

FREQUENCY OF OCCURRENCE OF SPERM MORPHOLOGICAL CHANGES IN COCKS OF THREE INITIAL LAYING LINES

FREKVENCE VÝSKYTU MORFOLOGICKÝCH ZMĚN SPERMIÍ U KOHOUTŮ TŘÍ VÝCHOZÍCH SNÁŠKOVÝCH LINÍ

Švábová L., Máchal L.

Ústav chovu a šlechtění zvířat, Agronomická fakulta, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika.

E-mail: xsvabova@node.mendelu.cz, machal@mendelu.cz

ABSTRACT

Aim of the study was to estimate and to compare ejaculates of cocks of different initial laying lines and of different time of semen collection. We tested cocks of these three lines: Barred Plymouth Rock (BPR-03), Rhode Island Red (RIR-05) and Rhode Island White (RIW-06). It was chosen 63 cocks, thus 21 cocks from each line. Semen was collected in the poultry breeding farm Bantice a.s. We collected semen four time, in the age of 201, 249, 304 and 375 days. After collection we measured the volume of ejaculates and then we made morphology examination of sperms in the laboratory. We always examined 100 sperms from each preparation. We evaluated these sperms morphological changes: changes on head, changes on midpiece, changes on tail, occurrence of degenerated sperms, total number of sperms with morphological changes and normal sperms. Statistical evaluation was done by mean of statistical software SAS 9.1.3. where we used GLM method with fixed effects of cocks line and time of semen collections. Observed characteristics were formulated by LSM rate and standard deviation. We founded that influence of time of semen collection on the ejaculate volume was statistically non-significant. The second time of semen collection had statistically highly significant ($P \leq 0,01$) influence on the occurrence of sperms morphological abnormalities in ejaculate and it was 42,5 %. The most morphological changes were on tails, it was 30,4 %, and it was right at the second time of semen collection. The least sperms morphological changes were on the first time of semen collection and it was only 11,9 %. This rate was statistically highly significant ($P \leq 0,01$) and on other times of semen collection was higher occurrence of sperms abnormalities. Consequently it showed the influence of time of semen collection on the ejaculate characteristics. This was probably evoked by frequent semen collection and by high load of cocks in insemination. The highest ejaculate volume had cock line RIW-06, it was 0,66 ml and this rate was statistically significant ($P \leq 0,05$). Influence of cocks lines on the occurrence of sperm morphological changes was statistically non-significant. The most changes were on tails, line BPR-03 had 19,8 %, it was the most of all. This line had also the least statistically highly significant ($P \leq 0,01$) occurrence of degenerated sperms and it was only 0,7 %. On the basis of own results we can enunciate that cock line had not such influence on the ejaculate characteristics.

Key words: cock, ejaculate, sperm, morphological change, volume, head, midpiece, tail

ÚVOD

Chov drůbeže je vysoce rozvinuté odvětví živočišné výroby založené na produkci jatečné drůbeže a konzumních vajec. V souvislosti s celosvětovým rozvojem chovu jsou u nás uplatňovány vysoce výkonné hybridní kombinace drůbeže pro produkci masa a vajec využívající špičkového genofondu šlechtitelských firem (Šonka, 1997).

Klecové systémy využívané ve velkochovech eliminují používání přirozené plemenitby, proto se provádí umělá inseminace. Výhodou inseminace je snížení potřeby plemeníků, zamezení přenosu infekčních onemocnění, lepší využití kvalitních plemeníků a nižší ekonomické náklady na jejich chov. Podle Bajcsyho (1995) je nutné pro úspěšnou inseminaci sledovat kvalitativní a kvantitativní ukazatele ejakulátu a vybírat jedince, kteří produkují dostatečné množství ejakulátu v dobré kvalitě. Před inseminací je nutné provést vyšetření spermatu, aby bylo možné stanovit jeho fertilitu (Bajcsy, 1995). Důležitým kvantitativním ukazatelem ejakulátu je jeho objem, který je odvislý od plemene, věku, hmotnosti, způsobu a četnosti odběru semene, krmení, ošetřování a zdravotního stavu. Barth a Oko (1989) uvádí, že zjišťování počtu abnormálních spermií při morfologickém vyšetření hraje důležitou roli pro stanovení fertility (Barth a Oko, 1989). Vyšší procento výskytu morfologicky změněných spermií může mít za následek poruchy plodnosti (Saacke, 2000). Většina defektních spermií vzniká již v procesu spermatogeneze v důsledku degenerativních změn zárodečného epitelu.

