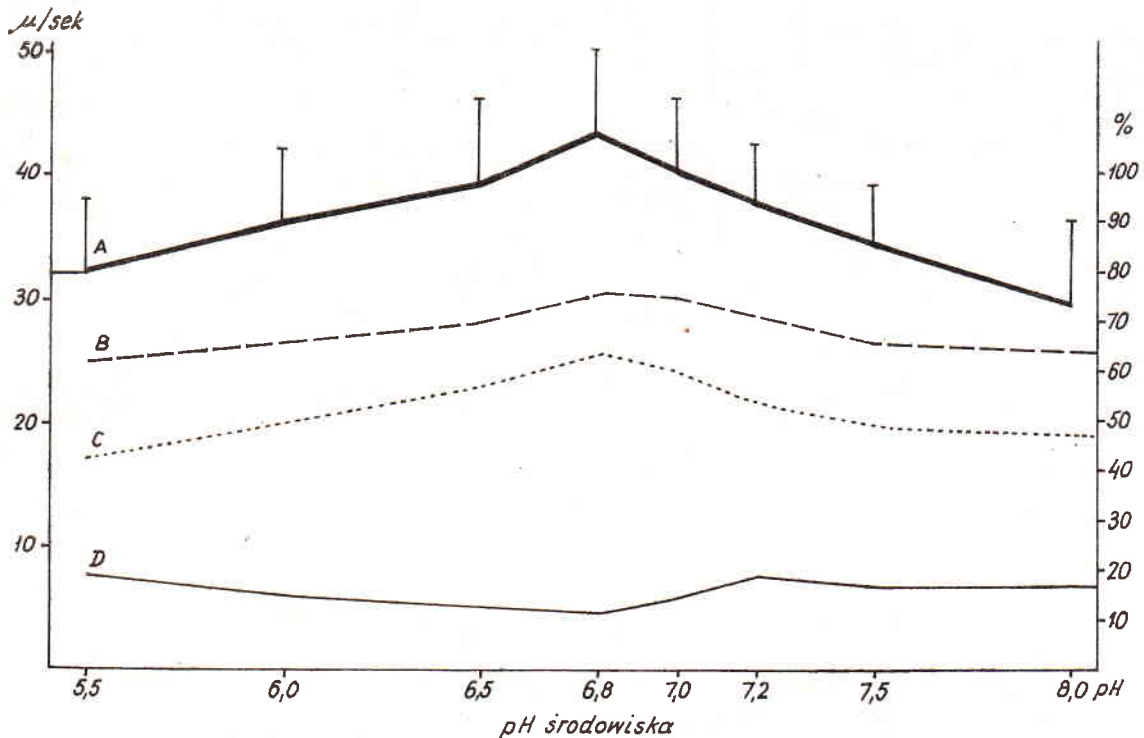
## Wyniki i omówienie

W pierwszym etapie pracy wykonano ogółem 8773 pomiary ruchu plemników pochodzących z 30 ejakulatów zamrażanych w ciekłym azocie otrzymanych od 8 ogierów. Okazało się, że plemniki w nasieniu świeżym poruszające się prawidłowo posiadają prędkość  $51 \mu/\text{sek.}$ , z wahaniami od  $37$  do  $66 \mu/\text{sek.}$  (ryc. 4). Średnia prędkość plemników badana w nasieniu zaraz po rozrzedzeniu rozrzedzalnikiem wg Naumienkova i Romankowej (7) wynosiła  $60 \mu/\text{sek.}$ , natomiast po okresie ekwilibracji prędkość ta malała do  $42 \mu/\text{sek.}$  Po rozmrożeniu nasienia szybkość plemników zmniejszała się jeszcze bardziej i wynosiła około  $31 \mu/\text{sek.}$ , z wahaniami od  $20$  do  $50 \mu/\text{sek.}$  (ryc. 1). Różnice te okazały się statystycznie istotne ( $p < 0,01$ ) zarówno pomiędzy poszczególnymi fazami mrożenia, jak również pomiędzy ogierami, a nawet stwierdzono różnice istotne ( $p < 0,05$ ) pomiędzy ejakulatami tego samego ogiera. We wszystkich obserwacjach powtarzała się cecha przyspieszenia ruchu plemników po rozrzedzeniu nasienia oraz duży spadek prędkości po schłodzeniu przez 2,5 godz. i kolejny spadek po rozmrożeniu. Zanotowano także dość duże odchylenia standardowe od średnich prędkości w poszczególnych fazach mrożenia w granicach od  $\pm 10$  do  $\pm 14 \mu/\text{sek.}$

