THE DYNAMICS OF OCCURRENCE OF SPERMATOZOA WITH PATHOLOGIC CHANGES AND EJACULATE QUALITY INDICATORS IN COCKEREL

Švábová L.[1], Máchal L.[1], Severa L.[2], Mamica O.[1]

[1]Department of Animal Breeding, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

[2]Department of Engineering and Automobile Transport, Faculty of Agronomy, Mendel University of Agriculture and Forestry in Brno, Zemedelska 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: xsvabova@node.mendelu.cz

ABSTRACT

The aim of the study was to estimate and to compare the quality of cockerel ejaculates in different time of semen collection and to find out the influence of cock age on the occurrence of pathologic changes in spermatozoa. Cocks of three breeds were tested - Rhode Island Red, Barred Plymouth Rock and Sussex. Semen was collected four times (in the age of 173, 239, 315 a 391 days) and it was done during production period of cockerel. The semen quality was evaluated by deterninating of basic spermatologic parameters – sperm motility, sperm concentration, ejaculate volume and by morphologic examination of spermatozoa. Average volume of ejaculate was the highest in the first time of collection in the age of 173 days and it was 0.64 cm^3. Ejaculate volume decreased in relation to growing age of cockerel. Average sperm motility ranged from 53,3 % (in the age of 239 days) to 78.4% (in the age of 391 days). Motility increased in relation to growing age of cocks, except the second term of collection, lower motility was evaluated here. Average sperm concentration ranged from 2.07 to 2.52 106 mm^{-3}. The second time of semen collection (in the age of 239 days) had statistically highly significant ($P \leq 0.01$) influence on the occurrence of sperm morphological abnormalities in ejaculate and it was 61.5%. Generally, the most morphological changes were on tails. The least sperm morphological changes were in the last time of semen collection (in the age of 391 days) and it was only 36.5%. It can be mentioned the highest occurrence of pathologic spermatozoa was found out in the time of the lowest sperm motility in 239 days of cock age, it was time when the ejaculate was collected irregularly. Therefore, we recommend also off-season ejaculate collection as a convenient precaution.

Key words: cockerel, age, ejaculate, sperm, pathologic sperm, ejaculate volume, sperm concentration, sperm motility.

Acknowledgments: The results were obtained with financial support by the Research plan No. MSM 6215648905.

ÚVOD

Na reprodukční výkonnosti kohoutů se podílí mnoho vnějších a vnitřních faktorů, jako je zdravotní stav, věk, genotyp, výživa, technologie chovu a úroveň ošetřování (Tůmová a Jeřábek, 2006). Aviární spermie se liší od savčích spermií některými morfologickými a biologickými znaky. Tyto zvláštnosti vyplývají jednak z rozdílné stavby reprodukčních orgánů a jednak z rozdílnosti spermatogeneze (Ledeč a kol., 1981). Samčí pohlavní buňka domácích ptáků je dlouhá, cylindrická a na obou koncích zúžená. Délka spermie u kohouta je asi 100µm a šířka je 0,5µm. Aviární ejakulát obsahuje málo semenné plazmy a proto je semeno husté (Etches, 2000). Koncentrace spermií v ejakulátu u kohoutů je variabilní a pohybuje se od 1,00 – 12,40 · 10^6 · mm^{-3} (Ledeč a kol., 1981), respektive 0,50 – 7,00 · 10^6 · mm^{-3} (Gamčík a kol., 1992) a při každodenním odběru se koncentrace postupně snižuje (Šmerha a kol., 1980). Důležitým spermatologickým ukazatelem je také motilita spermií. Máchal a kol. (1996) uvádějí hodnoty motility spermií u kohoutů 62,4 – 88,3 % a zmiňují, že motilita spermií se mění v závislosti na věku a liniové příslušnosti kohoutů. Významným kvantitativním ukazatelem ejakulátu je jeho objem, ten se u kohoutů pohybuje mezi 0,20 a 0,62 cm^3 (Máchal a Křivánek, 2002).

Barth a Oko (1989) zmiňují důležitost zjišťování počtu abnormálních spermií při morfologickém vyšetření, které hraje nepostradatelnou roli pro stanovení fertility. Vyšší procento výskytu morfologicky změněných spermií může mít za následek poruchy plodnosti (Saacke a kol., 2000). Anomálie spermií vznikají především v procesu spermatogeneze v důsledku degenerativních změn zárodečného epitelu, na který mají vliv toxické, aklimatizační a infekční faktory, použitá inseminační technika, sezóna, znečištění ejakulátu, ředidla a jiné (Ledeč a kol., 1981).

