

# Pierwsze knury uzyskane po inseminacji loch nasieniem kriokonserwowanym użytkowane w fermie zarodowej

**Jerzy Strzeżek<sup>1</sup>, Tadeusz Opilowski<sup>2</sup>, Antoni Puchalski<sup>3</sup>,  
Leyland Fraser<sup>1</sup>, Rafał Strzeżek<sup>1</sup>, Barbara Wiśniewska<sup>3</sup>,  
Paweł Wysocki<sup>1</sup>, Łukasz Zasiadczyk<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie,

<sup>2</sup>Stacja Hodowli i Unasieniania Zwierząt Sp. z o.o. w Bydgoszczy,

<sup>3</sup>Ferma Zarodowa Trzody Chlewnej „GRAB” w Grabowie k. Lubawy

Pierwsze technologie zamrażania nasienia knura zaprezentowano już 35 lat temu [3, 9], jednak rutynowe stosowanie w praktyce inseminacyjnej kriokonserwowanego nasienia tego gatunku jest ograniczone. Jest to związane z gatunkowo i osobniczo uwarunkowaną wrażliwością plemników knura na udar chłodo- wy, przejawiającą się ograniczoną zdolnością adaptacji plazmolemy i ultrastruktur plemników do zmieniających się warunków zewnątrzśrodowiskowych, związanych ze stosowanymi etapami kriokonserwacji nasienia [8].

Należy podkreślić, że w Polsce pierwsze próby opracowania metody kriokonserwacji nasienia knura prowadzone były w ośrodku poznańskim [1, 2] oraz olsztyńskim [5, 6, 7]. Jednak uzyskiwane rezultaty, dotyczące wartości biologicznej nasienia knurów po zamrożeniu i rozmrożeniu opracowanymi technologiami, były niezadowalające.

Osiągnięty w ostatnich latach postęp technologiczny, dotyczący wyrugowania lub zredukowania do minimum przyczyn zmian kriogenicznych plemników knura, pozwala na podjęcie inicjatywy tworzenia specyficznych banków zasobów genetycznych omawianego gatunku zwierząt, co może służyć praktycznej realizacji programów hodowlanych [4].

W wyniku realizacji projektu rozwojowego Narodowego Centrum Badań i Rozwoju pt. „Kompleksowa technologia kriokonserwacji nasienia knura – badania podstawowe i aplikacyjne” (NR 12001404) opracowano technologię mrożenia nasienia knura. Pełny opis tej technologii zawarto w instrukcji pt. „Technologia mrożenia nasienia knura metodą „kortowską” oraz sposób jego użycia w praktyce inseminacyjnej” (wyd. Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie, Katedra Biochemii i Biotechnologii Zwierząt). Ocena skuteczności opracowanej technologii była możliwa dzięki współpracy z jednostkami organizacyjnymi Stacji Hodowli i Unasieniania Zwierząt w Bydgoszczy, natomiast inse-

minację loch kriokonserwowanym nasieniem knurów, użytkowa- nych w 3 Stacjach Unasieniania Loch, prowadzono w Fermie Zarodowej Trzody Chlewnej „GRAB” w Grabowie.

Należy podkreślić, że podejmując realizację projektu w porozumieniu z SHiUZ w Bydgoszczy kierowano się kilkoma aspek- tami uzasadniającymi potrzebę wprowadzenia technologii krio- konserwacji nasienia knura do praktyki hodowlanej. W przypad- ku wybitnych reproduktorów, wykorzystywanych w hodowli w krótkim odcinku czasowym, występuje niebezpieczeństwo zbyt dużego ich wpływu na populację hodowlaną, co prowadzić może do nadmiernego wzrostu spokrewnienia (inbrodu). Stan taki wymusza potrzebę zmagazynowania mrożonego nasienia od takich osobników, co pozwoli na przesunięcie w czasie okre- su ich reprodukcyjnego wykorzystania. Z kolei jednostronna se- lekcja reproduktorów pod względem wybranych cech użytko- wych, stosowana często ze względów ekonomicznych, może być przyczyną eliminacji z populacji genów warunkujących ce- chy, które mogą mieć w przyszłości duże znaczenie. Dlatego przechowanie nasienia knurów charakteryzujących się wybitną wartością cech, a nie wykorzystywanych aktualnie w hodowli, może mieć istotne znaczenie w przyszłości. Nie bez znaczenia praktycznego jest możliwość zachowania rezerwy genetycznej pozwalającej na odtwarzanie stad hodowlanych podlegających likwidacji ze względów epidemiologicznych. Wreszcie kriokon- serwowane nasienie knurów może być transportowane na znaczne odległości, co ułatwi wykorzystanie wybitnych osobni- ków w kojarzeniach hodowlanych realizowanych w różnych sta- dach na terenie całego kraju, z możliwością eksportu przygra- nicznego.

