

Charakterystyka budowy morfologicznej plemników knurów w rocznym cyklu produkcyjnym

PIOTR BRODZKI, ZYGMUNT WRONA, MICHAŁ KLIMONT, LESZEK KRAKOWSKI

Zakład Andrologii i Biotechnologii Rozrodu, Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Otrzymano 12.11.2013

Zaakceptowano 08.01.2014

Brodzki P., Wrona Z., Klimont M., Krakowski L.

Morphological characteristics of boar spermatozoa in the annual production cycle

Summary

Assessing the shape of sperm morphology is an important part of semen and breeding soundness analysis used in the controlled reproduction of pigs. In long-term semen storage (up to 10 days) and in positive temperatures (16-18°C), even a small rise in percentage of impaired semen diagnosed in the process of semen collection, especially semen with primary defects, reduces their ability to achieve fertilization. It is therefore advisable to carry out studies aimed at identifying certain common causes of periodical fluctuation of semen quality in order to compensate its negative effects. Introduction of still new cross-breeds by breeders should also not be underestimated here. Research was carried out on 240 ejaculates from 20 boars in the course of a 12 month production cycle by means of evaluating semen morphology every single month in that period. Semen was dye-marked using by the Diff-Quick method, evaluated with an Olympus CX4 light microscope and an attached Basler A312 scan camera, enlarged 1000 times, under immersion. 500 spermatozoa were assessed in each specimen. The percentage of sperm with primary defects increased slightly in April – $\leq 6\%$ and more considerably in May, June – $\leq 11\%$ and July – $\leq 10\%$. The most noticeable rise in sperm with primary defects was observed in August – up to 18% (exceeding physiological norms). The most noticeable rise in sperm with secondary defects was observed in May – 9.14%, June – 12.36%, and July – 11.3%. In August it was the highest – 19.98%. Values referring to this parameter remained within physiological norms in the entire research period.

Keywords: boar sperm morphology, primary defects, secondary defects, fertility

Efektywność rozrodu u zwierząt, której końcowym wynikiem jest urodzenie zdolnego do samodzielnego życia potomstwa, uzależniona jest od bardzo wielu czynników środowiskowych, cech gatunkowych, rasowych czy nawet osobniczych. Świnia, podobnie jak bydło, jest gatunkiem poliestrlnym, bez sezonowości w cyklu rozrodczym. Niektórzy autorzy obserwowali skłonność do przejawiania większej aktywności płciowej u świń, szczególnie samców, w okresie zbliżonym do naturalnej huczki, jaka występuje u ich dzikich przodków. U dzików w Polsce szczyt sezonu rozrodczego przypada na listopad i grudzień (9, 10).

U knurów występują pewne różnice w zakresie ilości i jakości ejakulatów pomiędzy poszczególnymi rasami czy nawet osobnikami w obrębie rasy (17, 18). Różnice te są zazwyczaj widoczne w zakresie objętości ejakulatu, koncentracji i ruchliwości plemników (19, 20). Większość autorów uważa, że zmiany jakościowe w nasieniu knurów związane są przede wszystkim z porą roku i zmieniającymi się wówczas czynnikami środowiskowymi, takimi jak: temperatura, długość i in-

tensywność oświetlenia, wilgotność i nasłonecznienie (1, 2, 4-6, 13, 16).

Knury-reproduktory powinny odznaczać się wysoką wartością użytkową pod względem cech przekazywanych na potomstwo oraz bardzo dobrej jakości nasieniem. Owsiany i wsp. (12) uważają, że dobór rozplodników do rozrodu powinien zaczynać się już w czasie urodzenia samców, a knury urodzone wiosną charakteryzują się większymi jądrami, lepszymi wskaźnikami ilościowymi i jakościowymi nasienia, oraz są również aktywniejsze płciowo. Wyniki przytoczonych badań (7, 8) wskazują sezon urodzenia jako czynnik modelujący efekty użytkowania rozplodowego świń, badania te nie uwzględniały jednak czynnika rasowego. Jednym z istotnych wskaźników jakości nasienia, mającym istotne znaczenie dla wysokiej zdolności zapładniającej, jest prawidłowa budowa morfologiczna plemników. Szczególnie niekorzystnie na jakość nasienia wpływa zwiększenie odsetka plemników z wadami głównymi. Opinie na temat wpływu pór roku na wielkość zmian w budowie morfologicznej

plemników nie są jednak jednoznaczne. W wyniku wprowadzania nowoczesnych technik oceny budowy morfologicznej nasienia, między innymi komputerowo wspomaganą analizę obrazu, wzrasta dokładność badania, a zatem odsetek i lista wad plemników (3, 11).