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. Spermie savců dozrávají v nadvarleti a spermie drůbeže dozrávají v semenovodu (Ledeč *et al.*, 1981). Samčí pohlavní buňka domácích ptáků je dlouhá, cylindrická a na obou koncích zúžená (Etches, 2000). Je tvořena hlavičkou, kde je uloženo samčí prvojádro, a je vybavena hrotem, který umožňuje spermii pronikání žloutkovou blanou. Na hlavičku je napojen bičík, který začíná spojovací částí a pokračuje dlouhým úzkým bičíkem s nitkovitým zakončením (Lazar, 1986). Délka spermie u kohouta je asi 100 μ m a šířka je 0,5 μ m. Aviární ejakulát obsahuje málo semenné plazmy a proto je semeno husté (Etches, 2000).

MATERIÁL A METODIKA

K experimentu byli použiti kohouti tří výchozích snáškových linií – Rhode Island Red (linie RIR-05), Rhode Island White (linie RIW-06) Barred Plymouth Rock (linie BPR-03). Tyto linie jsou využívány pro tvorbu finálních hybridních kombinací Moravia. Odběry ejakulátu proběhly ve šlechtitelském a rozmnožovacím chovu drůbeže Integra a.s. v Banticích.

Chov byl v roce 1980 převeden do klecové technologie. Po vylíhnutí byli všichni kohouti označeni rodokmenovými značkami a umístěni v odchovně. Ve věku 16 týdnů byli kohouti přemístěni do klecových technologií pro dospělé kohouty, kde byli umístěni nejdříve

po dvou a později individuálně. Krmení je zde prováděno pomocí řetězového krmítka a je kvantitativně restringované na 120 g krmné směsi na kus a den. Napájení je zajištěno kapátkovými napaječkami. Odklizení výkalů je zabezpečováno shrnovací lopatou. Světelný režim je maximálně 12 hodin nepřetržitého svitu.

Pro odběry ejakulátu bylo vybráno 63 kohoutů, vždy 21 kohoutů z každé snáškové linie. Celkem byly uskutečněny čtyři odběry ejakulátu. První ejakuláty byly získány od kohoutů ve věku 201 dní. Ve druhém odběru bylo hodnoceno pouze 59 kohoutů ve věku 249 dní (20 kohoutů linie RIR-05, 18 kohoutů linie RIW-06 a 21 kohoutů linie BPR-03). Ve třetím odběru jsme hodnotili 54 kohoutů ve věku 304 dní (17 kohoutů linie RIR-05, 20 kohoutů linie RIW-06 a 17 kohoutů linie BPR-03). Ze čtvrtého odběru bylo hodnoceno pouze 53 kohoutů ve věku 375 dní (17 kohoutů linie RIR-05, 20 kohoutů linie RIW-06 a 16 kohoutů linie BPR-03). Celkem bylo tedy získáno 229 ejakulátů. Počet odebíraných kohoutů se postupně snižoval. Tento fakt byl způsoben prodejem kohoutů či úhynem nebo se v daném dni odběru nepodařilo ejakulát získat.

Odběry ejakulátu byly provedeny dorso-abdominální masáží. Objem ejakulátu byl stanoven pomocí kalibrační pipety bezprostředně po odběru. Morfologické změny spermií byly hodnoceny v laboratoři oddělení reprodukce hospodářských zvířat. Sperma bylo naředěno 0,5% roztokem NaCl v poměru 1:4. Z naředěného ejakulátu se zhotovil nátěr na podložní sklíčko a preparáty byly posléze obarveny metodou dle Bydgoště. Fixace nátěru byla provedena v 96% roztoku ethanolu a preparát byl dále barven v 1% roztoku eosinu a nakonec v barvivo Bydgošť (složení barviva Bydgošť: 0,20 g methylenové modři, 0,75 g gencianové violeti, 5 ml glycerolu a 100 ml vody). Hotové preparáty byly mikroskopicky posouzeny při tisícinásobném zvětšení za použití olejové imerze. Na každém preparátu bylo zhodnoceno 100 spermií a posuzovaly se tyto morfologické změny: vývojové anomálie a degenerované spermie, změny na hlavičce, změny na spojovací části a změny na bičíku. Z těchto změn byl procenticky vyjádřen výskyt všech morfologických změn a procento normálních spermií. Mezi změny na hlavičce byly řazeny malé či velké hlavičky, hlavičky stočené, zakřivené nebo chybějící. Změny na spojovací části měly zúženou, ztlustělou či zkroucenou podobu. Na bičíku se hodnotilo jeho svinutí, ohnutí či torze anebo chybějící bičík. Za degenerované byly považovány spermie s vývojovými abnormalitami.

Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí počítačového programu SAS 9.1.3. metodou GLM s pevnými efekty linie kohoutů a termíny odběrů ejakulátů. Sledované charakteristiky byly vyjádřeny hodnotou LSM a směrodatnou odchylkou.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Vliv pořadí odběrů na objem ejakulátu je uveden v tabulce č. 1. Objem ejakulátu získaný od kohoutů při prvním odběru ve věku 201 dní byl nejnižší a činil 0,52 ml, směrodatná odchylka byla 0,16. Objem ejakulátu ve věku kohoutů 304 dní ve třetím odběru byl nejvyšší a činil 0,59 ml, směrodatná odchylka byla 0,19. Vliv pořadí odběrů na objem ejakulátu byl statisticky neprůkazný. Máchal a Křivánek (2002) uvádí, že průměrný objem linií kohoutů BPR, RIR a RIW se pohyboval od 0,20 ml do 0,62 ml a při odběru ejakulátu

ve 143. dni věku kohoutů byl objem nejnižší, při posledním uskutečněném odběru v 240 dnech byl objem výrazně vyšší. Znamená to, že se objem se zvyšujícím se věkem kohoutů zvyšoval. Můžeme říci, že tento fakt se potvrdil i v našem sledování, i když zvýšení bylo jen málo patrné a v posledním odběru došlo dokonce k mírnému snížení objemu ejakulátu. Toto snížení bylo zřejmě způsobeno vyšší vyčerpaností kohoutů, protože poslední odběr byl uskutečněn již v poměrně vysokém věku kohoutů a to ve věku 375 dní.

Vliv pořadí odběrů na zastoupení morfologicky změněných spermií v ejakulátu spolu se statistickým vyhodnocením je uveden v tabulce č. 1. Nejvyšší výskyt patomorfologických změn spermií byl zaznamenán ve druhém odběru, ve věku 249 dní, což bylo 42,5 % a tato hodnota byla statisticky vysoce průkazná ($P \leq 0,01$), směrodatná odchylka byla 7,52. Tento vysoký výskyt morfologických vad spermií se téměř shoduje se zjištěním Omejeho a Marireho (1990), kteří jako nejvyšší výskyt u zkoumaného nosného plemene kohouta uvádějí ještě o něco vyšší hodnoty a sice 48 % morfologicky abnormálních spermií. Naopak nejnižší statisticky vysoce průkazná ($P \leq 0,01$) hodnota výskytu morfologických změn spermií byla 11,9 % v prvním odběru ejakulátu, ve věku kohoutů 204 dní. Omeje a Marire (1990) uvádějí jako nejnižší výskyt morfologických defektů 22 % u nosného plemene kohouta. Nejvíce morfologických změn se vyskytovalo v utváření bičíku ve druhém odběru ejakulátu a bylo to 30,4 %, směrodatná odchylka byla 6,49. Tato hodnota byla statisticky vysoce průkazně ($P \leq 0,01$) nejvyšší ze všech čtyř odběrů. Toto zjištění se liší s tím, co uvádí Alkan *et al.* (2002), který zjistil nejvíce morfologických defektů v utváření spojovací části a akrozómu. Nejméně, tedy 0,9 %, bylo spermií s vývojovými anomáliemi a spermií degenerovaných ve čtvrtém odběru ejakulátu, ve věku 375 dní. Tato hodnota byla statisticky vysoce průkazná ($P \leq 0,01$). Směrodatná odchylka byla 1,08.

