

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 7

Issue 4

Különszám

Gödöllő
2011



AZ ÉVSZAK ÉS AZ ÉLETKOR HATÁSA FEKETE RACKA KOSOK SPERMATERMELÉSÉRE

Egerszegi István¹, Sarlós Péter¹, Molnár András¹, Cseh Sándor², Rátky József¹

¹Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, 2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.

²Szent István Egyetem, Állatorvostudományi Kar, 1078 Budapest, István u. 2.

istvan.egerszegi@atk.hu

Összefoglalás

Napjainkban a magyarországi háziállat fajok in situ megőrzése megoldottnak tűnik, azonban az in vitro eljárások további fejlesztésre szorulnak. Az őshonos magyar racka fajta szaporodása szezonális jellegű. Az egész éven keresztül történő spermagyűjtés lehetőséget nyújthat arra, hogy az állatokat bevonjuk a génmegőrző munkába, de ehhez elengedhetetlen a reprodukciós működés behatóbb megismerése. Jelen munka célja az életkor és az évszakok hatásának vizsgálata a kosok ondótermelésére. Kilenc ivarérett fekete racka kosot vontunk a kísérletbe. Két egymást követő évben összesen 790 spermamintát gyűjtöttünk egy hetes időközökkel. Megmértük az ejakulátumok mennyiségét, a motilitást fáziskontraszt mikroszkóppal határoztuk meg. A sperma koncentrációt spektrofotométerrel vizsgáltuk, majd a teljes spermiumszámot ezután állapítottuk meg. A spermiumok morfológiai jellemzőit Cerovsky-festést követően bíráltuk el. A fekete racka sperma termelése a következő értékekkel jellemezhető az ejakulátum átlagos térfogata $0,695 \pm 0,0119$ ml, koncentrációja $5,346 \pm 0,0513 \times 10^9$ spermium/ml, $3,791 \pm 0,0814 \times 10^9$ összpermium szám, átlagos motilitás $4,807 \pm 0,0212$ és $10,263 \pm 0,273$ morfológia defekt. Az évszakok változása szerint szignifikáns eltéréseket találtunk az ondójellemzőkben ($p < 0,05$). A legkisebb térfogatot március és május között, míg legnagyobbat nyáron (június-augusztus) és ősszel (szeptember-november) mértük. Az átlagos spermium koncentráció meghaladta más fajták jellemző adatait, és ez koncentráció az életkorral állandósult. A spermium anomáliák aránya a kísérleti időszakban végig alacsony maradt. Az eredmények alapján a fekete racka kosok ondója alkalmasnak bizonyult a spermakezelési eljárásokra.

Kulcsszavak: fekete racka, kosok, sperma, szezon, életkor



Effect of season and age on semen production of black Raczka rams

Abstract

Nowadays in situ maintenance of Hungarian farm animals seems to be successful; however contribution of ex situ in vitro methods should be strengthened. Hungarian Raczka is a native sheep breed strictly with seasonal reproductive period. Semen collection during the year could be an option for use the rams in cryo-conservation program, however more profound knowledge on reproductive characteristics of the rams is needed. Aim of this study was to determine the season and age effects on semen production of Raczka rams. Nine mature Black Raczka rams were included into the trial. Semen samples (n=790) were collected weekly in two consecutive years. Ejaculate volume was registered and motility was assessed under phase contrast microscope. Concentration of the semen was determined by spectrophotometer and total sperm number was calculated. Morphology of the spermatozoa was evaluated after Cerovsky-staining. The semen production of the Black Raczka rams can be characterized by a mean ejaculate volume of 0.695 ± 0.0119 ml, $5.346 \pm 0.0513 \times 10^9$ cells/ml, $3.791 \pm 0.0814 \times 10^9$ total sperm number, an average 4.807 ± 0.0212 motility grade and 10.263 ± 0.273 percent defected cells. Significant differences were detected in semen parameters between seasons ($p < 0.05$). The lowest ejaculate volumes were measured in March to May, whilst the highest in summer (June to August) and autumn (September to November) respectively. The mean concentrations of the semen samples were relatively high compared to other breeds and it became constant with the age. Percentage of morphological defects remained low during the trial. In conclusion semen parameters of Black Raczka rams could be responding for semen processing.