Niewielka liczba publikacji dotyczących udziału poszczególnych postaci wad głównych i podrzędnych w ejakulatach knurów w poszczególnych porach roku oraz zmieniający się wraz z wprowadzaniem postępu genetycznego i selekcji w populacji samców reproduktorów procentowy udział poszczególnych wad w budowie morfologicznej, stanowiły bodziec do podjęcia badań, których celem była ocena nasilenia zmian morfologicznych w plemnikach knurów w rocznym cyklu produkcyjnym, a zatem także ocena wpływu pór roku na ilość i obecnie występujących wad w budowie morfologicznej plemników knurów.

Materiał i metody

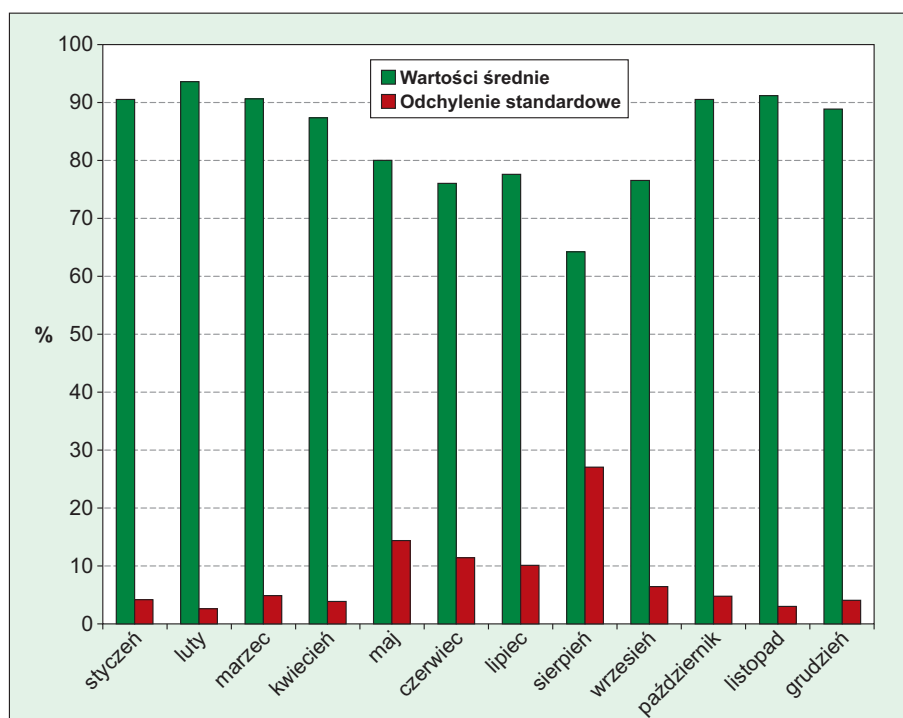
Badania wykonano na 240 ejakulatach pozyskanych metodą manualną od 20 knurów rasy Du × Pi i Pi × Du, które były wykorzystane jako rozplodniki w Stacjach Hodowli i Unasienniania Zwierząt. Zwierzęta przebywały w kojcach, w takich samych warunkach żywienia i utrzymania, zgodnych z obowiązującymi w tym zakresie normami i poddawane były regularnie rutynowym zabiegom profilaktycznym, tj. odrobaczaniu, szczepieniom. Nasienie do celów produkcyjnych pobierane było 2-3 razy w tygodniu. Natomiast nasienie do badań własnych od każdego samca pobierane było jeden raz w miesiącu, w regularnych odstępach czasu. Uzyskane ejakulatory poddawane były ocenie ilościowej i jakościowej (objętość, koncentracja, ocena odsetka plemników o ruchu postępowym) ze szczególnym zwróceniem uwagi na ocenę budowy morfologicznej plemników. Po wykonaniu rozmazów nasienia i zabarwieniu ich metodą Diff-Quick preparaty oceniano pod mikroskopem świetlnym Olympus CX4 z dołączoną kamerą Baslera A312 w powiększeniu 1000-krotnym, pod imersją. Obraz z kamery odczytywany był na monitorze komputera, co ułatwiło pracę oraz znacznie poprawiło dokładność badania. Ocena morfologiczna opierała się na liczeniu 500 plemników w preparacie w różnych polach widzenia i ustaleniu wśród nich odsetka plemników z wadami głównymi, podrzędnymi oraz plemników o prawidłowej budowie morfologicznej, zgodnie z klasyfikacją podaną przez Blöma. W grupie wad głównych i podrzędnych określono również nasilenie poszczególnych typów nieprawidłowości.

