

# Wpływ intensywności użytkowania rozplodowego oraz wieku indorów na ilość, jakość i wartość biologiczną nasienia

KRZYSZTOF KOZŁOWSKI, JAN JANKOWSKI, JAN GLOGOWSKI\*, ANDRZEJ CIERESZKO\*

Katedra Drobiarstwa Wydziału Bioinżynierii Zwierząt UWM, ul. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn

\*Instytut Rozrodu Zwierząt i Badań Żywności PAN, ul. Tuwima 10, 10-747 Olsztyn

Kozłowski K., Jankowski J., Glogowski J., Ciereszko A.

## Effects of reproduction intensity and age of turkey-toms on the quantity, quality and biological value of their semen

### Summary

The research material for the study was two groups (16 each) of White Broad-breasted turkey-toms. Their semen was collected once a week (group A) and twice a week (group B). The experiment covered two reproduction periods separated by molting. The first reproduction period lasted 23 weeks, the second – 21 weeks. The following indices were determined: ejaculate volume, sperm concentration and motility, percentages of live and morphologically changed spermatozoa, activity of acid phosphates (AcP) in whole semen and plasma, activity of aspartate aminotransferase (AspAT) released from spermatozoa, and the total protein content of seminal plasma. Egg fertility and hatchability were controlled individually. Semen collection twice a week resulted in a decrease in the ejaculate volume (on average by 11.1%) and sperm concentration in the ejaculate (on average by 7.4%), but an increase in the total semen volume (on average by 65.1%) and the number of insemination doses per turkey-tom (on average by 53.0%) over the entire reproduction period. The results of the study suggest that semen collection twice a week should be recommended as it increases the number of females inseminated with semen from one male, i.e. better use may be made of the most valuable breeding toms. The decision to use the turkeys for the following reproduction period should be determined only in relation to breeding needs.

**Keywords:** turkeys, reproduction, semen

Zastosowanie techniki sztucznej inseminacji jako jedyne go sposobu rozmnażania w stadach reprodukcyjnych indyków, wymusiło prowadzenie badań w kierunku jak najlepszego sposobu wykorzystania samców. Z uwagi na małą objętość produkowanych przez nie ejakulatów, ważnym aspektem ekonomicznym w hodowli indyków stało się zwiększanie częstotliwości użytkowania reprodukcyjnego samców, bez ujemnego wpływu na jakość pozyskiwanego od nich nasienia (3, 7, 9, 19). Pobieranie nasienia od jednego samca ptaka do pięciu razy w tygodniu było tematem badań kilku zespołów badawczych (8, 15, 17, 19, 22). Częstsze pobieranie nasienia stwarza możliwość zwiększenia liczby samic inseminowanych nasieniem jednego indora do 200 (11), a nawet 300 sztuk, a tym samym ograniczenia liczby samców i zmniejszenia kosztów utrzymania stada (19). Stada hodowlane indyków użytkowane są w większości tylko przez jeden okres reprodukcyjny. Celowość użytkowania indyczek przez dwa lub trzy kolejne okresy reprodukcyjne była przed-

miotem badań prowadzonych w latach osiemdziesiątych. W dostępnym piśmiennictwie brak jest natomiast danych, dotyczących przepierzania indorów i wpływu tego zabiegu na ilość i wartość biologiczną nasienia.

Celem podjętych badań była ocena wpływu intensywności użytkowania rozplodowego oraz wieku indorów na kształtowanie się wyznaczników ilościowych i jakościowych nasienia oraz jego wartości biologicznej.

### Materiał i metody

Materiał doświadczalny stanowiły 32 indory białe szerokopierśne, podzielone losowo na dwie równe grupy (A i B). Od indorów z grupy A nasienie pobierano raz, a z grupy B dwa razy w tygodniu. Badaniami objęto dwa kolejne okresy reprodukcji oddzielone przymusowym przepierzaniem. Pierwszego pobrania nasienia dokonano w 33. tygodniu życia indorów. Pierwszy okres reprodukcji trwał 23 tygodnie. Następnie indyczki i indory przepierzono (12). Program przepierzania indorów różni się od indyczek tym, że już od 7. dnia przepierzania zadaje się im paszę do woli

oraz w 42. dniu przedłuża dzień świetlny do 14 godzin. Pierwszego pobrania nasienia w drugim okresie reprodukcji dokonano w 75. tygodniu życia indorów. Drugi okres reprodukcji trwał 21 tygodni. Nasienie pobierano stosując masaż okolic kloaki.