Przedstawiona w instrukcji technologia kriokonserwacji na- sienia knura metodą „kortowską”, chociaż nawiązuje do wcze- śniej opracowanej [5], zawiera wiele nowych oraz istotnych roz- wiązań metodycznych. Wynikają one z kompleksowych badań poznawczych realizowanych w ramach wspomnianego wcze- śniej projektu rozwojowego. Dotyczą przede wszystkim okre- ślenia roli białek plazmy nasienia knura w stabilizacji plemników poprzez mechanizmy interakcji zarówno z receptorami błony plazmatycznej, jak i organicznymi składnikami rozcieńczalnika. Zjawisko to zostało wykorzystane w prezentowanej procedurze kriokonserwacji nasienia poprzez użycie określonej objętości ejakulatu knura zamiast, powszechnie używanej w opisywa- nych technologiach, frakcji „gęstej” ejakulatu. Również wprowa- dzony etap dializy określonej objętościowo frakcji ejakulatu, przed następnymi etapami technologii, aktywuje wymienione wcześniej mechanizmy interakcji białek.

Pionierskim rozwiązaniem w zmodyfikowanej metodzie „kor- towskiej” jest wprowadzenie do składu rozcieńczalnika liofilizo- wanej, rozpuszczalnej w wodzie frakcji niskocząsteczkowych lipoprotein, izolowanych z żółtka jaja strusia afrykańskiego (LPFo). Oryginalna metoda uzyskiwania preparatu LPFo stano- wi przedmiot zgłoszenia patentowego (Urząd Patentowy RP, zgłoszenie nr P-388264). Stosowany 5% dodatek LPFo do roz- cieńczalnika przed zamrażaniem próby jest optymalny dla za- bezpieczenia struktur plemnikowych przed udarem chłodowym



Fot. 1. Potomek knura KRUK-2



Fot. 2. Potomek knura NORM-3

i udarem osmotycznym. Ponadto preparat LPFo nie podlega reakcji precipitacji przez specyficzne substancje białkowe plazmy nasienia knura. Zjawisko to jest natomiast charakterystyczne w przypadku stosowania w składzie rozcieńczalnika pełnego żółtka jaja kurzego, co jest powodowane przez specyficzne białka, zależne od jonów cynkowych, obecne w plazmie nasienia knura. Ponadto sygnalizowany wcześniej proces dializy nasienia wyklucza prezentowane zjawisko.

Nasienie przeznaczone do zamrażania konfekcjonowane jest w tubach aluminiowych, używanych powszechnie w przemyśle farmaceutycznym. Zamrożone nasienie, z reguły znajdujące się w dwóch tubach, stanowi pojedynczą dawkę inseminacyjną. Należy podkreślić, że stosowany sposób konfekcjonowania mrożonego nasienia w tubach aluminiowych został z powo-

dzeniem wykorzystany w ośrodku krakowskim do zamrażania nasienia ogiera.

Przedstawione rozwiązania metodyczne technologii kriokonserwacji nasienia metodą „kortowską” oraz uzyskiwane wysokie wartości wyznaczników badań mikroskopowych, fluorescencyjnych i biochemicznych nasienia po zamrożeniu i rozmrożeniu, stanowiły podstawę do bezpośredniego praktycznego jej wykorzystania w inseminacji loch stacjonujących w Fermie Zarodowej Trzody Chlewnej „GRAB” w Grabowie.