Uzyskane wyniki badań poddano ocenie statystycznej w programie Statistica 6,0. Wyniki dotyczące odsetka plemników o prawidłowej budowie morfologicznej oraz odsetka plemników z wadami głównymi i podrzędnymi po-

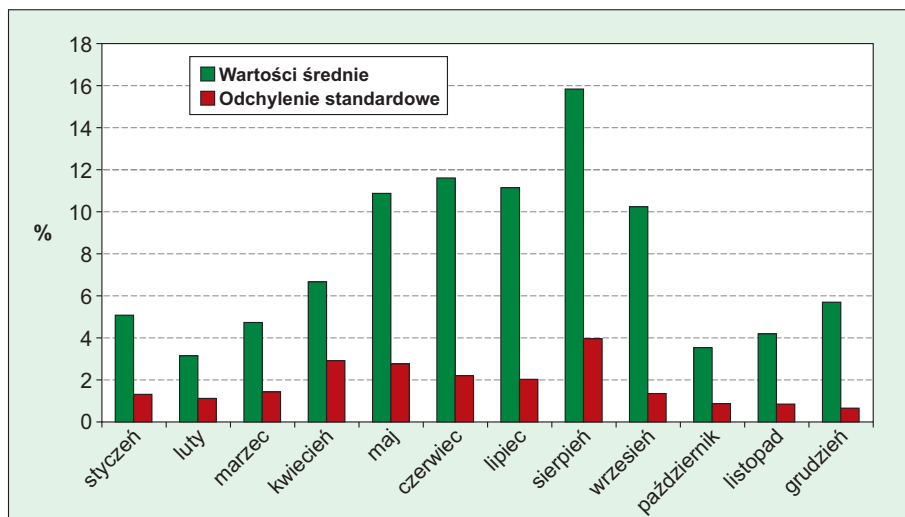
dano jako wartości średnie i odchylenie standardowe, zaś wyniki dotyczące odsetka poszczególnych wad głównych i podrzędnych podano jako wartości średnie dla grupy (n = 20). Uzyskane wyniki badań zostały przedstawione w formie wykresów.

