

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



A HŐKEZELÉS HATÁSA HÍMIVARÚ BAROMFIFÉLÉK SPERMATOLÓGIAI MUTATÓIRA

Végi Barbara, Váradi Éva, Szabó Zsuzsanna, Ferencziné Szőke Zsuzsanna, Kőrösiné Molnár Andrea, Barna Judit

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Baromfi Szaporodásbiológiai Laboratórium
2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.
vbarbus@katki.hu

Összefoglalás

Kísérletünkben a fiatalkori hőkezelés hatását vizsgáltuk hímivarú baromfifélék spermatológiai paramétereire, landes-i típusú gunarakban, pekingi gácsérokban, valamint *Cobb* szülőpár kakasokban. A gunarak hőkezelése 4 napos korukban 38,5 °C-on, 24 órán keresztül történt, a gácséroké 24 órás korukban 40-41 °C-on, szintén 24 órán keresztül. A *Cobb* kakasok hőkezelése két csoportban zajlott, az egyik fele 3 napos korában, a másik pedig 5 napos korában kapott hőkezelést 38,5 °C-on 12 órán keresztül. Az ivaréret követően fajtánként és csoportonként 10-10 állatot egyedi ketrecekben helyeztünk el és hetente 2-szer vettünk ondót két hónapon keresztül. A spermiumok koncentrációját fotométerrel határozzuk meg, amelyhez előzőleg az optikai denzitás mértékéhez igazított tényleges sejtszámmal egy standard görbét határoztunk meg. A spermiumok motilitását egy 0-5 terjedő skálán szubjektív pontozással határozzuk meg. A spermiumok membrán-integritásának (élő/holt sejtarány), valamint morfológiai rendellenességeinek vizsgálatához *anilin-eozin* festés alkalmazásával keneteket készítettünk és mikroszkóppal, olajimmerzió alatt határoztuk meg az egyes rendellenes sejtípusok, valamint az elhalt sejtek %-os arányát 200-200 sejt vizsgálatával. A statisztikai értékelést a Statistica 7.0 program Mann-Whitney tesztjével végeztük el. A gunarak ondó mennyiségében szignifikáns ($p < 0,01$) különbséget találtunk a hőkezelt és a kontroll csoport között a hőkezelték javára (0.12 vs. 0.36 ml l). A pozitív hatás a gunarak ondótermelő képességében nyilvánult meg, ugyanis szignifikánsan nagyobb mennyiségű és - a vizsgálat első felében - statisztikailag igazolhatóan magasabb koncentrációjú ondót nyertünk (0.71 vs. 0.84 millió/mikroliter, $p < 0,01$), ami összességében nagyobb spermium termelést eredményezett. Az egyéb sperma-paraméterek nem tértek el a kontroll csoporttól. Gácsérokban a hőkezelt csoport ondójának főbb értékei szignifikánsan ($p < 0,01$) meghaladták a kontroll csoport értékeit (mennyiség, koncentráció és élő-ép sejtarány). Tehát a hőkezelés a gácsérokban is pozitív hatású volt. Kakasok esetében három csoportban végeztük a vizsgálatokat. Az eredményeket tekintve a két hőkezelt csoport paramétereiben nem találtunk különbséget. A kontroll csoport a spermiumok koncentrációjában és az élő-ép sejtek arányában szignifikánsan felülmúlta ($p < 0,01$) mindkét hőkezelt csoportot, tehát ennél a fajnál nem volt kimutatható a hőkezelés pozitív hatása. Az eredményeket értékelve megállapítható, hogy *kakasok* esetében, a várakozással ellentétben, a preventív hőkezelések nem javítottak, hanem rontottak a spermatológiai mutatókon a kontroll mintákhoz képest. A preventív hőkezelés a *gácsérok* ondótermelő képességére és ondóminőségére egyértelműen pozitívan hatott, amely nagyobb mennyiségű, magasabb koncentrációjú spermiumtermelésben nyilvánult meg, ahol az élő, normális - tehát a termékenyítésben ténylegesen résztvevő - spermiumok aránya is magasabb volt. Úgy tűnik, hogy a korai hőkezelésre a gácsérok - a spermiumtermelés szempontjából - jobban reagáltak, mint a gunarak. A továbbiakban tisztázandó, hogy ez a magasabb hőterhelésnek (40-41°C), vagy a neuro-endokrin szabályozás faji sajátosságainak köszönhető.