Efektywność rozrodu loch inseminowanych nasieniem kriokonserwowanym przedstawiono w tabeli 1. Próby nasienia do zamrażania uzyskiwano od knurów użytkowanych w Stacjach Unasieniania Loch w Olecku, Pętkowicach i Sławęcinku. Zabiegi inseminacyjne 32 loch przeprowadzono w dwóch tu-

**Tabela 1**  
Skuteczność unasieniania loch nasieniem kriokonserwowanym według metody „kortowskiej”

Tura inseminacji	Liczba knurów dawców ejakulatów do kriokonserwacji	Liczba loch inseminowanych	Wskaźnik niepowtarzalności po 28 dniach (badanie USG) (%)	Wskaźnik prośności (%)	Wskaźnik efektywności rozrodu loch oproszonych				
					liczba loch oproszonych	liczba prosiąt urodzonych żywych (ogółem)	średnia liczba prosiąt urodzonych żywych w miocie	płeć prosiąt (liczba, %)	
								loszki	knurki
I	9	25	84	84	21	243	11,5 ± 1,36	122 (50,2)	121 (49,8)
II	4	7	71,4	71,4					
łącznie	13	32	77,7	77,7					
								porody – styczeń 2011	

**Tabela 2**  
Charakterystyka miotów uzyskanych po inseminacji loch nasieniem kriokonserwowanym wybranych knurów rozplodowych

Nazwa knura (rasa, wiek)	Nr lochy (rasa)	Data inseminacji	Data oproszenia	Charakterystyka miotów		
				liczba prosiąt w miocie (żywych)	płeć prosiąt	
					loszki	knurki
KRUK-2 (pbz, 4 lata)	13 (pbz)	15.07.2009	04.11.2009	11	7	4
NORM-3 (wbp, 2 lata)	679 (wbp)	30.09.2009	26.01.2010	11	5	6

Tabela 3

Wybrane wyznaczniki jakości nasienia świeżego knurów KRUK-2 i NORM-3 oraz ich potomków urodzonych po inseminacji loch nasieniem zamrożonym-rozmrożonym

Nazwa knura	Objętość ejakulatu (ml)	Koncentracja plemników ( $\times 10^6/\text{ml}$ )	Ruchliwość plemników (%)	Plemniki morfologicznie normalne (%)	Zawartość białka ogólnego w plazmie nasienia (mg/ml)	Badania fluorescencyjne plemników	
						integralność plazmoemy (SYBR-14/PI) (%)	funkcjonalność mitochondriów (JC-1/PI) (%)
KRUK-2	324	430	75	78	31	87	91
Potomek	487	180	80	97	29	95	86
NORM-3	340	356	70	87	61	85	82
Potomek	428	145	80	97	49	90	78

rach (I – lipiec/listopad 2009; II – wrzesień 2010), wykorzystując nasienie kriokonserwowane, przechowywane w ciekłym azocie ponad 6 miesięcy (Bank Nasienia Knurów). Zabiegi inseminacyjne loch (inseminacja, reinseminacja) prowadzono przy wykorzystaniu katetera do pozaszijkowego unasienniania Soft & Quick (Import-Vet S.A., Hiszpania). Stosowano oryginalną procedurę inseminacji loch, stanowiącą integralną część technologii prezentowanej w wymienionej wcześniej instrukcji.

W grupie 25 knurów inseminacyjnych, na podstawie kompleksowych badań laboratoryjnych nasienia świeżego oraz po zamrożeniu i rozmrożeniu, wyodrębniono grupę 13 knurów, jako dawców nasienia o wysokiej przydatności do mrożenia.

Spśród miotów uzyskanych po inseminacji loch kriokonserwowanym nasieniem knurów KRUK-2 (pbz, SUL Olecko) oraz NORM-3 (wbp, SUL Sławęcinek), wybrano dwa knurki, które miały być użytkowane do inseminacji loch stacjonujących w wymienionej fermie zarodowej. W tabeli 2 przedstawiono charakterystykę miotów, z których wyselekcjonowano knurki.

Wyodrębnione z prezentowanych miotów knurki, po okresie odchowu w warunkach fermy, w wieku 6 miesięcy poddane zostały badaniom narządu rozrodczego. W wyniku 2-krotnie przeprowadzonych badań klinicznych narządów rozrodczych oraz pomiaru wielkości jąder stwierdzono przydatność rozplodową knurków. Po okresie przyuczenia do oddawania nasienia na fantom nie stwierdzono zakłóceń w ich zachowaniu płciowym. Według stosowanej skali oceny stopnia natężenia fazy odruchów płciowych (libido) obydwie knury uzyskały ocenę L-4 do L-3. Nie stwierdzono również zaburzeń odruchu kopulacji zakończonej ejakulacją.