Wyniki i omówienie

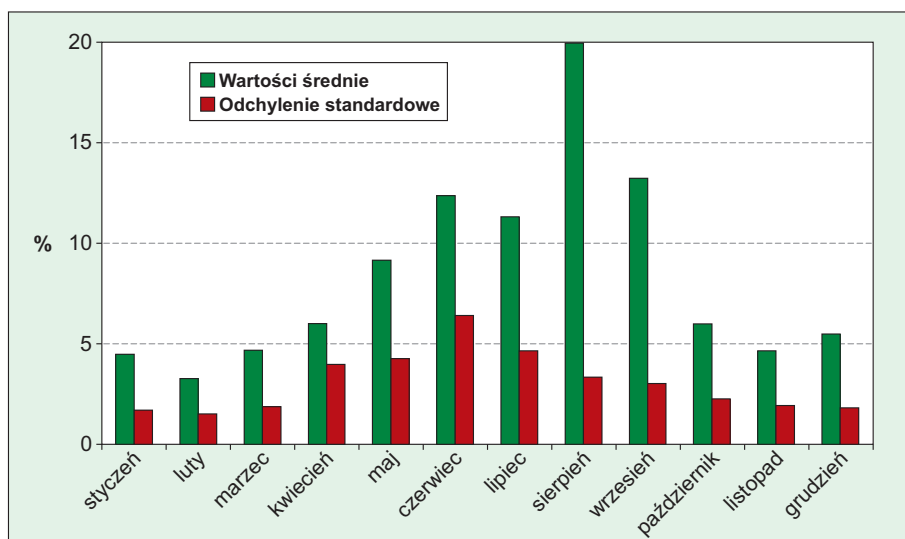
Odsetek plemników o prawidłowej budowie morfologicznej w ejakulatach knurów poddawanych ocenie w poszczególnych miesiącach roku przedstawiono na ryc. 1. Z uzyskanych danych wynika, że procent plemników prawidłowych zmienił się dość dynamicznie w zależności od terminu pozyskania nasienia. Najwięcej plemników o niezmienionej budowie było w miesiącach zimowych i w okresie wczesnej wiosny (grudzień-kwiecień) oraz jesiennych (październik i listopad), najmniej zaś późną wiosną i latem (czerwiec-wrzesień). Ilość plemników prawidłowych morfologicznie zmniejszała się na korzyść plemników o zmienionej morfologii (ryc. 2 i 3). Wzrost odsetka zmian morfologicznych w wymienionym okresie, obserwowano zarówno w wadach głównych, jak i podrzędnych. Wzrost odsetka plemników z wadami głównymi, nieznaczny w kwietniu, większy w maju, czerwcu i lipcu, a największy w sierpniu, mieścił się jeszcze (z wyjątkiem sierpnia) w granicach norm uznawanych za fizjologiczne dla samców tego gatunku zwierząt. Największy odsetek wad głównych obserwowano w sierpniu (prawie 18%) i była to różnica statystycznie istotna w porównaniu do wartości uzyskanych w innych miesiącach. Była to też wartość przewyższająca normę przyjętą jako fizjologiczna (do 15%), kwalifikująca nasienie jako nieprzydatne



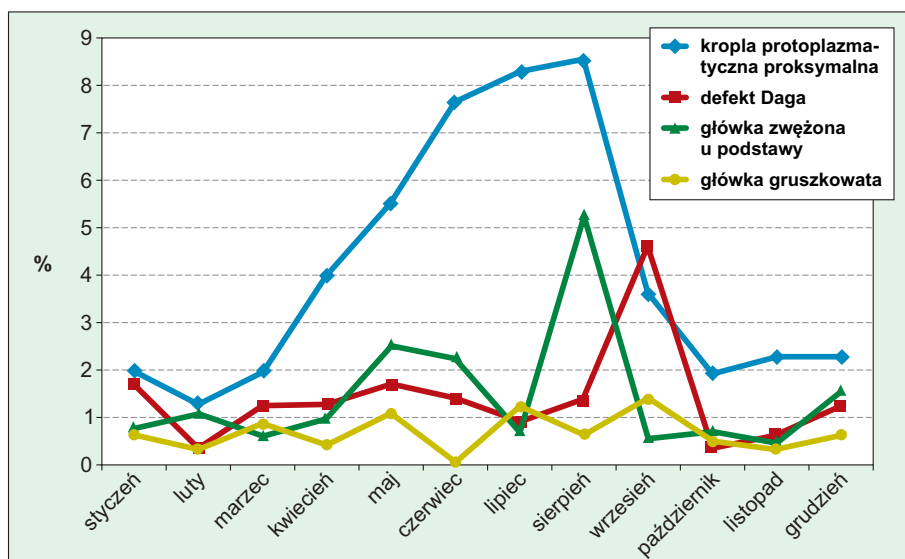
Ryc. 1. Odsetek plemników prawidłowych morfologicznie w przebiegu doświadczenia (n = 20)



Ryc. 2. Kształtowanie się wad głównych plemników w przebiegu doświadczenia (n = 20)