Keywords: Black Raczka, rams, semen, season, age,

Bevezetés

Napjainkban a hortobágyi vagy magyar racka juhokat két színváltozatban tenyésztik, a törzskönyvezett anyák száma meghaladja a 6450 egyedet, ebből fekete racka kb. 40% (MJKSZ, 2011). A fajta a múltban hármasszoros hasznosítású volt (hús, tej és gyapjú/prém). Az utóbbi években számos vizsgálatot végeztek testméreteire, a gyapjú és prém színöröklésére, tejelőképességére, hízalási teljesítményére és hús minőségére vonatkozóan (Dunka, 2002; Nagy és mtsai, 2004; Nagy és Komlósi, 2005). Az őshonos juhok surlókorra való fogékonyságáról Fésüs és mtsai (2004) számoltak be. Egerszegi és mtsai (2008)



ultrahang segítségével monitorozták a tüszőnövekedést és korai embriófejlődést. A fajta szaporodásbiológiai jellemzése a következőkben foglalható össze: a kos toklyók 7 hónapos korban ivarérettek, de a tenyésztésbevitel a kos- és jerketoklyók estében is másfél éves korban történik. A tenyészszезон augusztus-november hónapokra tehető (*Dunka, 2002*). Az anyák első ellése 28 hónapos korukig 110%-os bérányszaporulattal megtörténik (*MJKSZ, 2011*). Az említett adatoktól eltekintve nem rendelkezünk részletes reprodukciós ismeretekkel a racka kosokat tekintve. A fajta-specifikus szaporodásbiológiai paraméterek leírása szerepet kaphatna a racka juhok fenntartásában és a megőrzésében. A legtöbb juh fajta szezonális szaporodással jellemezhető, a kontinentális éghajlaton ez fokozottan jelentkezik. Ezt a jelenséget elsősorban a napfényes órák ciklikus változása befolyásolja, természetesen egyéb más faktorok is módosíthatják (pl. hőmérséklet, takarmány, kos hatás, bérányozási időszak, laktáció hossza) (*Rosa és Bryant, 2003*). A 35. szélességi foktól északra folyamatosan erősödik a szezonális, így a brit fajták erősen szezonálisnak tekinthetők, míg innen délre haladva az anyák 5-25%-ánál spontán ovuláció mutatható ki a hagyományos szezonon kívül is (*Hafez, 1952*). Hasonló szezonális változások mutathatók ki a kosoknál is, amely domesztikáció fokával és az intenzív tartási körülményekkel folyamatosan csökkennek (*Lincoln és mtsai, 1990*). Szezonális eltérés figyelhető meg a kosok viselkedésében, a here térfogatában és tömegében, a gametogenezisben és a hormon szekrécióban (*Land, 1973; Schanbacher és Lunstra, 1976*), ami ugyanazon fajta nőivarú egyedek reprodukciós ciklusához igazodik (*Thibault és mtsai, 1966*). Azonban az eltérések kevésbé látványosak az anyáknál egyértelmű acikliás állapotával összevetve, mivel a kosoknál a spermatogenezis és szexuális aktivitás soha nem áll le teljesen (*Pelletier és Almeida, 1987*). Ezek alapján a vizsgálat célja volt megállapítani, miképpen befolyásolják az évszakok és a kosok életkora a spermatermelést fekete racka kosoknál.

Anyag és módszer

Állatok

A két éves kísérletbe 9 ivarérett fekete rackát vontunk be (2008. december -2010. december; *I. kép*). Az állatokat csoportosan helyeztük el, az egész év során jó minőségű lucerna és réti szénával, valamint komplett juhtáppal etettük őket. Márciustól decemberig az állatok napközben legelőkön a szabadban tartózkodtak, állandó szabad hozzáférésük volt friss vízhez és nyalósóhoz.

Ondógyűjtés és értékelés

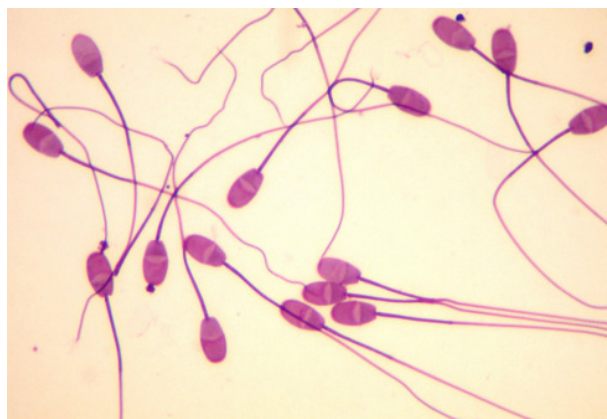
Az állatokat másfél éves koruktól kezdtük betanítani műhüvellyel történő spermavételre. Csak olyan kosokat vontunk a kísérletbe, amelyekből minimum 5 egymás utáni alkalommal sikerült ejakulátumot nyerni. Az ondót a 41 °C - ra előmelegített műhüvelyhez csatlakoztatott műanyag csövekbe