W drugim etapie pracy wykonano ogółem 9750 pomiarów szybkości ruchu plemników, które uzyskano z 15 ejakulatów od 5 ogierów. Na podstawie uzyskanych wyników okazało się, że plemniki najszybciej tj.  $50 \mu/\text{sek.}$  poruszają się w roztworach  $4,5$ — $5,0\%$  glukozy o ciśnieniu osmotycznym od  $255$  do  $285 \text{ mOsm}$ . Jednak w tych roztworach spotykano najwięcej ( $15$ — $20\%$ ) plemników o ruchu nieprawidłowym, spiralnym lub krążącym (ryc. 5), a ogólna ilość plemników ruchliwych wynosiła tylko  $67\%$ . W roztworach o ciśnieniu osmotycznym  $313$  do  $338 \text{ mOsm}$  zanotowano nieco niższą prędkość  $48 \mu/\text{sek.}$ , ale ze znacznie mniejszą ilością ( $5\%$ ) plemników poruszających się ruchem nieprawidłowym, a zawartość plemników ruchliwych (żywych) utrzymywała się na najwyższym poziomie i wynosiła  $80\%$  (ryc. 4). W roztworach o ciśnieniu osmotycznym malejącym od  $255$  do  $112 \text{ mOsm}$  i wzrastającym od  $338$  do  $478 \text{ mOsm}$  średnia prędkość plemników znacznie malała aż do  $26 \mu/\text{sek.}$ , z równoczesnym spadkiem procentu plemników żywych (ryc. 6), (ryc. 2). W przypadkach gdy średnia prędkość plemników w badanych roztworach różniła się co najmniej o  $2 \mu/\text{sek.}$  zanotowano różnice statystycznie istotne ( $p < 0,01$ ). Dla wszystkich roztworów stwierdzono dość duże odchylenia standardowe od średnich prędkości wynoszące od  $\pm 9$  do  $\pm 14 \mu/\text{sek.}$



Ryc. 2. Wpływ ciśnienia osmotycznego na szybkość i rodzaj ruchu plemników  
 objaśnienia: A — szybkość ruchu plemników w  $\mu/\text{sek.}$ , B — % plemników ogólnie ruchliwych, C — % plemników poruszających się prawidłowo, D — % plemników poruszających się nieprawidłowo.



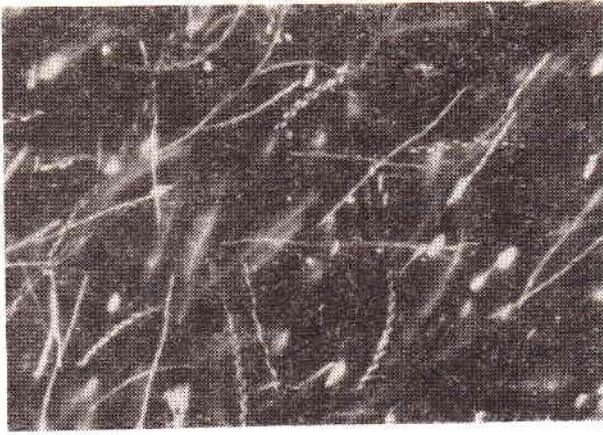
Ryc. 3. Wpływ pH środowiska na szybkość i rodzaj ruchu plemników

Objaśnienia: — jak do ryc. 2.