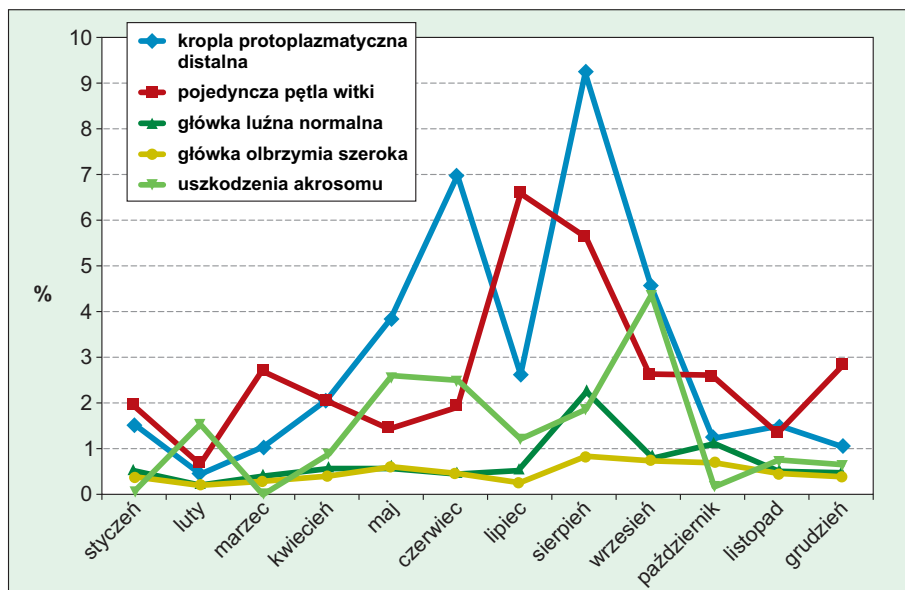
Ryc. 3. Kształtowanie się wad podrzędnych plemników w przebiegu doświadczenia (n = 20)



Ryc. 4. Kształtowanie się poszczególnych wad głównych plemników w przebiegu doświadczenia (n = 20)

w tym czasie do wykorzystania do inseminacji.

Zwiększony odsetek wad podrzędnych (ryc. 3) obserwowany był od maja (9,14%), zwiększył się w czerwcu (12%) i lipcu (11,0%), osiągając w sierpniu wartość ponad 19,0%. We wrześniu nastąpił spadek wartości do poziomu 13,22%. W pozostałych miesiącach roku odsetek plemników z wadami podrzędnymi, z pewnymi wahaniami, kształtował się na podobnym poziomie. Wartości dotyczące tego parametru przez cały okres badania mieściły się w granicach norm fizjologicznych. W wadach głównych najczęściej pojawiającymi się nieprawidłowościami były: kropla protoplazmatyczna w położeniu bliższym, defekt Daga, główka zwężona u podstawy i plemnik z główką gruszkowatą (ryc. 4). Wadą najczęściej powtarzającą się, czyli tzw. dominującą w tej grupie, były plemniki z kroplą protoplazmatyczną w położeniu bliższym. Jest to istotne, ponieważ plemniki z wadą dominującą w nasieniu zdrowego samca nie powinny przekraczać 1/3 wad głównych, tj. 5%. W badaniach własnych odsetek plemników z kroplą protoplazmatyczną w położeniu bliższym przekroczył tę wartość w czterech miesiącach, tj. w maju, czerwcu, lipcu i sierpniu, wskazując na okresową, ograniczoną przydatność nasienia do rozrodu. Najczęściej występującymi wadami podrzędnymi (ryc. 5) były plemniki z kroplą w położeniu dalszym i z pojedynczą pętlą wtki, w mniejszym odsetku – z uszkodzonym akrosomem, z główką olbrzymią i szeroką oraz plemniki z główką luźną i normalną. Widoczny wzrost odsetka plemników z wadami podrzędnymi w wymienionych miesiącach dotyczył plemników z kroplą protoplazmatyczną w położeniu dalszym oraz plemników z pojedynczą pętlą na końcu wtki. Pozostałe wady w tej grupie z nieznacznymi wahaniami kształtowały się przez cały okres badania na podobnie niskim poziomie. Zmiany dotyczące kształtowania się wad głównych i podrzędnych obserwowane w badaniach własnych