W tabeli 3 przedstawiono charakterystykę wybranych parametrów oceny jakości nasienia knurów inseminacyjnych oraz ich potomków. Należy odnotować, że pierwsze ejakulatory analizowanych knurów oddane na fantom uzyskano w wieku 11-12 miesięcy (potomek knura KRUK-2, ur. 23.06.2009 r.; potomek knura NORM-3, ur. 10.11.2009 r.). Uzyskane wysokie wartości wskaźników oceny jakości nasienia knurów stanowiły główną przesłankę do rozpoczęcia ich użytkowania rozplodowego w fermie.

W praktyce inseminacyjnej fermy stosowany jest rozcieńczalnik SafeCell Plus (IMV, L'Aigle, Francja), produkowany w

formie przygotowanej do bezpośredniego rozrzedzania nasienia w odpowiedniej temperaturze, a następnie długookresowego przechowywania (6-7 dni) w temperaturze 16-18°C. Do inseminacji loch stosuje się dawkę zawierającą 3-3,5  $\times 10^9$  plemników żywych. Zabiegi inseminacyjne (inseminacja, reinseminacja) prowadzi się z uwzględnieniem podstawowych wymogów zootechniczno-weterynaryjnych, przy zastosowaniu katetera do szyjkowej inseminacji Golden Pig (IMV, L'Aigle, Francja).

W wyniku inseminacji 65 loch nasieniem uzyskanym od potomka knura KRUK-2 uzyskano wskaźniki niepowtarzalności i prośności wynoszące 87% (badanie USG po 28 dniach od daty unasienniania loch). Aktualnie prowadzone są przygotowania do rozpoczęcia inseminacji loch nasieniem kolekcjonowanym od potomka knura NORM-3.

Przedstawiony praktyczny przykład wykorzystania kriokonserwowanego nasienia knurów, w celu uzyskania pożądanych cech genetycznych potomstwa w warunkach funkcjonującej fermy zarodowej trzody chlewnej, wskazuje na nowe, a zarazem dodatkowe możliwości realizacji programów hybrydyzacyjnych. Ferma zarodowa, z racji swoich zadań hodowlanych, koncentruje działalność przede wszystkim na hodowli knurów czystej rasy oraz knurów mieszańców, jak również loch w czystości rasy dla odnowy własnego stada czy stad ferm reprodukcyjnych oraz towarowych.

Stosowanie długookresowo przechowywanego nasienia kriokonserwowanego dla realizacji wymienionych celów produkcyjnych fermy zarodowej, pozwolić może dodatkowo na wykorzystanie względnie dużego, naturalnego potencjału rozrodczego loch. Tworzenie specjalnego Banku Mrożonego Nasienia Knurów stwarza nowe perspektywy rozwoju kompleksowego i właściwie pojętego sterowanego rozrodu trzody chlewnej, przy zachowaniu jego dotychczasowych, sprawdzonych metod i form organizacyjnych.

**Literatura:** 1. Łyczyński A., 1973 – Przegląd Hodowlany 5, 22-24. 2. Łyczyński A., 1975 – Przegląd Hodowlany 1, 21-22. 3. Pursel V.G., Johnson L.A., 1975 – J. Anim. Sci. 40, 99-102. 4. Rath D., Bathgate R., Rodriguez-Martinez H., Roca J., Strzeżek J., Waberski D., 2009 – Control of Pig Reproduction VIII, Nottingham University Press, 51-66. 5. Strzeżek J., Śmigielska J., Czeczot A., Al-Taha T.Y., Glogowski J., Liminowicz J., 1979 – Mat. XVI

## Charakterystyka zmian wieku pierwszego oproszenia i okresu międzymiotu u loch rasy pbz hodowanych w rejonie lubelskim

**Bogdan Szostak**

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, Wydział Nauk Rolniczych w Zamościu