Kulcsszavak: hőkezelés, spermatológiai mutatók, baromfi



Effect of heat treatment on sperm traits of various poultry species

Abstract

The aim of the study was to investigate the effect of early heat treatment on sperm traits of goose, duck and domestic fowl. Treatments were performed at 38.5°C for 24 hours at the age of 4 days in ganders, 40-41°C for 24 hours at day old drakes and 38.5°C for 12 hours in two groups of *Cobb* males either at the age of 3 or 5 days.

Semen of 10-10 males of each group were collected twice weekly for 2 months. The sperm volumes, concentration, motility, and rates of live/dead and morphologically abnormal cells were determined. In *ganders*, significantly higher sperm volumes and concentration were found in the treated group compared to control ones.

The other sperm traits did not differ from those of control group. Consequently, during the whole experimental period a higher sperm production could be determined. In *drakes*, the principal sperm parameters (volume, concentration, live/dead cell ratio) were also significantly higher in the heat treated group than in control. The higher rate of secondary sperm abnormalities in control group indicates a lower tolerance of spermatozoa against *in vitro* manipulations. Consequently, the early heat treatment had a positive effect on drakes' semen too. In domestic fowl there were no significant differences between the sperm traits of the two heat treated groups. Moreover, the concentration and the rate of live, morphologically normal spermatozoa in control group significantly surpassed the values of treated group. Thus, in this species there could not be shown a positive effect of early heat treatment.

Keywords: heat treatment, sperm characteristics, poultry

Irodalmi áttekintés

Az egész Földet érintő általános felmelegedés hatására Magyarországon is szélsőségesen meleg és száraz nyarakat regisztráltak az elmúlt 15, de különösen az elmúlt 5 esztendőben. A magas környezeti hőmérséklet szoros kapcsolatban áll gazdasági állataink, köztük a baromfik termelési mutatóival. Igazolt, hogy a baromfi esetében az optimálisnál magasabb környezeti hőmérséklet stresszorként hat, és ezáltal csökkenti a termelési paramétereket.

A gyors növekedési potenciállal rendelkező brojlercsirkék több hőt termelnek, így magas környezeti hőmérséklet esetén sokkal nehezebben adják le a hőfelesleget, amely megnövekedett testhőmérséklethez és lecsökkent termelőképeséghez vezet (*Cahaner és Leenstra, 1992*).

Közismert a hőstressz hatása a konkrétan a termékenység csökkentésére is (*Freeman, 1983*). Korábbi vizsgálatok szerint a termékenység csökkenése a lúdnál kisebb mértékű, mint a házityúknál, illetve a könnyebb fajtáknál is kevésbé kifejezett, mint a nehezebbeknél. A hímivarú állatok - akár 50 %-kal - csökkent spermatermelésének és párzási aktivitásának tulajdonítják a rosszabb termékenységet (*Avanzi és Mori, 1983*). *Hood (1999)* azt tapasztalta, hogy hőstressz hatására nőtt az elhalt spermiumok aránya és csökkent a sperma minőségi index (SQI).



McDaniel és munkatársai (1995) úgy találták, hogy azoknál a tojóknál, amelyeket hőstresszelt kakasok spermájával termékenyítettek, 54 %-kal csökkent a spermium-pete interakció azokhoz a tojásokhoz viszonyítva, amelyek normál körülmények között tartott kakasok spermájával termékenyített tojóktól származtak (Hood, 1999).

A fiatal korban végzett hőkezelési technika javítja egyes baromfifajok meleggel szembeni tűrőképességét. Mivel a napos korú állatok esetében még nem teljesen fejlett a hőszabályozási visszacsatoló mechanizmus, a hőkezelés egyfajta hosszú távú „memória” kialakulását indukálhatja, melynek részeként a madár kevésbé reagál a káros hőstresszre az élete későbbi szakaszában (Yahav és Hurwitz, 1996).

Vizsgálataink célja annak tisztázása, hogy a napos korban történő preventív hőkezelés hatással van-e a hímivarú baromfifajok (házityúk, lúd, kacsa) spermatológiai paramétereinek alakulására a nyári „hőterhelt” termelési ciklusban

Anyag és módszer

Hőkezelések

1. A vizsgálatok egyik részét Cobb fajtájú szülőpár kakasokon végeztük. A hőkezelés két csoportban történt. A kakasok egy része 3 napos korában (H1 kakas), egy másik része, pedig 5 napos korában (H2 kakas) kapott 38,5°C-kos hőkezelést 12 órán keresztül, míg a kontroll csoport kakasai (K kakas) nem kaptak hőkezelést. A hőkezeléshez a keltetőgépet 38,5°C hőmérsékletre fűtöttük 60-70 % páratartalom biztosításával. Az állatok ez idő alatt *ad libitum* kapták a takarmányt és az ivóvizet, folyamatos megvilágítás és megfigyelés mellett.