Ryc. 5. Kształtowanie się poszczególnych wad podrzędnych plemników w przebiegu doświadczenia (n = 20)

potwierdzają badania innych autorów (2). W pracy tej opisywane są dwa okresy wzrostu wad plemników w okresie całego roku, pierwszy: maj, czerwiec, a drugi: wrzesień, październik. W badaniach własnych największe, widoczne zmiany obserwowane były od maja do sierpnia, czyli w okresie najmniej korzystniejszych warunków środowiskowych, spowodowanych letnimi upałami. Wzrost temperatury otoczenia jest dla samców reproduktorów bardzo istotnym czynnikiem, który powinien być brany pod uwagę przy pozyskiwaniu nasienia w stacjach produkcji nasienia, a zwłaszcza u knurów, u których mechanizm termoregulacji jąder jest najmniej efektywny ze wszystkich gatunków zwierząt (14). Umieszczenie jąder ściśle przy powłokach ciała sprzyja ich przegrzaniu, co powoduje uszkodzenie nabłonka plemnikotwórczego i w efekcie pogorszenie jakości nasienia. Badania przedstawione przez Suriyasomboon (16) potwierdzają negatywne oddziaływanie podwyższonej temperatury otoczenia na funkcję nabłonka plemnikotwórczego, powodujące obniżenie produkcji plemników i ich koncentrację w wydzielanym ejakulacie. W badaniach tych wykazano ponadto, że koncentracja plemników i ich ogólna liczba w ejakulacie jest mniejsza latem niż w pozostałych porach roku. Wzrost koncentracji plemników obserwowano w miesiącach jesiennych (obserwacje niepublikowane), kiedy obniżyła się temperatura otoczenia, wpływając korzystnie na przebieg procesu spermatogenezy, a osłabiona po okresie letnich upałów funkcja jąder knura powraca do normy. Przyczynami zaburzeń w budowie morfologicznej plemników mogą być czynniki środowiskowe oraz genetyczne lub ich współdziałanie. Przypuszcza się, że zmiany morfologiczne plemników o podłożu genetycznym występują w kolejnych pobieranych ejakulatach w stałej częstotliwości bez względu na czynniki środowiskowe (2, 3). Inne zmiany występujące w nasieniu obserwowane

z różną częstotliwością mogą być wynikiem współdziałania czynników genetycznych i środowiskowych. Podawane preparaty profilaktyczne i lecznicze również mogą pogarszać jakość nasienia, a ich stosowanie musi być ściśle kontrolowane.

Na podstawie badania morfologii plemników można wnioskować o przebiegu spermatogenezy i na tej podstawie ocenić przydatność samca do rozrodu. W nasieniu o dużej powtarzalności wad głównych, także pozostałe, prawidłowo zbudowane plemniki mogą mieć ograniczoną zdolność do zapłodnienia, dlatego też przyjmuje się pewne wartości graniczne określające dopuszczalny odsetek wad głównych i podrzędnych w nasieniu rozplodników. Odsetek plemników

ze zmianami morfologicznymi nie powinien przekraczać 15% dla wad głównych, a 25% dla wad podrzędnych. W badaniach własnych odsetek wad plemników głównych i podrzędnych utrzymywał się na niskim poziomie, jednak są miesiące, kiedy ilość wad głównych wzrasta do 18%, wartości wad podrzędnych w tym samym czasie również znacznie wzrastały z 2-6% nawet do 12%. Nie bez znaczenia jest też, jakiego rodzaju zmiany w budowie morfologicznej występują w nasieniu. Nawet mały odsetek plemników z kropłą protoplazmatyczną w położeniu bliższym może obniżać ruchliwość plemników i płodność nasienia. Obecność tej wady w nasieniu świadczy o zaburzonym procesie dojrzewania plemników, który zachodzi podczas przesuwania plemników przez kolejne odcinki najądrza. Zaburzenie dojrzewania w początkowym odcinku plemnika skutkuje wadą główną – kropłą protoplazmatyczną w położeniu bliższym (proksymalnym), a w końcowym odcinku prowadzi do powstania kropki protoplazmatycznej w położeniu dalszym (diestalnym), występującej już jako wada podrzędna. Badania własne wykazały znaczny wzrost odsetka plemników z kropłą w położeniu bliższym i dalszym w miesiącach letnich, co świadczy o niekorzystnym działaniu wysokiej temperatury otoczenia. Prawie zawsze obserwuje się plemniki z kropłą protoplazmatyczną w położeniu dalszym przy nadmiernej eksploatacji samców. Do często występującej wady podrzędnej zalicza się też plemniki z pojedynczą pętlą witki, przy czym zmiana ta, jak wynika z obserwacji własnych, jest bardziej zależna od właściwie zbuforowanego rozrzedzalnika niż od pory roku.