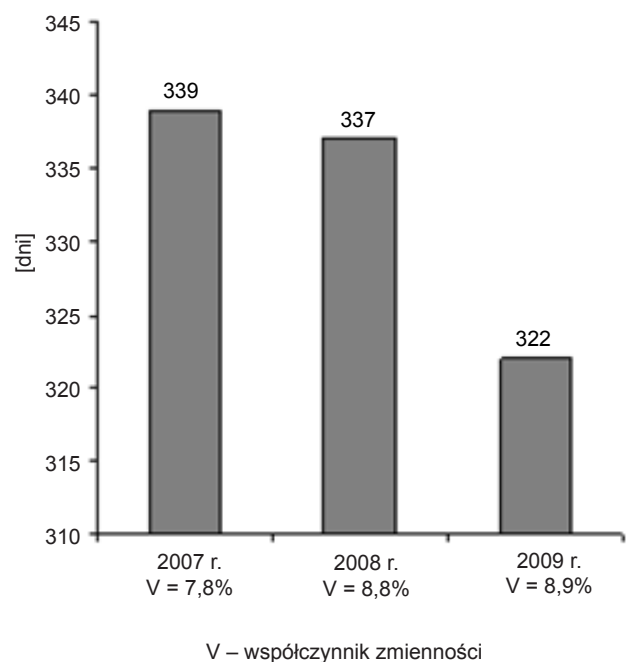
Wiek pierwszego oproszenia to cecha ważna w aspekcie fizjologicznym i ekonomicznym. Zbyt wczesne krycie loszek przeznaczonych na remont stada może mieć negatywny wpływ na ich dalszy rozwój somatyczny, co w konsekwencji może przełożyć się na ich produktywność i długość użytkowania rozplodowego [5, 7, 11]. Prawidłowo żywiona i utrzymywana loszka rasy białej powinna po raz pierwszy wydać potomstwo nie później niż w wieku 12 miesięcy [4]. W praktyce loszki kryje się najczęściej w wieku 7-9 miesięcy, ale niektórzy autorzy [2, 3] twierdzą, że wiek ten można obniżyć – nawet poniżej 6,5 miesiąca, bez negatywnych skutków dla dalszej produktywności loszek, co korzystnie wpływa na efekty ekonomiczne z prowadzonej działalności hodowlanej. Zdaniem Rekiel [9], wybór odpowiedniego momentu rozpoczęcia użytkowania rozplodowego loszek jest bardzo ważny z uwagi na konieczność utrzymania dobrej kondycji i długowieczności loch w stadzie oraz wysokiej rozrodczości. Natomiast opóźnienie terminu pierwszego krycia zwiększa koszt utrzymania i prowadzi do problemów z zapłodnieniem loch [6].

Na rysunku 1 przedstawiono zmiany, jakie nastąpiły na przestrzeni lat 2007-2009, w wieku pierwszego oproszenia u loch rasy pbz hodowanych w regionie lubelskim. Analizując dane z poszczególnych lat można zauważyć, że nastąpiła stabilizacja tej cechy, o czym świadczy współczynnik zmienności, wahający się w granicach 7,8-8,9%. W roku 2009 odnotowano znaczny spadek wieku pierwszego oproszenia loch (322 dni). W porównaniu z poprzednimi latami wartość cechy obniżyła się o 15-17

dni. Osiągnięty wynik należy uznać za bardzo korzystny, ponieważ oznacza, że loszki rasy pbz były zapładniane po raz pierwszy w wieku około siedmiu miesięcy. Wielu autorów twierdzi, że z ekonomicznego punktu widzenia najkorzystniejszym terminem pierwszego krycia jest wiek mieszczący się w granicach między 200. a 260. dniem życia loszki [10, 13].

Analizując dane dotyczące wieku pierwszego oproszenia loch rasy pbz w fermach położonych na terenie woj. lubelskiego (tab. 1) można zauważyć duże wahania w wartościach tej cechy. W jednej z ocenianych ferm średni wiek pierwszego oproszenia loch wynosił 305 dni (ferma VI) i był o 52 dni krótszy od stwierdzonego w fermie V. Należy jednak podkreślić, że pod względem średniej liczy by prosiąt urodzonych i odchowanych od jednej lochy w analizowanych chlewniach, wyniki osiągnięte w roku sprawozdawczym 2009 były bardzo zbliżone [12]. W większości analizowanych ferm wiek pierwszego oproszenia loch mieścił się w granicach 312,5-330 dni. Możliwość obniżenia wieku pierwszego krycia loch, bez ujemnych skutków na ich przyszłą produktywność, analizują w swoim opracowaniu Kapelańska i wsp. [2].

Długość okresu międzymiotu jest cechą wynikającą z właściwości fizjologicznych organizmu lochy i technologii odchovu



**Rys. 1. Wiek pierwszego oproszenia loch rasy pbz hodowanych w regionie lubelskim**