gyűjtöttük. Az ejakulátumok térfogatát pipetta segítségével mértük. A spermiumok tömegmozgását *Evans és Maxwell (1987)* leírása szerint bíraltuk el 37 °C - ra előmelegített tárgylemezen 40 x nagyításban fáziskontraszt mikroszkóppal (Olympus BX51). A mozgást 1-5 pontszámmal osztályoztuk. Az ejakulátumok koncentrációját 1:400 - as fiziológias sóoldattal történt hígítást követően spektrofotométerrel határoztuk meg. A minták morfológiai vizsgálatát 1:200 - as fiziológias sóoldattal történt hígítás és *Cerovsky-festést (1976)* követően végeztük el 1000x-es nagyításban (2. kép).



1. kép: Fekete racka kosok

Picture 1: Black Racka rams



2. kép Kos spermiumok Cerovsky-festéssel

Picture 2: Ram semen with Cerovsky-staining

Statisztikai értékelés

Az adatokat SPSS for Windows 15.0 szoftver segítségével elemeztük. Az értékeket átlag (mean) és az átlag standard hibája (SEM) tüntettük fel. Az évszakok és az életkor hatásának vizsgálatát a sperma paraméterekre vonatkozóan egy-utas varianciaanalízissel (Oneway ANOVA (LSD-teszt); $P < 0,05$) végeztük el.

Eredmények és értékelés

A fekete racka kosok spermatológiai tulajdonságait az 1. táblázatban foglaltuk össze. Az ejakulátum átlagos térfogata megközelítette a 0,7 ml-t, a spermiumkoncentráció pedig meghaladta az 5 milliárd sejtet ml-ként. A vizsgálat során folyamatosan kiegyenlített magas motilitás értékeket jegyeztünk fel. A spermium anomáliák átlagos előfordulása 12 % alatti volt. A vizsgált paraméterek szezonális változásainak összefüggéseit az 1-5. ábrákon szemléltetjük.