Defekt Daga i główka zwężona u podstawy przejawiają tendencję wzrostową w miesiącach letnich. Główka gruszkowata, główka olbrzymia i szeroka, wydają się nie ulegać większym wpływom sezonowym, być może dlatego, że zmiany te są najczęściej

uwarunkowane genetycznie (3, 15). Niekorzystne czynniki środowiskowe zaburzają proces dojrzewania plemników, a spermatogeneza zachodzi z nieznanym tylko utrudnieniem, co zależy też od nasilenia niekorzystnych oddziaływań środowiskowych. Są w czasie późnej wiosny i lata dni ze znacznie podwyższoną temperaturą, w niektórych latach nawet z bardzo długimi upalnymi miesiącami, dlatego obserwowane zmiany morfologiczne plemników będą występowały z różnym nasileniem. Badania Ciereszko i wsp. (4) wykazały w okresie letnim wzrost aktywności akrozyny, umiejscowionej w akrosomie plemników, co zdaniem autorów, może być wynikiem zbyt wysokiej temperatury otoczenia, w jakiej przebywają knury w tym czasie i negatywnego jej oddziaływania na proces spermatogenezy oraz stabilizację błon cytoplazmatycznych plemników. W badaniach własnych obserwowano również wyraźny wzrost odsetka plemników z uszkodzonym akrosomem, chociaż wartości mieściły się w granicach norm fizjologicznych, jednak autorzy chcą zwrócić uwagę na fakt, iż uszkodzenia akrosomu są bardzo ważnym kryterium przydatności nasienia do zapłodnienia. Akrosom jest miejscem głównej lokalizacji związków enzymatycznych, biorących czynny udział w przemieszczaniu się plemników przez drogi rodne samicy, wyszukiwaniu komórki jajowej oraz penetracji jej osłonki przejrzystej, umożliwiającą w efekcie kariogamię i rozwój zarodka.

Zauważoną prawidłowością w przedstawionych badaniach własnych, potwierdzoną również badaniami innych autorów, jest zmniejszanie się odsetka plemników o prawidłowej budowie morfologicznej od miesięcy wiosennych (maj) do końca okresu letniego (sierpień), ponowny wzrost ilości plemników prawidłowych we wrześniu oraz jego stabilizacja w miesiącach jesiennych i zimowych. Obserwowane zmiany w jakości morfologicznej plemników związane są głównie ze wzrostem temperatury charakterystycznym dla miesięcy letnich w naszej strefie klimatycznej. Wzrost temperatury otoczenia obniża wydolność układu termoregulacyjnego jąder i prowadzi w konsekwencji do zaburzeń procesu spermatogenezy. Proces powstawania plemników może być również zaburzony w wyniku obniżonego stężenia androgenów w organizmie samca. Według Claus i wsp. (5, 6), zawartość testosteronu i androstenonu zarówno w surowicy krwi, jak i w nasieniu zmniejsza się właśnie w miesiącach letnich (lipiec i sierpień), kiedy spada odsetek plemników prawidłowych morfologicznie, natomiast w miesiącach jesiennych (październik i listopad) autorzy ci obserwowali najwyższe stężenia androgenów, co może być przyczyną poprawy jakości nasienia pod względem morfologicznym.