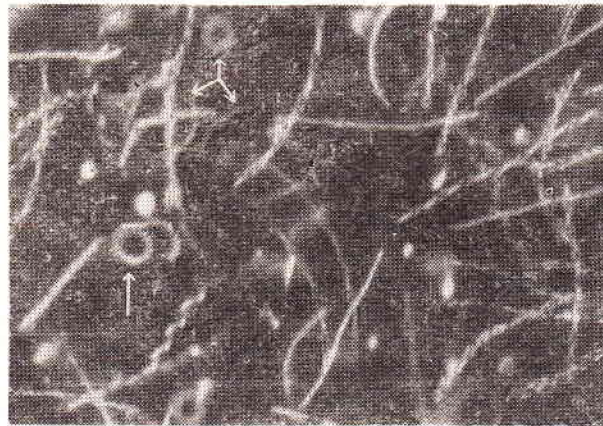
W trzecim etapie wykonano 4800 pomiarów plemników z 15 ejakulatów otrzymanych od 4 ogierów. Na podstawie otrzymanych danych okazało się, że plemniki najszybciej tj.  $43 \mu/\text{sek}$ . poruszały się w roztworze o pH 6,8. W tym wypadku zanotowano także najwyższą ilość 63% plemników poruszających się prawidłowo oraz najwięcej 76% plemników ogólnie ruchliwych. Natomiast w roztworach o pH wzrastającym od 6,8 do 8,0 oraz malejącym od 6,8 do 5,5 szybkość plemników malała do  $29 \mu/\text{sek}$ . w pierwszym wypadku i do  $32 \mu/\text{sek}$ . w drugim. Równocześnie wzrastał procent plemników poruszających się nieprawidłowo aż do 19 i zaznaczał się spadek ilości plemników żywych do 64% (ryc. 3). Zauważono także w roztworze o pH 5,5 dość znaczną aglutynację plemników (ryc. 7). Na podstawie przeprowadzonej analizy statystycznej wyników otrzymanych w tym etapie okazało się, że różnice w prędkości plemników między badanymi roztworami były istotne ( $p < 0,01$ ). Natomiast odchylenia standardowe zanotowane w tym etapie okazały się stosunkowo niewielkie od  $\pm 5$  do  $\pm 7 \mu/\text{sek}$ ., co świadczy o silnym oddziaływaniu pH środowiska na ruchliwość plemników.

Zastosowana w niniejszej pracy metoda pomiaru szybkości ruchu plemników wg Czakarowa i wsp. (3) jest stosunkowo prostą metodą, pozwalającą ocenić nie tylko prędkość poruszania się plemników, ale także rodzaj tego ruchu. Przy jej pomocy można określić dość dokładnie procent plemników żywych, poruszających się prawidłowo tj. ruchem prostoliniowym lub po dużym łuku, lub procent poruszających się nieprawidłowo czyli spiralnie i ruchem krążącym. W niniejszej pracy zdjęcia poruszających się plemników robiono na hemocytometrze Bürkera, gdzie plemniki mogą poruszać się stosunkowo swobodnie w przestrzeni  $100 \mu$  ograniczonej powierzchnią szkiełka nakrywkowego i samego hemocytometru. Przeprowadzone próby wykazały, że optymalnym środowiskiem dla nasienia ogiera jest takie, którego ciśnienie osmotyczne wynosi około  $338 \text{ mOsm}$ , a pH 6,8. Takie ciśnienie jest nieco wyższe od ciśnienia osmotycznego nasienia, które zawiera się w granicach 300 do  $320 \text{ mOsm}$ , natomiast jest znacznie niższe od ciśnienia osmotycznego rozrzedzalnika wg Naumienkowa i Romankowej (7), które wynosi ponad  $800 \text{ mOsm}$ . Gonzales i wsp. (4) uważają, że nasienie ogiera najlepiej porusza się w roztworze o ciśnieniu osmotycznym od 300 do  $400 \text{ mOsm}$ , zawierającym 2,7% laktozy, 4,8% rafinozy oraz 10% mleka. Także pH rozrzedzalnika do mrożenia okazało się znacznie niższe od optymalnego uzyskanego w tej pracy, bo wynosiło 5,2 do 5,5. Nasienie ogiera jest przeważnie słabo alkaliczne i jego pH waha się w granicach 7,07 do 8,0 wg Bielańskiego (1). Gotze uważa za normalne pH 7,0 do 7,4, jednak jego zdaniem w przypadku nasienia ogiera waha się ono od 6,7 do 7,8. Emmens stwierdza, że plemniki królika w roztworach o pH 5,8 do 6,6 są wrażliwsze na hipertonię, natomiast w środowisku alkalicznym ich zastosowanie jest przeciwnie. Większość badaczy nasienia, między innymi Yamane, Gell-