Tab. 1 Vliv odběrů (1., 2., 3. a 4.) na objem ejakulátu a procentické zastoupení morfologicky změněných spermií v ejakulátu

Odběr věk	LSM s_x	Objem ejak. [ml]	Hlavička	Spoj. část	Bičík	Vývoj. anomálie, degen.	Změny celkem	Normální spermie
1. odběr 201 dní	LSM s_x	0,52 0,16	2,6^{BD} 2,41	0,9^{BCD} 1,07	4,9^{BCD} 3,24	3,5^{BCD} 4,50	11,9^{BCD} 6,68	88,1^{BCD} 12,77
2. odběr 249 dní	LSM s_x	0,58 0,19	1,3^{ACD} 1,27	8,7^A 2,79	30,4^{ACD} 6,49	2,1^{AcD} 2,38	42,5^{ACD} 7,52	57,5^{ACD} 7,52
3. odběr 304 dní	LSM s_x	0,59 0,19	2,7^{BD} 2,76	7,8^A 3,85	19,9^{AB} 8,23	1,0^{Ab} 1,05	31,3^{ABd} 11,27	66,7^{AB} 13,88
4. odběr 375 dní	LSM s_x	0,56 0,19	4,1^{ABC} 3,65	7,9^A 3,69	22,0^{AB} 7,27	0,9^{Ab} 1,08	34,9^{ABc} 8,77	65,1^{AB} 8,77

a,b,c,d – mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$)
A,B,C,D – mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$)

Vliv linií kohoutů BPR-03, RIR-05 a RIW-06 na objem ejakulátu je uveden v tabulce č. 2. Nejvyšší objem ejakulátu, 0,66 ml, byl zjištěn u linie RIW-06 a směrodatná odchylka byla 0,20. Tato hodnota byla statisticky průkazně nejvyšší ($P \leq 0,05$). U linie RIR-05 byl objem ejakulátu nižší a to 0,52 ml, směrodatná odchylka byla 0,17 a u linie BPR-03 byl objem nejnižší a to 0,51 ml, směrodatná odchylka byla 0,14. Mezi liniemi RIR-05 a BPR-03 nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v objemu ejakulátu. Máchal *et. al.* (1995) uvádí objem u linie kohoutů RIR v rozmezí od 0,49 ml do 0,80 ml a u linie BPR 0,16 ml až 0,63 ml. Tyto hodnoty jsou téměř shodné s námi zjištěnými výsledky, kdy objem ejakulátu u linie BPR-03 byl o něco nižší než u linie RIR-05.

Vliv linií kohoutů BPR-03, RIR-05 a RIW-06 na výskyt morfologických změn spermií v ejakulátu spolu se statistickým zhodnocením je uveden v tabulce č. 2. Vysoce statisticky průkazně ($P \leq 0,01$) nejnižší výskyt morfologicky změněných hlaviček spermií byl zjištěn v ejakulátech u linie kohoutů BPR-03 a bylo to pouze 1,7 % a směrodatná odchylka byla 1,87. Vliv linií kohoutů na procentické zastoupení patomorfologických spojovacích částí spermií byl statisticky neprůkazný. Stejně tak byl zjištěn statisticky neprůkazný rozdíl ve výskytu morfologicky změněných bičíků spermií u jednotlivých linií kohoutů, kdy vad na bičících bylo nejvíce ze všech pozorovaných morfologických změn a pohybovaly se od 17,6 % u linie RIR-05, směrodatná odchylka byla 12,12, do 19,8 % u linie BPR-03, směrodatná odchylka byla 10,72. Nejvyšší statisticky vysoce průkazný ($P \leq 0,01$) výskyt degenerovaných spermií a spermií s vývojovými anomáliemi byl zjištěn u linie kohoutů RIR-05 a to 3,7 %, směrodatná odchylka byla 4,31, naopak nejméně degenerovaných spermií a spermií s vývojovými anomáliemi bylo zjištěno u linie BPR-03 a to 0,7 %, směrodatná odchylka byla 0,76. Výskyt všech morfologických změn spermií v ejakulátech kohoutů linie BPR-03, RIR-05 a RIW-06 se výrazně nelišil a nebyl zde zjištěn statisticky průkazný rozdíl. Bah *et al.* (2001) zjistil 11,6 % abnormálních spermií v ejakulátech Nigerijských kohoutů, což je výrazně nižší hodnota než u kohoutů námi prověřovaných linií.