A spermatológiai vizsgálatokba minden felnevelt csoportból (H1 kakas, H2 kakas, K kakas) 10-10 kakast vontunk be a 32. élethétől a 41. élethétig. Az állatokat zárt istállóban, egyedi, mélyalmos ketrecekben helyeztük el, a fajta technológiai előírásainak megfelelő körülmények között.

2. A landesi gunarak hőkezelése 4 napos korukban (H lúd) szintén 38,5°C-kon, de 24 órán keresztül történt erre a célra kialakított kabinban, teljes megvilágítás mellett. Az állatok *ad libitum* juthattak takarmányhoz és ivóvízhez. A kontroll csoport (K lúd) nem kapott hőkezelést.

Az ondó minősítéséhez a hőkezelésen átesett (H lúd), illetve hőkezelés nélküli (K lúd) 1 éves, 10-10 szürke landes-i fajtájú gunarat nyári termelési ciklusuk kezdetén egyedi ketrecekben helyeztünk el, zárt ólban, 11L – 13D 80 lux mesterséges megvilágítás mellett. Az ondóminősítést két hónapon keresztül végeztük.



3. A Szarvasi K 94 fajtájú gácsérok hőkezelése a Szarvasi Kacsafarm Kht. kacsatelepén történt. A gácsérok 1 napos korukban 40-41°C-os hőmérsékleten, 24 órán keresztül kaptak hőkezelést (H kacs) keltetőgépben. Ezen idő alatt *ad libitum* kapták a takarmányt és az ivóvizet, folyamatos megvilágítás és megfigyelés mellett.

A spermatológiai vizsgálatokhoz, hasonlóan az előzőekhez, a hőkezelésben részesült (H kacs) és kontroll (K kacs) 1 éves, 10-10 db gácsért a nyári ciklusban egyedi ketrecekben helyeztük el, zárt, ablakos istállóban, ahol a természetes fényt mesterséges megvilágítással egészítettük ki 16 órára, 80 lux erősséggel.

Spermatológiai vizsgálatok

Minden faj kísérletbe vont egyedeit, letelepítésük után, 1 hétig zavarásmentesen, a mesterséges, zárt környezethez szoktattuk.

Az ondóvétel előzetes kéthetes trenírozást követően *Burrows és Quinn (1937)* dorso-abdominális masszázsmódszerének a faji adottságokhoz módosított változatával történt, heti 2 alkalommal.

A minősítéshez vizsgált paraméterek:

- *Mennyiség* / ml
- *Motilitás*: szubjektív becsléssel 0-5-ig terjedő skálán (mindig ugyanaz a gyakorlott személy) Zeiss fénymikroszkóp, 40x nagyítás

A motilitás-vizsgálatokat a spermagyűjtés után azonnal, melegített tárgylemezen, melegített fedőlemez alatt végeztük.

- *Koncentráció*: Accucell (IMV, Franciaország) spektrofotométer használata
- *Morfológiai rendellenességek*: eozin-anilinnal festett kenetben
- *Élő/holt sejtarány*: membrán-permeabilitáson alapuló vitális festés (eozin-anilin).

A festett keneteket szintén közvetlenül a spermavétel után, az istállóban készítettük el, majd később, a szaporodásbiológiai laboratóriumban Leitz- mikroszkóppal olajimmerzió alatt bíráltuk el.

Statisztikai analízis

Az adatok statisztikai feldolgozásához *Mann-Whitney tesztet* használtunk (Statistica, Version 7.0). Kakasoknál összesen 30 egyed 10 spermavételének 300 adatából, lúdnál 20 egyed 14 spermavételének 280 adatából, míg kacsánál 20 egyed 18 spermavételének 360 adatából végeztük a feldolgozást.