linijnym lub po dużym łuku, lub procent poruszających się nieprawidłowo czyli spiralnie i ruchem krążącym. W niniejszej pracy zdjęcia poruszających się plemników robiono na hemocytometrze Bürkera, gdzie plemniki mogą poruszać się stosunkowo swobodnie w przestrzeni  $100 \mu$  ograniczonej powierzchnią szkiełka nakrywkowego i samego hemocytometru. Przeprowadzone próby wykazały, że optymalnym środowiskiem dla nasienia ogiera jest takie, którego ciśnienie osmotyczne wynosi około  $338 \text{ mOsm}$ , a pH 6,8. Takie ciśnienie jest nieco wyższe od ciśnienia osmotycznego nasienia, które zawiera się w granicach 300 do  $320 \text{ mOsm}$ , natomiast jest znacznie niższe od ciśnienia osmotycznego rozrzedzalnika wg Naumienkowa i Romankowej (7), które wynosi ponad  $800 \text{ mOsm}$ . Gonzales i wsp. (4) uważają, że nasienie ogiera najlepiej porusza się w roztworze o ciśnieniu osmotycznym od 300 do  $400 \text{ mOsm}$ , zawierającym 2,7% laktozy, 4,8% rafinozy oraz 10% mleka. Także pH rozrzedzalnika do mrożenia okazało się znacznie niższe od optymalnego uzyskanego w tej pracy, bo wynosiło 5,2 do 5,5. Nasienie ogiera jest przeważnie słabo alkaliczne i jego pH waha się w granicach 7,07 do 8,0 wg Bielańskiego (1). Gotze uważa za normalne pH 7,0 do 7,4, jednak jego zdaniem w przypadku nasienia ogiera waha się ono od 6,7 do 7,8. Emmens stwierdza, że plemniki królika w roztworach o pH 5,8 do 6,6 są wrażliwsze na hipertonię, natomiast w środowisku alkalicznym ich zastosowanie jest przeciwnie. Większość badaczy nasienia, między innymi Yamane, Gell-



Ryc. 4. Ślady plemników poruszających się w sposób prawidłowy w 6% roztworze glukozy o ciśnieniu osmotycznym 338 mOsm i pH 6,9



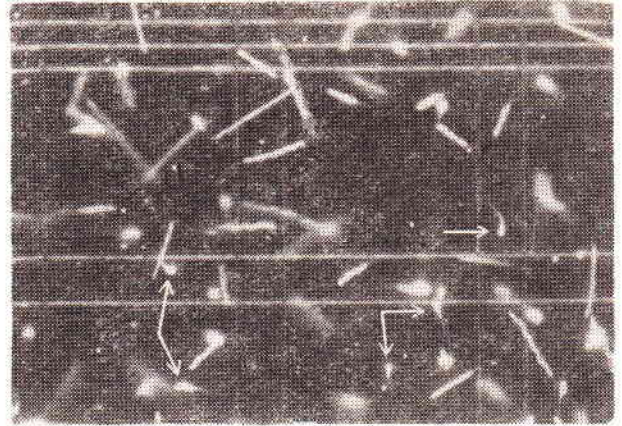
Ryc. 5. Zarejestrowany ruch plemników poruszających się w hipotonicznym roztworze glukozy (o ciśnieniu osmotycznym 255—285 mOsm i pH 6,9). Na rycinie oznaczono strzałkami plemniki o ruchu okrężnym

horn czy Miłowanow przyjmuje w zasadzie, że plemniki można o wiele łatwiej unieruchomić za pomocą roztworów hipotonicznych niż hipertonicznych (cyt. 5). Stężenie jonów wodorowych w środowisku jest jednym z najważniejszych czynników wpływających na ruchliwość, żywotność i metabolizm plemników wszystkich gatunków począwszy od jeźwoców aż do człowieka (5). Przy przechowywaniu nasienia *in vitro* skład oraz parametry środowiska, w jakim się ono znajduje są zasadniczymi czynnikami decydującym o zachowaniu żywotności plemników, ich szybkości i prawidłowości ruchu.