Tab. 2 Vliv linií kohoutů (BPR-03, RIR-05 a RIW-06) na objem ejakulátu a procentické zastoupení morfologicky změněných spermií v ejakulátu

Linie	LSM _{s_x}	Objem ejak. [ml]	Hlavička	Spoj. část	Bičík	Vývoj. anomálie, degen.	Změny celkem	Normální spermie
BPR - 03	LSM	0,51^c	1,7^{BC}	5,7	19,8	0,7^B	28,0	72,0
	s _x	0,14	1,87	4,25	10,72	0,76	14,07	14,07
RIR - 05	LSM	0,52^c	3,1^A	6,9	17,6	3,7^{AC}	31,6	68,4
	s _x	0,17	2,94	4,71	12,12	4,31	14,42	17,65
RIW - 06	LSM	0,66^{ab}	3,1^A	5,9	19,4	1,4^B	29,9	70,1
	s _x	0,20	3,16	4,20	11,48	1,57	14,52	14,52

a,b,c,d – mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly prokázány statisticky průkazné rozdíly ($P \leq 0,05$)
A,B,C,D – mezi hodnotami ve sloupcích s různými písmeny byly prokázány statisticky vysoce průkazné rozdíly ($P \leq 0,01$)

ZÁVĚR

Cílem pokusu bylo zjistit, jaký má vliv pořadí odběrů ejakulátu a příslušnost určité linie kohoutů na kvalitu ejakulátu. Posuzován byl objem ejakulátu a výskyt morfologických defektů spermií v ejakulátu. Na základě zjištěných výsledků můžeme konstatovat, že objem ejakulátu se mírně zvyšoval se zvyšujícím se věkem kohoutů, přičemž při posledním odběru došlo sice k mírnému snížení objemu, ale tento fakt byl zřejmě způsoben vyšší vyčerpaností kohoutů, protože poslední odběr byl uskutečněn již v poměrně vysokém věku kohoutů a to ve věku 375 dní. Statisticky průkazně nejvyšší objem byl u linie kohoutů RIW-06. Výskyt morfologických vad spermií se v jednotlivých odběrech výrazně lišil a byla zde prokázána statisticky vysoká průkaznost ($P \leq 0,01$). Nejméně abnormalit bylo zjištěno při prvním odběru ejakulátů, v ostatních odběrech byl potvrzen výrazně vyšší výskyt defektů spermií, což bylo pravděpodobně způsobeno příliš vysokým zatížením kohoutů v inseminaci. U jednotlivých linií kohoutů byl výskyt všech morfologických změn velmi podobný a nebyla zde zjištěna statistická průkaznost. Obecně lze říci, že nejlepší ejakulát byl zjištěn u linie BPR-03, protože zde bylo nejméně morfologických změn spermií. Nejvíce defektů se vyskytovalo na bičících spermiích, naopak nejmenší byl výskyt vývojových anomálií a degenerovaných spermií.

LITERATURA

- Alkan S., Baran A., Ozdas O.B., Evecen M. (2002): Morphological defects in Turkey semen. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences 26 (5): 1087-1092.
- Bajcsy E. (1995): Practice of the artificial-insemination in the poultry farming of Babolna Hungary. Magyar Allatorvosok Lapja 50 (6): 340-342.
- Bah G.S., Chaudhari S.U.R., Al-Amin J.D. (2001): Semen characteristics of local breeder cocks in the Sahel region of Nigeria. Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux 54 (2): 153-158.
- 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.
- Lazar V. (1986): Chov drůbeže. VŠZ Brno, 190s.
- Ledeč M. *et al.* (1981): Inseminácia hydiny. 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 (1): 109-116.
- 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 (12): 541-545.
- Omeje S.S.I., Marire B.N. (1990): Evaluation of the semen characteristics of adult cocks of different genetic backgrounds. Theriogenology 34 (6): 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.
- Šonka F. (1997): Chov a výkrm drůbeže v drobných chovech. České Budějovice: Dona, 135s.