W doświadczeniu określano objętość ejakulatu, koncentrację plemników (metodą fotometryczną), ruchliwość plemników (metodą mikroskopową), odsetek plemników żywych oraz zmienionych morfologicznie – stosując barwienie różnicowe (4). Ruchliwość plemników badano w odstępach dwutygodniowych, natomiast odsetek plemników żywych i morfologicznie zmienionych zbadano w 3., 12. i 21. tygodniu pierwszego okresu reprodukcyjnego oraz

w 3., 11. i 19. tygodniu drugiego okresu reprodukcyjnego. Na podstawie otrzymanych wyników dotyczących objętości ejakulatu i koncentracji plemników obliczono całkowitą objętość nasienia i liczbę plemników oraz liczbę dawek inseminacyjnych uzyskanych w całym okresie reprodukcji. Ponadto określano aktywność fosfatazy kwaśnej (AcP) w pełnym nasieniu i w jego plazmie (5), aminotransferazy asparaginianowej (AspAT) uwolnionej z plemników (20), a także zawartość białka ogólnego w plazmie nasienia (16). Prowadzono ponadto indywidualną kontrolę zapłodnienia i wylegowości. Ocena cech reprodukcyjnych indyczek obejmowała zapłodnienie jaj, wyląg piskląt zdrowych z jaj zapłodnionych i nałożonych.

Zebrane wyniki opracowywano statystycznie przy zastosowaniu dwuczynnikowej analizy wariancji według metody Snedecora.

Tab. 1. Charakterystyka morfologiczna nasienia badanych indorów

Badane cechy	Okres reprodukcji	Grupa	
		A	B
Objętość ejakulatu, cm <sup>3</sup>	1	0,372	0,355
	2	0,364 <sup>A</sup>	0,255 <sup>B</sup>
	średnio	0,369 <sup>A</sup>	0,328 <sup>B</sup>
Koncentracja plemników, × 10 <sup>9</sup>	1	5,46	5,49
	2	6,87 <sup>A</sup>	5,47 <sup>B</sup>
	średnio	5,94 <sup>A</sup>	5,50 <sup>B</sup>
Całkowita objętość nasienia od 1 indora, cm <sup>3</sup>	1	5,19 <sup>A</sup>	8,96 <sup>B</sup>
	2	3,75	5,08
	średnio	4,64 <sup>A</sup>	7,66 <sup>B</sup>
Całkowita liczba plemników od 1 indora, × 10 <sup>9</sup>	1	28,93 <sup>A</sup>	49,71 <sup>B</sup>
	2	25,78	27,78
	średnio	27,72 <sup>A</sup>	42,40 <sup>B</sup>
Liczba dawek inseminacyjnych od 1 indora	1	144,7 <sup>A</sup>	248,6 <sup>B</sup>
	2	128,8	138,8
	średnio	138,6 <sup>A</sup>	212,0 <sup>B</sup>
Ruchliwość plemników, %	1	79,3	80,0
	2	78,9	76,2
	średnio	79,2	78,8
Plemniki żywe, %	1	80,6	80,8
	2	79,3	78,4
	średnio	80,1	80,0
Plemniki zmienione morfologicznie %	1	20,5	21,8
	2	17,7	19,3
	średnio	19,5	21,0

Objaśnienia: wartości oznaczone różnymi literami (wiersze), znakami: x, xx (kolumny) różnią się istotnie; A, B, xx –  $p \leq 0,01$ ; a, b, x –  $p \leq 0,05$