### Wnioski

1. Proces zamrażania i rozmrażania nasienia powoduje spadek szybkości ruchu plemników.

2. W czasie procesu zamrażania, schładzanie rozrzedzonego nasienia (ekwilibracja) przez 2,5 godz. do temp. +4°C wywiera największy wpływ na spadek szybkości ruchu plemników.



Ryc. 6. Ruch plemników w skrajnych roztworach hipo i hipertonicznych (o ciśnieniu osmotycznym hipotonicznym 112 mOsm i hipertonicznym 478 mOsm). W roztworach tych pojawia się zwiększona liczba plemników martwych oznaczonych na rycinie strzałkami



Ryc. 7. Ruch plemników w kwaśnym środowisku o pH 5,5 przy izotonicznym ciśnieniu osmotycznym 320 mOsm. W kwaśnych roztworach pojawia się tendencja do aglutynacji plemników, która oznaczona jest na rycinie strzałkami

3. Środowisko o ciśnieniu osmotycznym około 338 mOsm i pH 6,8 jest optymalne dla nasienia ogiera.

### Piśmiennictwo

1. Bielański W.: Rozród zwierząt. PWRiL, 1977.
2. Bielański W., Tischner M.: Technika sztucznego unasienniania koni nasieniem płynnym i zamrożonym. Zak. Inform. Zootech., IZ, 1979.
3. Czakarow E. L., Maczew T. K., Andrejew T. J.: C. r. Acad. bulg. Sci., 11, 331, 1958.
4. Gonzalez N., Pedrosa R., Cabrera L.: Rev. Cub. Reprod. Anim., 3, 9, 1977.
5. Mann T.: Biochemia nasienia. PWRiL, 1958.
6. Müller E.: Dt. tierärztl. Wschr., 83, 393, 1976.
7. Naumienkow A., Romankowa N.: Koniewodstwo 5, 33, 1970.
8. Plewińska-Wierzbowska D.: Acta agr. silvest., Ser. zoot. IX, 1, 1, 1969.
9. Tischner M.: J. Reprod. Fert., Suppl. 27, 53, 1979.
10. Zawistowski S.: Technika histologiczna, histologia oraz podstawy histopatologii. PZWL, 1965.

Adres autora: mgr inż. Małgorzata Nytko, ul. Bolesława Prusa 23/10, 30-117 Kraków

Ныtko M. — Влияние процесса консервирования семени, осмотического давления и концентрации водородных ионов (pH) на скорость движения живчиков жеребца.

Цель работы состояла в оценке скорости и вида движения живчиков жеребца в зависимости от процесса консервирования семени в жидком азоте, осмотического давления и pH среды. Для исследований было применено семя, полученное от жеребцов различных пород возрастом 4—9 лет. Показано, что процесс замораживания и размораживания семени жеребца вызывает значительное понижение скорости движения живчиков по отношению к их начальной скорости в свежем семени. Наибольшее понижение скорости живчиков вызывает охлаждение разрезанного семени в течение 2,5 часа до темп. +4°C. Оптимальной средой для семени жеребца является такая, осмотическое давление которой составляет 338 мОсм и pH 6,8. В такой среде наблюдается правильное движение живчиков (прямолинейное или по большой дуге) и наименьшее число мертвых живчиков. К крайних же растворах с осмотическим давлением 112 и 478 мОсм и pH 5,5 и 8,0 скорость живчиков значительно уменьшалась с одновременным ростом количества неправильно движущихся и мертвых живчиков.

Nytko M. — The influence of a semen conservation process, osmotic pressure and hydrogen ions concentration (pH) on movement of spermatozoons in a sire.

The purpose of the studies was appraisal of speed and kind of movement of spermatozoons in sires in relation to semen conservation process in a liquid nitrogen, osmotic pressure and pH. Semen from sires of various breedings at the age of 4—9 years was examined. It was found that, freezing and thawing caused a considerable reduction of spermatozoons in comparison to this value in a fresh semen. The highest reduction of spermatozoons movement caused cooling of a diluted semen from 2.5 hr up to +4°C. The optimal for sire semen is environment of osmotic pressure of 338 mOsm and pH 6.8. In this environment one can observe a normal movement of spermatozoons (straightlined or on a curve), and the lowest number of dead spermatozoons. In solutions of an extreme pressure 112 and 478 mOsm and pH 5.5 and 8.0 the movement of spermatozoons was reduced, the number of dead spermatozoons and those revealing abnormal (helical or circular) movement increased.