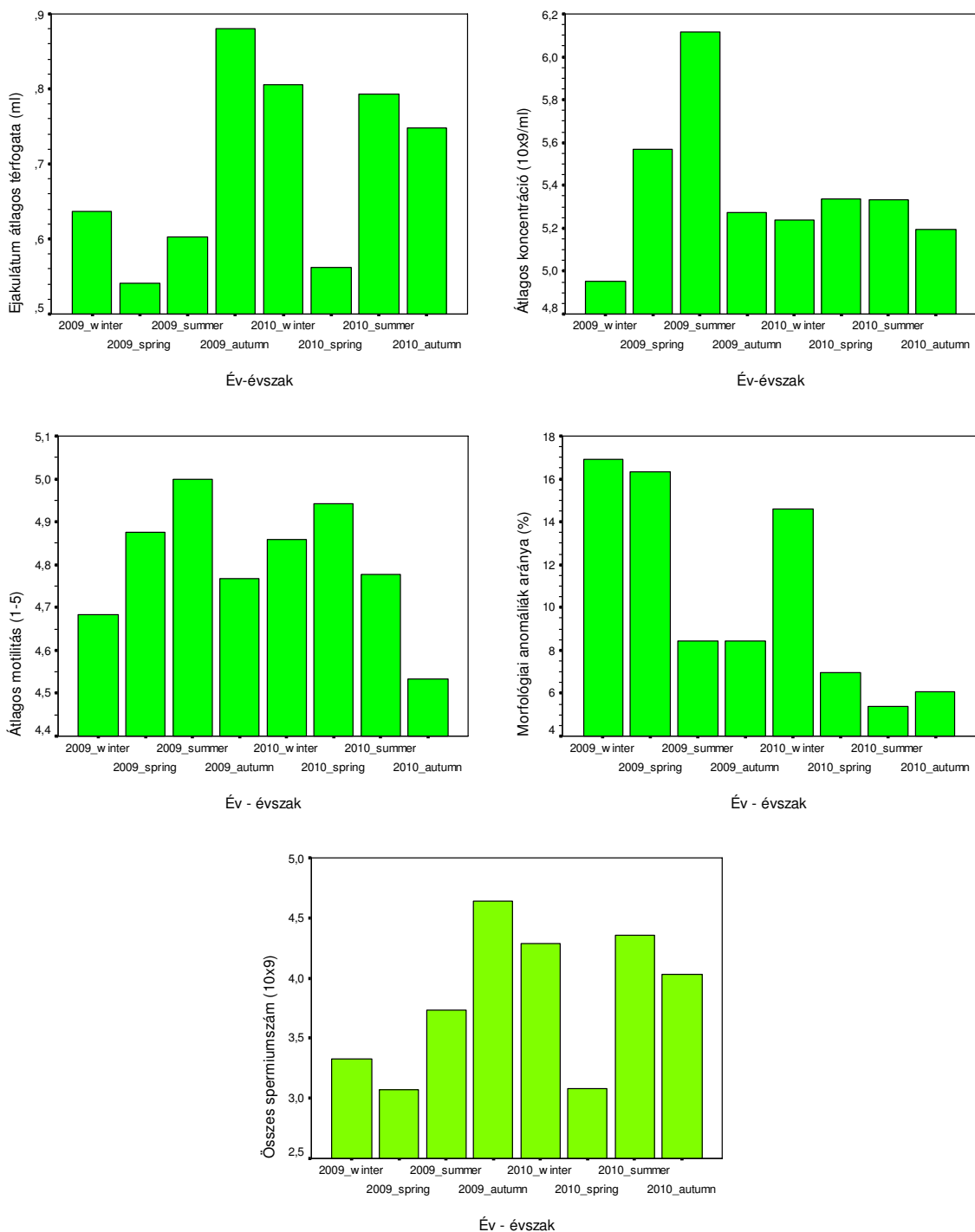
1. táblázat: Fekete racka kosok spermatológiai jellemzői

	n	Átlag (Mean)	Átlag standard hibája (SEM)	Minimum (Min.)	Maximum (Max.)
Volumen (ml) (<i>Volume</i>)	776	0,695	0,0119	0,100	1,700
Koncentráció (x10⁹/ml) (<i>Concentration</i>)	745	5,346	0,0513	1,77	9,63
Motilitás (1-5) (<i>Motility</i>)	742	4,807	0,0212	0,00	5,00
Összes spermium szám (x10⁹/ml) (<i>Total sperm number</i>)	735	3,791	0,0814	0,23	13,42
Összes spermium anomália (%) (<i>Total number of defected cells</i>)	735	10,263	0,273	1,00	36,00

Table 1: Semen parameters from Black racka rams

Számos korábbi vizsgálatban leírták, hogy a mérsékelt égövön a kosok hereméretei és az ondó tulajdonságai szezonális változást mutatnak, ami a növekvő, illetve csökkenő LH és FSH szintekkel van összefüggésben (*Lincoln és Davidson, 1977; Boland és mtsai, 1985; Ortavant és mtsai, 1988; Sarlós és mtsai, 1996; Mandiki és mtsai, 1998; Kafí és mtsai, 2004; Avdi és mtsai, 2004; Dickson és Sanford, 2005; Zamiri és mtsai, 2010*).

Az előbbi vizsgálatokkal egybevégezően, szignifikáns különbségeket tapasztaltunk a sperma paraméterekben az évszakok között. A legkisebb ejakulátum térfogatokat tavasszal (március-május), míg a legnagyobb mennyiségeket nyáron (június-augusztus) és ősszel (szeptember-november) mértük, a különbség szignifikáns ($P < 0,05$) mértékű volt. A spermium koncentrációk relative magas értékeket mutattak összehasonlítva más fajtájú kosokéval (*Sarlós és mtsai, 1996; Mandiki és mtsai, 1998; Gundogan és Elitok, 2004; Oláh, 2010; Zamiri és mtsai, 2010*) és ez magas koncentráció az életkor előrehaladtával állandósult. A kosok fertilitása szoros összefüggést mutat az ejakulátumok minőségi paramétereivel (motilitás, morfológia). Korábbi vizsgálatokban bizonyították, hogy a spermium motilitásban és az abnormális sejtek arányában eltérések tapasztalhatók az évszakok között. *Sarlós és munkatársai (1996)* brit tejelő kosoknál a téli időszakban jegyezték fel a legmagasabb motilitási értékeket, a mélypontot a nyári időszakban tapasztalták. Ezzel ellentétben *suffolk és DLS* kosoknál a tavaszi időszak kedvezett legkevésbé a spermiumok motilitását tekintve (*Dufour és mtsai, 1984*). A fekete racka kosok esetében relative magas motilitás értékeket jegyeztünk fel, bár 2009 telén és őszén, valamint 2010 nyarán és őszén minimális csökkenés tapasztalható. A spermium anomáliák arányát tekintve a téli időszakban láthatók csúcserkékek, ami szignifikánsan ($P < 0,05$) különbözött a legkisebb nyári és őszi értékhez viszonyítva, ez részben megegyezik mások tapasztalataival.