Cílem sledování bylo stanovit a zhodnotit kvalitu ejakulátu u kura domácího a zjistit, zda věk kohoutů při odběru má vliv na výskyt patologicky změněných spermií a kvalitu ejakulátu.

MATERIÁL A METODIKA

Ejakuláty byly získány ve šlechtitelském a rozmnožovacím chovu drůbeže Integra Žabčice, a.s. K experimentu byli vybráni snáškové linie kohoutů tří plemen (Rhode Island Red, Barred Plymouth Rock a Sussex). Tyto linie jsou využívány pro tvorbu finálních hybridních kombinací Moravia. Všichni kohouti byli označeni rodokmenovými značkami. Ve věku 16 týdnů byli kohouti přemístěni z odchovny do klecových technologií pro dospělé kohouty, kde byli individuálně umístěni. Krmení bylo zajištěno kompletní krmnou směsí s kvantitativním omezením krmné dávky 120 g na ks/den. Napájení bylo zajištěno kapátkovými napaječkami. Světelný režim zajišťoval 12 hodin nepřetržitého svitu za den.

Odběry ejakulátu od kohoutů byly uskutečněny ve čtyřech termínech v průběhu produkčního období a to ve věku 173, 239, 315 a 391 dní. Pro odběry ejakulátu bylo vybráno 63 kohoutů, vždy 21 kohoutů z každé snáškové linie. Celkem bylo takto získáno 246 ejakulátů. V průběhu experimentu došlo k početní redukci kohoutů z původních 63 při prvním odběru na 58 při posledním odběru.

Odběry ejakulátu byly provedeny dorso-abdominální masáží. Bezprostředně po odběru byly stanoveny základní spermatologické ukazatele: motilita a koncentrace spermií a objem ejakulátu. Motilita spermií byla stanovena subjektivním zhodnocením, objem ejakulátu byl stanoven pomocí

kalibrační pipety, koncentrace spermií byla stanovena hemocytometrickou metodou. V ejakulátu byl také sledován výskyt morfologicky změněných spermií. Z naředěného ejakulátu, v poměru 1:5 (0,5 % fyziologickým roztokem NaCl), byly zhotoveny preparáty, u kterých bylo provedeno mikroskopické vyšetření morfologie spermií. U každého preparátu bylo zhodnoceno 100 spermií a byly posuzovány tyto morfologické změny: vývojové anomálie a degenerované spermie, změny na hlavičce, změny na spojovací části spermie a změny na bičíku. Jednotlivé patologické změny byly vyjádřeny procenticky. Mezi změny na hlavičce spermie byly řazeny malé či velké hlavičky, hlavičky stočené, zakřivené nebo chybějící. Změny na spojovací části měly zúženou, ztluštělou či zkroucenou podobu. U bičíku bylo hodnoceno jeho svinutí, ohnutí či torze anebo chybějící bičík. Za degenerované byly považovány spermie s vývojovými abnormalitami.