## Wyniki i omówienie

Zwiększenie częstotliwości pobierania nasienia w przeprowadzonym doświadczeniu (tab. 1) wpłynęło istotnie ( $p \leq 0,01$ ) na zmniejszenie zarówno objętości ejakulatu (średnio o 0,041 cm<sup>3</sup>), jak też koncentracji plemników w ejakulacie (średnio o  $0,44 \times 10^9$ /cm<sup>3</sup>). W badaniach porównujących jedno- i trzykrotne w tygodniu wykorzystanie rozplodowe indorów przez jeden okres reprodukcji wykazano podobne zależności ( $p \leq 0,05$ ) w odniesieniu do objętości ejakulatu (9) oraz objętości ejakulatu i koncentracji plemników (7). W innych badaniach (15, 17) obserwowano, co prawda, obniżenie objętości ejakulatu przy częstszym użytkowaniu rozplodowym indorów, lecz nie stwierdzono istotnego wpływu tego zabiegu na koncentrację plemników w ejakulacie. Objętość ejakulatu w niniejszym doświadczeniu była niższa w drugim okresie reprodukcji w porównaniu z okresem pierwszym, lecz istotnie ( $p \leq 0,01$ ) tylko w grupie B (o 0,100 cm<sup>3</sup>). W drugim okresie reprodukcji odnotowano w grupie A istotnie ( $p \leq 0,01$ ) wyższą (o  $1,41 \times 10^9$ ) koncentrację plemników w ejakulacie.

W przypadku, gdy nasienie od indorów pobierano dwa razy w tygodniu, uzyskano ponad 1,5-krotnie większą ( $p \leq 0,01$ ) całkowitą objętość nasienia oraz liczbę dawek inseminacyjnych. Całkowita objętość nasienia była istotnie wyższa w pierwszym okresie reprodukcyjnym w porównaniu z okresem drugim w obu grupach doświadczalnych. Obie wyżej wymienione cechy bardzo wyraźnie ukazują różnice między badanymi grupami w ilości nasienia pozyskiwanego od jednego samca w ciągu całego okresu reprodukcyjnego. Przeliczenie

produkowanego przez jednego indora nasienia na dawki inseminacyjne o tej samej liczbie plemników najlepiej obrazuje aspekt ekonomiczny przeprowadzonych badań. W przypadku nasienia indora dawka inseminacyjna wynosi zazwyczaj  $200-250 \times 10^6$  plemników (2, 11). Optymalna liczba plemników w dawce inseminacyjnej zależy jednak od wielu czynników, tj. od początkowej jakości nasienia (13), częstotliwości unasienniania (18) oraz wieku ptaków (6).

Porównując ejakulatory indorów z badanych grup nie stwierdzono istotnych różnic w ruchliwości plemników, odsetku plemników żywych oraz morfologicznie zmienionych. Tylko w nasieniu indorów z grupy B odsetek plemników żywych był istotnie niższy ( $p \leq 0,05$ ) w drugim okresie reprodukcyjnym. Brak negatywnego wpływu częstszej eksploatacji ptaków na ruchliwość plemników i odsetek plemników zmienionych morfologicznie obserwowano w badaniach prowadzonych na kogutach (22). W doświadczeniu przeprowadzonym na indorach, od których nasienie pobierano 1 i 3 razy w tygodniu stwierdzono natomiast statystycznie istotne ( $p \leq 0,05$ ) obniżenie (o 2,2%) udziału plemników żywych (7). Procent plemników morfologicznie zmienionych w tym samym doświadczeniu nie ulegał jednak istotnym zmianom i wynosił odpowiednio 34,0% i 34,5%.

Stwierdzono niekorzystny wpływ ( $p \leq 0,01$ ) dwukrotnego w tygodniu pobierania nasienia na aktywność aminotransferazy asparaginianowej (tab. 2). Skutkowało on podwyższeniem aktywności tego enzymu (o 18,35 U/10<sup>9</sup> plemników) w grupie częstszego pobierania nasienia. Wyciek białek enzymatycznych z plemników zaznacza się wyraźnie przede wszystkim wtedy, gdy uszkodzenia dotyczą błony komórkowej w rejonie akrosomu i wstawki plemnika (23). Czułym wskaźnikiem uszkodzenia wstawki jest uwalnianie enzymów mitochondrialnych, m.in. aminotransferazy asparaginianowej (1). W tej samej grupie częstszego pobierania nasienia wykazano statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$ ) zwiększenie aktywności badanego enzymu w drugim okresie reprodukcyjnym. Nie można natomiast jednoznacznie ocenić wpływu częstotliwości pobrań na aktywność fosfatazy kwasnej w pełnym nasieniu i jego plazmie, gdyż w obu okresach reprodukcji zależności te są odmienne. Wykazano, że aktyw-