1-5. ábra: Fekete racka kosok spermatológiai paramétereinek szezonális változása

1-5. Figures: Seasonal changes of semen parameters from Black Raczka rams



Colas és Courot (1977) Il de France kosoknál kétszer annyi anomáliát észlelt tavasszal (22,1%), mint nyáron (10,3%). A brit tejelő fajtában, a tavaszi és az őszi időszakok a kedvezőbbek a morfológiai eltéréseket tekintve (10,7%), ettől szignifikánsan magasabb értékeket tapasztaltak nyáron (22,77%) (*Sarlós és mtsai*, 1996). Hasonló eredményekről számoltak be *Cupps és munkatársai* (1960) suffolk és hampshire kosoknál.

Következtetések és javaslatok

A fekete racka kosok spermatermelése az ex situ in vitro génmegőrzés szempontjából megfelelő paraméterekkel jellemezhető habár bizonyos szezonális jellegzetességeket figyelembe kell venni a jövőbeni mélyhűtési programok során (pl. alacsonyabb ejakulátum térfogat tavasszal, magasabb számú spermium defektus télen).

Köszönetnyilvánítás

A vizsgálatokat az OTKA - K 76371 sz. pályázat támogatta, Egerszegi István Bolyai János kutatási ösztöndíjat kapott a Magyar Tudományos Akadémiától. Szerzők ezúton köszönik meg a kísérlet során nyújtott technikai segítséget Gyimothy Gézának, Szabó Jánosnénak és a kísérleti telep dolgozóinak.

Irodalomjegyzék

- Avdi, M., Banos, G., Stefos, K., Chemineau, P.* (2004). Seasonal variation in testicular volume and sexual behavior of Chios and Serres rams. *Theriogenology* 62, 275–282.
- Boland, M. P., Alkamali, A.A., Crosby, T.F., Haynes, N.B., Howles, C.M., Kelleher, P.L., Gordon, I.* (1985). The influence of breed, season and photoperiod on semen characteristic, testicular size, libido and plasma hormone concentration in rams. *Anim. Reprod. Sci.* 9, 241-252.
- Cerovsky, J.* (1976). A method of the staining of boar spermatozoa for morphological evaluation. *Zivocisna Vyroba* 21, 361-366.
- Evans, G., Maxwell, W.M.C.* (1987). *Salamon's artificial insemination of sheep and goats.* Butterworths Sydney