Eredmények és értékelés

Kakasokkal végzett vizsgálatok

A kakasok esetében sem az ondómenyiségben (1. ábra) (0.17 ml vs. 0.16 ml vs. 0.16 ml), sem a sejtek motilitásában (2. ábra) nem találtunk különbséget a csoportok között (4.02 vs. 3.82 vs. 3.78). A kontroll csoport nagyobb mennyiségei a nagy szórás miatt nem bizonyultak szignifikánsnak. A spermiumkoncentrációt (3. ábra) (4. 71 vs. 3.14 vs. 3.03 millió/mikroliter), valamint az élő, ép morfológiájú sejtek arányát (74.72% vs. 62.45% vs. 66.09%) (5. ábra) illetően a kontroll kakasok szignifikánsan ($p \leq 0,01$) jobbak voltak a kísérleti csoportoknál, a két hőkezelt csoport kakasi között viszont nem volt kimutatható különbség. Érdekes módon a rendellenes sejtek aránya (6. ábra) a H2 kakas csoport kakasainál (18.51%) volt szignifikánsan ($p \leq 0,01$) a legmagasabb, míg a holt sejtek aránya (7. ábra) a H1 kakas csoportnál (21.41%) ($p \leq 0,05$). Tehát ezekben a paraméterekben is a kontroll kakasok spermája bizonyult jobbnak.

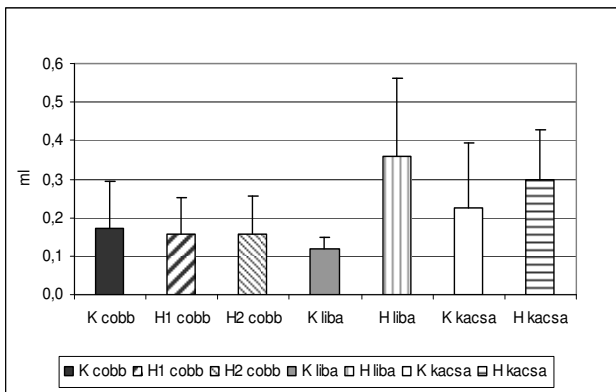
Gunarakkal végzett vizsgálatok

A 1. ábrán a két gúnárcsoporttól vett ondóminták mennyiségének átlagértékeit hasonlítottuk össze, ahol a hőkezelt csoport javára szignifikánsan ($p \leq 0,01$) magasabb értékeket kaptunk (0.12 vs. 0.36 ml). A spermiumok motilitásában (2. ábra) azonban nem volt szignifikáns különbség a két csoport egyedei között (1.8 vs. 1.96), jöllehet a hőkezelt csoportban a spermiumok valamivel élénkebben mozogtak. A spermiumkoncentrációk (3. ábra) értékeiben a teljes vizsgált időszak átlagában szintén nem lehetett statisztikailag igazolható különbséget kimutatni a csoportok egyedei között (0.73 vs. 0.79 millió/mikroliter), azonban, ha a vizsgált időszakot két részre bontjuk (4. ábra), kitűnik, hogy a hőkezelt csoport gunarai a vizsgált időszak első felében magasabb koncentrációban ($p \leq 0,01$) adtak spermát (0.71 vs. 0.84 millió/mikroliter), mint a kezeletlen kontroll állatok. Az 5. és 7. ábrából egyértelműen kitűnik, hogy sem az élő, ép spermiumok (53.16% vs. 51.5%), sem az elhalt sejtek arányában (20.03% vs 19.96%) nem volt kimutatható különbség a csoportok egyedei között, azaz az élő/holt sejt arányt a hőkezelés nem tudta befolyásolni. A fennmaradó, kb. 30% sejtarányhoz a különböző spermiumanomáliák tartoznak. A 6. ábrán látható, hogy a spermiumrendellenesség tekintetében sincs különbség a csoportok egyedei között, jöllehet a hőkezelt csoportnál valamivel magasabb arányban találtunk rendellenes sejteket.