ność tego enzymu wysoko istotnie ( $p \leq 0,01$ ) obniżała się w drugim okresie reprodukcyjnym w nasieniu ptaków z grupy A oraz istotnie ( $p \leq 0,05$ ) u ptaków z grupy B. W plemnikach ssaków enzym ten zlokalizowany jest w błonach akrosomalnych, a jego uwalnianie z tych struktur może być wskaźnikiem przebiegu reakcji akrosomowej (21).

Zawartość białka ogólnego wzrastała istotnie ( $p \leq 0,01$ ) w ejakulatach indorów częściej użytkowanych

Tab. 2. Charakterystyka biochemiczna nasienia badanych indorów

Badane cechy	Okres reprodukcji	Grupa	
		A	B
Aktywność fosfatazy kwasnej (AcP) w pełnym nasieniu, U/dm <sup>3</sup>	1	1 640,6 <sup>a</sup>	1 527,4 <sup>b</sup>
	2	1 202,2 <sup>A</sup>	1 422,2 <sup>B</sup>
		xx	x
	średnio	1 475,8	1 498,6
Aktywność fosfatazy kwasnej (AcP) w plazmie nasienia, U/dm <sup>3</sup>	1	706,4	660,9
	2	453,8 <sup>A</sup>	604,0 <sup>B</sup>
		xx	x
	średnio	611,4	645,4
Aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), U/10 <sup>9</sup> plemników	1	86,10	83,31
	2	85,67 <sup>A</sup>	104,02 <sup>B</sup>
			xx
	średnio	85,92	89,20
Zawartość białka ogólnego w plazmie nasienia, mg/cm <sup>3</sup>	1	31,97 <sup>A</sup>	40,52 <sup>B</sup>
	2	39,03 <sup>A</sup>	60,63 <sup>B</sup>
		xx	xx
	średnio	34,62 <sup>A</sup>	46,01 <sup>B</sup>

Objaśnienia: jak w tab. 1

Tab. 3. Charakterystyka zapłodnienia i wylęgu piskląt indyckich

Badane cechy	Okres reprodukcji	Grupa	
		A	B
Zapłodnienie jaj, %	1	86,80	87,49
	2	92,65	88,52
	średnio	88,90	87,77
Wyląg piskląt, % - z jaj zapłodnionych	1	65,38	72,47
	2	60,97	60,16
			xx
	średnio	63,79	69,12
- z jaj nałożonych	1	60,79	63,60
	2	56,58	53,25
			x
	średnio	59,27	60,78

Objaśnienia: jak w tab. 1

rozplodowo, średnio o 32,9%. W obu badanych grupach wykazano istotne ( $p \leq 0,01$ ) zwiększenie zawartości białka ogólnego w drugim okresie reprodukcyjnym (o 22,1% – grupa A i o 49,6% – grupa B). W doświadczeniu przeprowadzonym na indorach (14) jego autorzy obserwowali znacznie niższe wartości tej cechy, wahające się od 10,8 do 13,7mg/cm<sup>3</sup>. Wysoka zawartość białka w plazmie nasienia kogutów pozwala wnioskować o obniżonej zdolności zapładniającej plemników (10), natomiast u indorów (> 60 mg/cm<sup>3</sup>) ma istotnie ujemny wpływ na zapłodnienie jaj i wylęgowość (24).