- Colas, G., Courot, M.* (1977). Production of spermatozoa, storage of semen and artificial insemination in the sheep. Management of Reproduction in sheep and goats, Symposium, Madison, Wisconsin, 24, 31.
- Cuups, P.T., McGowan, B., Rahlman, D.F., Reddon, A.R., Weir, W.C.* (1960). Seasonal changes in the semen of rams. J. Anim. Sci., Albany, N.Y. 19 208.
- Dickson, K.A., Sanford, L.M.* (2005). Breed diversity in FSH, LH and testosterone regulation of testicular function and in libido of young adult rams on the southeastern Canadian prairies. Small Ruminant Research 56 189–203
- Dufour, J.J., Fahmy, M.H., Minvielle, F.* (1984). Seasonal changes in breeding activity, testicular size, testosterone concentration and seminal characteristics in rams with long or short breeding season. J. Anim. Sci., Albany, N.Y. 58 416-422.
- Dunka, B.* (2002). Hungarian sheep (Magyar juh (*Ovis aries strepsiceros hungaricus*))In: Génmegőrzés: Kutatási eredmények régi háziállatfajták értékeiről, Debrecen (in Hungarian)
- Egerszegi, I., Molnár, A., Sarlós, P., Soós, F., Rátky, J.* (2008). Investigation of the follicular development and early pregnancy in Hungarian Black Racka ewes by means ultrasonography – preliminary study. AWETH 4. (2.) 311-318. (in Hungarian)
- Fésüs, L., Zsolnai, A., Horogh, G. P., Anton, I.* (2004). A juhok surlókórja. 2. A priongenotípusok gyakorisága hazai őshonos juhállományainkban Magyar Állatorvosok Lapja 11. 670-675.
- Gundogan, M., Elitok, B.* (2004) Seasonal changes in reproductive parameters and seminal plasma constituents of rams in Afyon province of Turkey. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 111. (4.) 158-161.
- Hafez, E.S.E.* (1952). Studies on the breeding season and reproduction of the ewe. J. Agric. Sci. Camb. 42, 189–265.
- Kafi, M., Safdarian, M., Hashemi, M.* (2004). Seasonal variation in semen characteristics, scrotal circumference and libido of Persian Karakul rams. Small Ruminant Research 53, 133–139.
- Land, R. B.* (1973). The expression of female sex-limited characters in the male Nature 241, 208 – 209.
- Lincoln, G.A., Davidson, W.* (1977). The relationship between sexual and aggressive behaviour, and pituitary and testicular activity during the seasonal sexual cycle of rams, and the influence of photoperiod. J. Reprod. Fertil. 49, 267–276.
- Lincoln, G.A., Lincoln, C.E., McNeilly, A.S.* (1990). Seasonal cycles in the blood plasma concentration of FSH, inhibin and testosterone, and testicular size in rams of wild, feral and domesticated breeds of sheep. J. Reprod. Fertil. 88, 623–633.



- Mandiki, S.N.M., Derycke, G., Bister, J.L., Paquay, R. (1998). Influence of season and age on sexual maturation parameters of Texel, Suffolk and Ile-de-France rams 1. Testicular size, semen quality and reproductive capacity Small Ruminant Research 28, 67-79.
- Nagy, L., Domanovszky, Á., Székely, P. (2004) Investigation of fattening and slaughter performance in Hungarian Racka sheep. A magyar racka juh hizlalási- és vágási vizsgálata. Acta Agraria Debreceniensis 13, 1-6. (in Hungarian)
- Nagy, L., Komlósi, I. (2005). Milk composition changes during lactation in Racka sheep. (A magyar racka juh tejének beltartalmi változása a laktáció alatt) Acta Agraria Debreceniensis 16, 24-28. (in Hungarian)
- Oláh, J. (2010). Factors affect on semen parameters in ram. PhD Thesis. (in Hungarian)
- Ortavant, R., Bocquier, F., Pelletier, J., Ravault, J.P., Thimonier, J., Volland-Nail, P. (1988). Seasonality of reproduction in sheep and its control by photoperiod. Aust. J. Biol. Sci. 41, 69–85.
- Pelletier, J., Almeida, G. (1987). Short light cycles induce persistent reproductive activity in Ile-de-France rams. J. Reprod. Fertil. Suppl. 34, 215–226.
- Rosa, H.J.D., Bryant, M.J. (2003). Seasonality of reproduction in sheep. Small Ruminant Research 48 155–171.
- Sarlós, P., Molnár, A., Huszár, Sz., Rátky, J., Brüßow, K.-P.(1996). Seasonal changes of andrological characteristics in British milk ram Arch. Tierz. 39, 265-275.
- Schanbacher, B.D., Lunstra, D.D. (1976). Seasonal changes in sexual activity and serum levels of LH and testosterone in Finnish Landrace and Suffolk rams. J. Anim. Sci. 43, 644–650.
- Thibault, C., Courrot, M., Martinet, L., Maulion, P., Du Mesnil Du Buisson, F., Ortravant, R., Pelletier, J., Signoret, J.P. (1966). Regulation of breeding season and estrous cycles by light and external stimuli in some mammals. J. Anim. Sci., Albany, N.Y. 25 Suppl., 119.
- Zamiri, M.J., Khalili, B., Jafaroghli, M., Farshad, A. (2010). Seasonal variation in seminal parameters, testicular size, and plasma testosterone concentration in Iranian Moghani rams. Small Ruminant Research 94. 132-136.