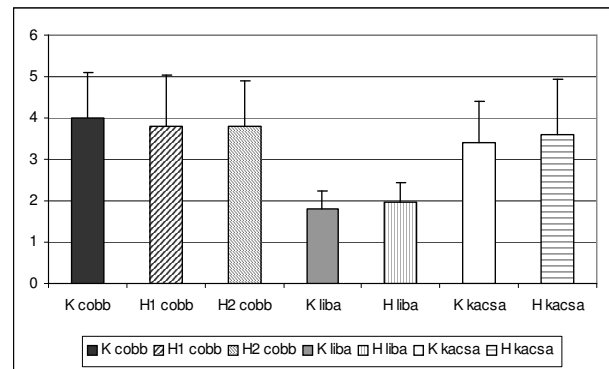


Gácsérokkal végzett vizsgálatok

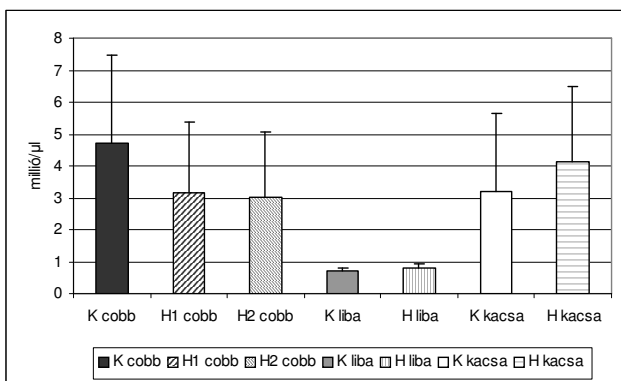
Az 1. ábrán a két gácsércsoporttól vett ondóminták mennyiségének átlagértékeit hasonlítottuk össze, ahol a hőkezelt csoport javára szignifikánsan ($p \leq 0,01$) magasabb értékeket kaptunk (0.23 vs. 0.30 ml). A spermiumok motilitásában (2. ábra) nem volt szignifikáns különbség a két csoport egyedei között (3.38 vs 3.61), jóllehet a hőkezelt csoportban a spermiumok mozgása valamivel itt is jobbnak bizonyult. A hőkezelt csoport gácsérjai szignifikánsan ($p \leq 0,01$) magasabb koncentrációban (3.19 vs. 4.11 millió/mikroliter) adtak spermát (3. ábra), mint a kezeletlen kontroll állatok, valamint az élő, ép morfológiájú sejtek aránya (57.04% vs. 64.43%) is szignifikánsan jobbnak bizonyult a hőkezelt gácsérok ondójában (5. ábra). Sem a rendellenes (6. ábra), sem az elhalt sejtek arányában (7. ábra) nem találtunk statisztikailag igazolható különbséget a két csoport ondója között.



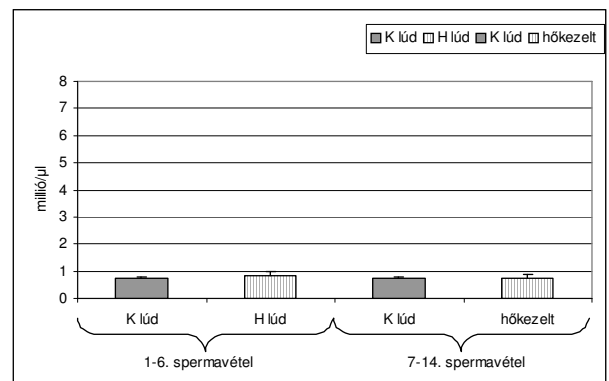
1. ábra: Átlagos ondómennyiség a három fajban
Figure 1. Means of sperm volumes in the 3 poultry species



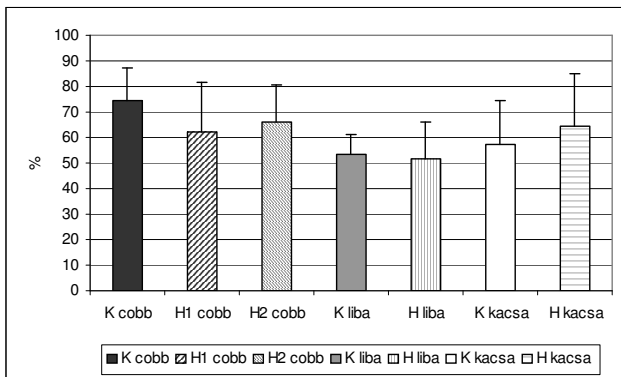
2. ábra: A spermiumok motilitása a három fajban
Figure 2. Motility of spermatozoa in the 3 poultry species



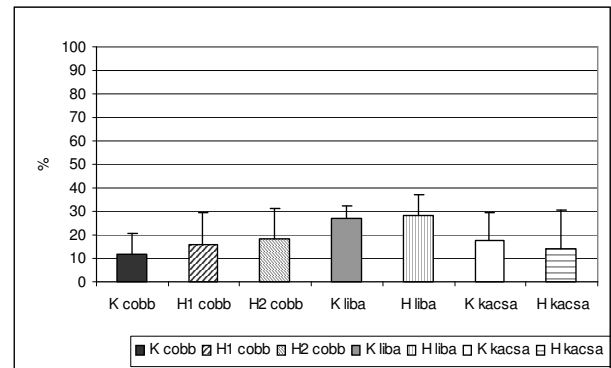
3. ábra: A spermium-koncentráció a három fajban
Figure 3. Concentrations of spermatozoa in the 3 poultry species