Statistické zhodnocení bylo provedeno pomocí počítačového programu Statistica 8.0, prostřednictvím analýzy variance, kdy jako pevné efekty byly zvoleny termíny odběrů. Sledované charakteristiky byly vyjádřeny váženým průměrem a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Zjištěné průměrné hodnoty spermatologických ukazatelů ejakulátu kohoutů výchozích snáškových linií v průběhu produkčního období, ve věku 173, 239, 315 a 391 dnů, jsou prezentovány v Tab. 1. Průměrný objem ejakulátu byl nejvyšší při prvním odběru ve věku 173 dnů a to 0,64 cm^3 a postupně se zvyšujícím se věkem kohoutů se objem ejakulátu snižoval a v 391 dnech věku kohoutů dosáhl hodnoty pouze 0,45 cm^3, mezi těmito hodnotami byl zjišten statisticky vysoce průkazný rozdíl ($P \leq 0,01$). Podobné hodnoty objemu ejakulátu u snáškových linií kohoutů zjistili Máchal a Křivánek (2002). Klesající tendence objemu ejakulátu se ovšem u nich nepotrvdila, naopak autoři uvádějí opačný trend, kdy nejnižší objem byl na začátku sledování a nejvyšších hodnot dosáhl v posledním termínu odběru. Tento fakt mohl být způsoben tím, že kohouti v našem experimentu byli odebíráni ve vyšším věku, než ve sledování Máchala a Křivánka (2002), kteří ejakuláty získavali od kohoutů ve věku 143 až 240 dní. Průměrná motilita spermií se pohybovala v rozmezí od 53,3 % do 78,4 %. Na začátku sledování byla průměrná motilita spermií 63,0 %, v 239 dnech došlo ke snížení cca o 10 % a v dalších termínech odběru se motilita opět zvyšovala. Toto zjištění je v souladu s údaji Máchala a kol. (1995), který ve své publikaci také uvádí pokles motility okolo 256. dne věku kohoutů a uvádí podobné hodnoty motility spermií a v některých případech dokonce o něco vyšší. Průměrná koncentrace spermií v ejakulátu byla nejvyšší v prvním termínu odběru a byla $2,52 \cdot 10^6 \cdot mm^{-3}$. Koncentrace spermií se se zvyšujícím věkem kohoutů mírně snižovala na 2,26 mil. spermií v mm^3 v 239 dnech věku a na $2,07 \cdot 10^6 \cdot mm^{-3}$ v 315 dnech, tento trend byl ovšem narušen na konci sledování, kdy se koncentarce opět zvýšila na hodnotu $2,29 \cdot 10^6 \cdot mm^{-3}$. Froman a Feltmann (2000) uvádějí průměrnou koncentraci spermií u kohoutů v rozmezí 0,52 až $0,95 \cdot 10^6 \cdot mm^{-3}$. Tyto hodnoty jsou výrazně nižší v porovnání s naším zjištěním nebo s výsledky, které publikoval Máchal a kol. (1996), který uvádí průměrnou koncentraci spermií v rozmezí hodnot 0,88 až $3,05 \cdot 10^6 \cdot mm^{-3}$. Při morfologickém vyšetření spermií bylo zjištěno nejvíce změn v utváření bičíku a spojovací části spermie. Toto zjištění se liší s tím, co uvádí Alkan a kol. (2002), který zjistil nejvíce morfologických defektů v utváření spojovací části a akrozómu. Celkově nejnižší byl výskyt spermií s vývojovými anomáliemi a spermií degenerovaných. Nejvyšší průměrný výskyt patomorfologických změn spermií byl zaznamenán ve druhém odběru, ve věku 239 dní, což bylo 61,5 %. Podobné hodnoty zjistili i Omeje a Marire (1990),

kteří jako nejvyšší výskyt u zkoumaného nosného plemene kohouta uvádějí nižší výskyt morfologicky abnormálních spermií a to 48 %.

Tab. 1 Kvalitativní a kvantitativní ukazatele ejakulátu kohoutů snáškových linií BPR, SU a RIR v průběhu produkčního období ve věku 173, 239, 315 a 391 dní

		Jednotky	173 dní n=63			239 dní n=63			315 dní n=62			391 dní n=58		
			$\bar{x}$	±	s $\bar{x}$	$\bar{x}$	±	s $\bar{x}$	$\bar{x}$	±	s $\bar{x}$	$\bar{x}$	±	s $\bar{x}$
Objem ejakulátu		[cm^3]	0,64 AB	±	0,20	0,61 Ca	±	0,17	0,52 Aa	±	0,18	0,45 BC	±	0,20
Motilita spermií		[%]	63,0^{a}	±	30,6	53,3 AB	±	28,6	71,6 A	±	26,4	78,4 Ba	±	24,9
Koncentrace spermií		[$10^6 \cdot mm^{-3}$]	2,52^{a}	±	0,87	2,26	±	0,60	2,07^{a}	±	0,68	2,29	±	1,13
Patologicky změněné spermie	Hlavička	[%]	3,0^{ab}	±	4,1	2,8^{c}	±	2,9	1,4^{a}	±	2,3	1,2^{bc}	±	3,5
	Spojovací část	[%]	19,6 ABC	±	10,6	31,9 ADE	±	12,7	12,8 BD	±	6,5	11,7 CE	±	5,7
	Bičík	[%]	29,8 AB	±	12,3	26,4	±	8,8	24,0 A	±	10,6	23,6 B	±	8,6
	Vývojové anomálie	[%]	0,7$^{Aa}_{b}$	±	1,1	0,4^{a}	±	0,7	0,3^{b}	±	0,7	0,1^{A}	±	0,3
	Změny celkem	[%]	53,1 ABC	±	9,8	61,5 ADE	±	11,0	38,5 BD	±	11,1	36,5 CE	±	9,6
Normálně utvářené spermie		[%]	46,9 ABC	±	9,8	38,5 ADE	±	11,0	61,5 BD	±	11,1	63,5 CE	±	9,6

a,b,c – mezi hodnotami ve sloupcích se stejnými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$)