Częstotliwość pobierania nasienia od indorów nie wpłynęła istotnie na wyniki zapłodnienia jaj i wylęgu piskląt (tab. 3). Nie stwierdzono żadnych różnic w zapłodnieniu jaj, natomiast w pierwszym okresie reprodukcji wyląg piskląt z jaj zapłodnionych był wyższy o ponad 7,0% u indyczek inseminowanych nasieniem indorów częściej użytkowanych rozplodowo. Nie zostało to jednak statystycznie potwierdzone. Wartość tej cechy w drugim okresie reprodukcji obniżała się w porównaniu z okresem pierwszym. Różnice statystycznie istotne ( $p \leq 0,01$ ) zanotowano u indyczek inseminowanych nasieniem indorów częściej użytkowanych rozplodowo.

Użytkowanie rozplodowe indorów dwa razy w tygodniu w pierwszym cyklu rozplodowym należy uznać za w pełni celowe, przede wszystkim ze względów ekonomicznych. Umożliwia ono zwiększenie liczby indyczek inseminowanych nasieniem jednego samca, a tym samym lepsze wykorzystanie najbardziej wartościowych rozplodników. Pozostawienie indorów na drugi okres reprodukcji powinno być warunkowane tylko celami hodowlanymi.

## Piśmiennictwo

1. *Al-Taha T. J., Strzeżek J.*: Biochemical changes associated with deep-freezing of bull semen. II. Release and estimation of glutamic oxaloacetic transaminase activity. *Pakistan J. Biochem.* 1980, 13, 39-43.
2. *Anon.*: Nicholas Europe Ltd.: Instrukcja prowadzenia stad rodzicielskich i towarowych indyków Nicholas. Maszynopis 1997.
3. *Ansah G. A., Buckland R. B., Chan C. W., Touchburn S. P.*: Effects of frequency of semen collection and insemination, and number of spermatozoa inseminated on reproductive performance of turkeys. *Canad. J. Anim. Sci.* 1984, 64, 351-356.
4. *Bakst M. R., Cecil H. C.*: Techniques for semen evaluation, semen storage and fertility determination. Poultry Science Association, Savoy Illinois, USA 1997.
5. *Bessey O. L. A., Lowry O. H., Brock M. J.*: A method of the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.* 1946, 164, 321-325.
6. *Brillard J. P.*: Insemination – how many sperm and how frequently? 1. Intern. Symp. A. I. of Poultry, College Park (USA) 1994, s. 32.
7. *Buckland R. B., Scott T. A., Ansah G. A.*: Genetic and environmental variation in semen production and fertility of chickens and turkeys. 9<sup>th</sup> Intern. Congr. Anim. Reprod. A. I., Madrid 1980, s. 535-545.
8. *Bunaciu P., Bunaciu M., Anghel I.*: The effect of semen collection frequency on semen material quality of Dwarf Rock cocks. Proc. 19<sup>th</sup> World's Poultry Congr., Amsterdam 1992, 1, s. 117.
9. *Cecil H. C.*: Effects of frequency of semen collection on reproductive performance of male turkeys fed low protein diets during the breeder period. *Poultry Sci.* 1982, 61, 1866-1872.
10. *Droba M.*: Enzymy hydrolityczne występujące w nasieniu koguta. *Acta Acad. Agricult. Techn. Olst., Zootechnica* 1989, 31, Suppl. G, 37.
11. *Etches R. J.*: Reproduction in poultry, Cab International, Oxon 1996.
12. *Faruga A., Jankowski J.*: Indyki, Hodowla i użytkowanie, PWRiL, Warszawa 1996.
13. *Huyghebaert G., Van Wambeke F., De Groot G.*: The effect of pH of diluent, number of spermatozoa and storage method on fertility and hatchability obtained with turkey semen stored for 6 and 24 hours. *Arch. Geflügelk.* 1984, 48, 142-150.
14. *Jankowski J., Glogowski J., Suszyńska D., Demianowicz W., Koncicki A., Ciereszko A.*: Wpływ cynku dodanego do paszy w zróżnicowanych dawkach i postaci na jakość nasienia indorów. *Medycyna Wet.* 2002, 58, 895-898.
15. *Lorenz F. W., Wilson N. E., Asmudson V. S.*: Relation of frequency of collection to amount of semen obtained from turkey males. *Poultry Sci.* 1955, 34, 634-639.
16. *Lowry O. H., Rosenbrough N. J., Farr A. R., Randall K. J.*: Protein measurement with the Folin phenol-reagent. *J. Biol. Chem.* 1951, 193, 265-275.
17. *McCartney M. G., Chamberlin V. D., Carter R. D., Wyne J. W.*: Effect of frequency of semen collection on fertility, hatchability and spermatozoa concentration in the turkey. *Poultry Sci.* 1958, 37, 363-366.
18. *McIntyre D., Christensen V. L.*: Effect of initial insemination and insemination interval on fertility in turkey hens. *Poultry Sci.* 1985, 64, 1549-1552.
19. *Pingel H., Stübs M.*: Erhöhung der Effektivität in der künstlichen Besamung von Geflügel. 31. Internationale Geflügelvortragstagung – Reproduktion von Geflügel, Leipzig 1988, s. 141-147.
20. *Reimann S., Fränkel S.*: A colometric method for the determination of serum glutamic-oxaloacetic transaminase and serum glutamic-pyruvic transaminase. *Am. J. Clin. Path.* 1957, 28, 56-58.
21. *Salzberger Z., Lewin L. M., Shalgi R.*: Loss of acid phosphatase from rat spermatozoa as a method for assessing the acrosome reaction. *Andrologia* 1992, 24, 155-159.
22. *Schramm G. P., Lampson K.*: Einfluß des Absamregimes auf Spermaproduktion und -qualität sowie Befruchtungsleistung bei Broilerelternieren. 31. Internationale Geflügelvortragstagung – Reproduktion von Geflügel, Leipzig 1988, s. 148-153.
23. *Strzeżek J., Torska J., Al-Taha T. J., Glogowski J.*: Biochemical methods could help improve bull semen freezing. *Pract. Biotechnol.* 1981, 8, 14-19.
24. *Thurston R. J., Hess R. A., Korn N.*: Seminal plasma protein concentration as a predictor of fertility and hatchability in Large White domestic turkeys. *J. Appl. Poultry Res.* 1992, 1, 335-338.