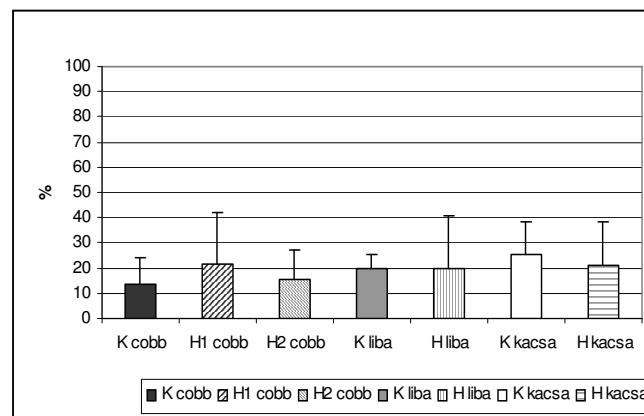
4. ábra: A spermium-koncentráció lúdban
Figure 4. Concentration of spermatozoa in gander semen



5. ábra: Élő, ép spermiumok aránya a három fajban
Figure 5. Ratios of live, intact spermatozoa in the 3 poultry species



6. ábra: Élő, rendellenes morfológiájú spermiumok aránya a három fajban
Figure 6. Ratios of live abnormal spermatozoa in the 3 poultry species



7. ábra: Elhalt spermiumok aránya a három fajban
Figure 7. Ratios of dead spermatozoa in the 3 poultry species

Következtetések és javaslatok

Az eredményeket értékelve megállapítható, hogy *kakasok* esetében, a várakozással ellentétben, a preventív hőkezelések nem javítottak, hanem rontottak a spermatólogiai mutatókon a kontroll mintákhoz képest. Ez a kisebb sejt-koncentrációban, az alacsonyabb élő, ép morfológiájú és a magasabb rendellenes és holt sejtarányban nyilvánult meg. A kétféle hőkezelés csak a rendellenes és holt sejtarányban mutatott különbséget a két kísérleti csoportban, egyébként a többi mutatóban teljesen azonos értéken voltak.



Ezzel szemben a hőkezelés a nyári ciklus vizsgált időszakában a *gunarak* ondótermelő képességére pozitívan hatott, amely nagyobb mennyiségű, bár a kontrollal azonos koncentrációjú spermatermelésben nyilvánult meg, ami a kontroll csoporthoz képest egyértelműen nagyobb spermium-produkciót eredményezett. Mivel az egyéb spermatológiai paraméterben nem volt különbség a két csoport között, így összességében a termékenyítésben részt vevő élő, ép spermiumok mennyisége is nagyobb volt a hőkezelt csoportban.

A preventív hőkezelés a *gácsérok* ondótermelő képességére és ondóminőségére egyértelműen pozitívan hatott, amely nagyobb mennyiségű, magasabb koncentrációjú spermatermelésben nyilvánult meg, ahol az élő, normális – tehát a termékenyítésben ténylegesen résztvevő – spermiumok aránya is magasabb volt. Úgy tűnik, hogy a korai hőkezelésre a gácsérok – a spermatermelés szempontjából – jobban reagáltak, mint a *gunarak*. A továbbiakban tisztázandó, hogy ez a magasabb hőterhelésnek (40-41°C), vagy a neuro-endokrin szabályozás faji sajátosságainak köszönhető.

Irodalomjegyzék

- Avanzi C.F. és Mori B.* (1983): Influenza dei fattori climatici sulla fertilità e sulla schiusa dell' anatra mishiata. Riv. Avic. Bologna., 52. 25-27.
- Cahaner A., Leenstra F.* (1992): Effects of high temperature on growth and efficiency of male and female broilers from lines selected for high weight gain, favorable food conversion and high or low fat content. Poultry Sci., 71. 1237-1250.
- Freeman B.M.* (1983): Body temperature and thermoregulation. In: Freeman (ed) Physiology and biochemistry of the Domestic Fowl. Academic Press. London 4. 1115-1145.
- Hood J.E.* (1999): An attempt at alleviating heat stress infertility in male broiler breeder chickens with dietary ascorbic acid. MS Thesis. Mississippi State University, MS.
- McDaniel C.D., Bramwell R.K., Wilson J.L. és Howarth Jr. B.* (1995): Fertility of male and female broiler breeders following exposure to an elevated environmental temperature. Poultry Sci., 74. 1029-1038.
- Yahav S., Hurwitz S.* (1996): Induction of thermotolerance in male broiler chickens by temperature conditioning a tan early age. Poultry Sci. 75. 402-406.