A,B,C,D,E – mezi hodnotami ve sloupcích se stejnými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$)

ZÁVĚR

Z hodnocení kvalitativních a kvantitativních ukazatelů ejakulátu kohoutů snáškových linií vyplývá, že jsou zřejmé rozdíly v kvalitě ejakulátu mezi jednotlivými termíny odběru. Nejvyšší průměrný objem ejakulátu byl u kohoutů prokázán na začátku sledovaného období a to v 173 dnech věku, kdy činil 0,64 cm^3, objem se postupem věku kohoutů snižoval a nejnižší průměrný objem ejakulátu byl zjištěn na konci sledování, tedy v 391 dnech (0,45 cm^3), kdy byl statisticky vysoce průkazně nejnižší ($P \leq 0,01$). Naopak motilita spermií se, až na mírný pokles ve druhém termínu odběru, s věkem kohoutů zvyšovala a nejlepší hodnoty byly zjištěny při posledním odběru. Nejvyšší výskyt patomorfologických změn spermií byl zaznamenán ve druhém odběru, což bylo 61,5 %, a tato hodnota byla statisticky vysoce průkazná ($P \leq 0,01$). Nejméně abnormalit bylo zjištěno v posledním odběru ejakulátu. Nejvíce defektů se vyskytovalo na bičících a ve spojovací části spermií, naopak nejmenší byl výskyt degenerovaných spermií, kdy jejich výskyt v ejakulátu klesal postupně se zvyšujícím se věkem kohoutů. Lze tedy konstatovat, že nejvyšší výskyt patologicky změněných spermií byl zjištěn v době

nejnižší motility spermií ve 239 dnech věku, tj. v době, kdy kohouti nejsou pravidelně odebíraní. Doporučujeme provádět tzv. kondiční odběry i mimo sezónu.

LITERATURA

Alkan S., Baran A., Ozdas, O.B., Evecen M. (2002): Morphological defects in Turkey semen. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences 26: 1087-1092.

Barth A.D., Oko R.J. (1989): Abnormal Morphology of Bovine Spermatozoa. Ames: Iowa State University Press, 285s.

Etches J.D. (2000): Reproduction in Poultry. Wallingford: CAB International Publishing, UK, 318s.

Froman D.P., Feltmann A.J. (2000): Sperm mobility: phenotype in roosters determined by concentration of motile sperm and straight line velocity. Biology of Reproduction 62: 303-309.

Gamčík P. a kol. (1992): Andrológia a umelá inseminácia hospodárskych zvierat. Bratislava: Príroda Bratislava, 299s.

Ledeč M. a kol. (1981): Inseminácia hydiny. Bratislava: Príroda Bratislava, 109s.

Máchal L., Křivánek I. (2002): Indicators of semen quality of roosters of three parental layer lines and specific conductivity of the semen. Acta Veterinaria Brno 71: 109-116.

Máchal L., Kalová J., Juráň P., Jeřábek S. (1996): The dynamics of the relationship between ejaculate quality and cholesterol and total lipids concentration in the blood plasma in two lines of the cocks. Archiv fűr Tierzucht 39: 61-68.

Máchal L., Křivánek I., Kalová J., Jeřábek S. (1995): Between-lines difference of the relationships in ejaculate quality and volume in the cocks during the season. Živočišná výroba 40: 541-545.

Omeje S.S.I., Marire B.N. (1990): Evaluation of the semen characteristics of adult cocks of different genetic backgrounds. Theriogenelogy 34: 1111-1118.

Saacke R.G., Dalton J.C., Nadir S., Nebel R.L., Bame J.H (2000): Relationship of seminal traits and insemination time to fertilization rate and embryo quality. Animal Reproduction Science 60: 663-667.

Šmerha J. a kol. (1980): Reprodukce hospodářských zvířat I. VŠZ Brno, 270s.

Tůmová D., Jeřábek S. (2006): Reprodukce v chovech drůbeže. Náš chov 12: 82 – 83.