Adres autora: dr inż. Krzysztof Kozłowski, ul. Oczapowskiego 5, 10-718 Olsztyn; e-mail: kristof@uwm.edu.pl

**ROELS S., WALRAVENS K., SAEGERMAN C., THELISSEN M., VANOPDENBOSCH E., GOD-FROID J.: Zapalenie opon mózgowych spowodowane przez *Mycobacterium bovis* u krowy z objawami klinicznymi BSE. (*Mycobacterium bovis* meningitis in a cow with clinical signs of BSE). *Vet. Rec.* 152, 807-808, 2003 (26)**

W styczniu 2002 r. u 16-miesięcznej jałówki ze stada liczącego 85 krów mlecznych wystąpiły objawy kliniczne przypominające BSE. Ponieważ leczenie antybiotykami nie dało efektów i pojawiły się odleżyny, zwierzę poddano eutanazji. Na sekcji stwierdzono szarobiałe zabarwienie opon mózgowych, głównie w okolicy mózdzku i pnia mózgu. Wykluczono wściekliznę testem immunofluorescencji pośredniej i próbą izolacji wirusa na hodowli komórek neuroblastoma. Badanie histopatologiczne mózdzku i pnia mózgu wykazało rozlane nacieki limfocytów i plazmatocytów, rzadziej neutrofilów, obecność ognisk martwicy i komórek olbrzymich Langhansa. Błazka środkowa naczyń krwionośnych opon mózgowych i neuropilu zawierała nacieki limfocytów i plazmatocytów. Badanie w kierunku BSE wypadło ujemnie. W preparatach sporządzonych z materiału patologicznego barwionych metodą Ziehl-Neelsena występowały liczne rozgałęzione, kwasochłonne bakterie, występujące głównie w cytoplazmie komórek olbrzymich. W oparciu o badania hodowlane, testy biochemiczne i test PCR z użyciem 16S rRNA zidentyfikowano *Mycobacterium bovis*.