ANDRZEJ HIBNER, RYSZARD ZIEMINSKI, STANISŁAW FICER

## Obserwacje nad długością ciąży, śmiertelnością okołoporodową cieląt i ciążami bliźniaczymi u krów krytych przez buhaje holsztyńsko-fryzyjskie i czystorasowe ncb<sup>\*)</sup>

Instytut Hodowli i Technologii Produkcji Zwierzęcej  
Wydziału Zootechnicznego AR, ul. Norwida 25, 50-375 Wrocław

W ostatnich latach ze szczególnym zainteresowaniem w europejskiej hodowli zwierząt spotyka się bydło rasy holsztyńsko-fryzyjskiej, które importowane niegdyś z Holandii i Niemiec, po wielu latach ostrej selekcji i zamkniętej hodowli w Ameryce Płn., cechuje się obecnie wysoką wydajnością mleka. Dla krów objętych kontrolą użytkowości w 1970 r. średnia wydajność tej rasy w Stanach Zjednoczonych wynosiła 7103 kg mleka o zawartości 3,68% tłuszczu i 261 kg tłuszczu, w Kanadzie zaś odpowiednio 5690 kg, 3,73% i 212 kg tłuszczu. Bydło to reprezentuje obecnie typ mleczny o dużej wyrostowości i bardzo dobrej przydatności do doju mechanicznego. Niezależnie od efektów produkcyjnych osiągniętych w stadach holsztyńsko-fryzów importowanych do Europy, stwierdzono również zachęcające wyniki krzyżowania tej rasy z europejskim bydlęciem czarno-białym. Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na znaczny wzrost wydajności mlecznej u krów pokolenia F<sub>1</sub> (hf x ncb), wynoszący od 240 do ponad 1200 kg (21).

Również w Polsce przystąpiono do realizacji takiego krzyżowania stosując dolew krwi bydła holsztyńsko-fryzyjskiego. Obecnie unasienniane jest corocznie około 10—11% samic nasieniem buhajów z różnym dolewem krwi holsztyńsko-fryzów.

<sup>\*)</sup> Wykonano w ramach Problemu Międzyresortowego MR-II/9.1.14.

Interesujące wydaje się być zarówno dla lekarzy weterynaryjnych jak i służby zootechnicznej opublikowanie niektórych danych charakteryzujących długość ciąży, liczbę przypadków okołoporodowej śmiertelności cieląt oraz występowanie porodów bliźniaczych u mieszańców (hf x ncb). Ponieważ w krajowym piśmiennictwie brak jest na ten temat szczegółowych informacji, dlatego też celowe wydaje się podjęcie badań w tym kierunku.

### Materiał i metody

Badania wykonano w latach 1978—1979 w 19 stadach bydła rasy nizinnej czarno-białej na terenie Dolnego Śląska. Analizą objęto 3118 urodzeń od krów wieloródek, cieląt mieszańców F<sub>1</sub> po buhajach holsztyńsko-fryzyjskich i krowach ncb oraz 1317 urodzeń cieląt czystorasowych ncb. Nasieniem buhajów hf zainseminowano w każdym stadzie 2/3 pogłowia, zaś pozostała 1/3 samic unasienniono nasieniem buhajów czystorasowych ncb. W efekcie w każdym stadzie znalazło się potomstwo co najmniej 3 buhajów hf, a zarazem każdy z analizowanych buhajów pozostawił potomstwo we wszystkich objętych obserwacjami stadach.

W badaniach nad śmiertelnością cieląt po poszczególnych buhajach uwzględniono tylko 2788 sztuk potomstwa buhajów holsztyńsko-fryzyjskich, ponieważ tylko one legitymowały się znacznie większą (powyżej 150 sztuk) liczebnością urodzonych cieląt, a każdy z buhajów ncb pozostawił mniej niż 100 sztuk cieląt. Za okołoporodową śmiertelnością uznano przypadki urodzeń cieląt martwych oraz padłych w okresie 24 godzin od ocielenia (22).

Zebrany materiał poddano analizie statystycznej oznaczając istotność różnic testem chi-kwadrat.