Piśmiennictwo

1. Adamiak A., Kondracki S., Wysokińska A.: Wpływ pory roku na właściwości fizyczne ejakulatu knurów rasy WBC i PBZ. Rocz. Nauk. Zoot. 2010, 37, (2), 159-167.
2. Banaszewska D., Kondracki S., Wysokińska A.: Wpływ sezonu na zmiany w budowie morfologicznej plemników wybranych ras knurów inseminacyjnych. Acta Sci. Pol. Zootechnica. 2007, 6, 3-114.
3. Chenoweth P. J.: Genetic sperm defects. Theriogenology 2005, 64, 457-468.
4. Ciereszko A., Ottobre J. S., Glogowski J.: Effects of season and breed on sperm acrosin activity and semen quality of boars. Anim. Reprod. Sci. 2000, 64, 89-96.
5. Claus R., Schopper D., Wagner H. G., Weiler U.: Photoperiodic influences on reproduction of domestic boars. I. Light influences on testicular steroids in peripheral blood plasma and seminal plasma. Zbl. Vet. Med. A. 1985, 32, 86-98.
6. Claus R., Weiler U., Wagner H. G.: Photoperiodic influences on reproduction of domestic boars. II. Light influences on semen characteristics and libido. Zbl. Vet. Med. A. 1985, 32, 99-109.
7. Jarczyk A., Nogaj J.: Wpływ pory roku urodzenia loch na ich wartość. Materiały z LXXIII Zjazdu Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego, Sekcja Chowu i Hodowli Trzody Chlewnej, Lublin 2008.
8. Kawęcka M., Dłużniak Z., Pietruszka A., Delikator B.: Użytkowość rozplodowa loch w zależności od sezonu oraz metody ich krycia lub inseminacji. Acta Sci. Pol., Zootechnica 2007, 6, 29-38.
9. Kozdrowski R.: Wpływ pory roku na jakość nasienia knurów. Trzoda chlewna 2004, 2, 31-33.
10. Kozdrowski R., Dubiel A.: Morphological changes in wild boar (*Sus scrofa* L.) semen in annual cycle. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities. Veterinary Medicin. 2004, 7, <http://www.ejpau.media.pl/volume7/issue2/veterinary/art-10.html>
11. Marnet B., Vieitez P., Milhet P., Ri choilley G., Lesourd F.: Computer-assisted assessment of sperm morphology: comparasion with conventional techniques. Inter. J. Androl. 2000, 23, 22-28.
12. Owsiany J., Fiałkowski B., Kawęcka M., Czarnecki R., Matysiak B. Ł.: Porównanie cech wartości rozrodczej knurów linii 900, urodzonych w sezonie wiosennym i jesiennym. Zesz. Nauk. Prz. Hod. 2004, 72, 77-83.
13. Pokrywka K., Ruda M., Tereszkiwicz K.: Jakość nasienia knurów czystorasowych urodzonych w różnych porach roku. Acta Sci. Pol., Zootechnica 2009, 8, 33-40.
14. Sancho S., Pinart E., Briz M., Garcia-Gil N., Badia N., Bassois J., Kadar E., Pruneda A., Bussaille E., Yeste M., Coil M. G., Bonet S.: Semen quality of postpubertal boars during: Increasing natural photoperiods. Theriogenology 2004, 62, 1271-1282.
15. Sun F., Ko E., Martin R. H.: Is there a relationship between sperm chromosome abnormalities and sperm morphology? Reprod. Biol. Endocrinol. 2006, 4, 1-9.
16. Suriyasomboon A.: Herd investigation on Sperm Production in Boars, and Sow Fertility under Tropical Conditions. Doctoral thesis. Acta Universitatis Agriculturae Sci. 2005, 72, 1-52.
17. Szostak B., Sarzyńska J.: The Influence of the Breed and Age on the Libido of Insemination Boars. Acta Sci. Pol., Zootechnica 2011, 10, 103-110.
18. Szostak B., Sarzyńska J.: Wpływ rasy i wieku na obecność wybranych wad morfologicznych plemników w nasieniu knurów. Acta Sci. Pol., Zootechnica 2010, 9, 231-238.
19. Wileczyńska E., Kondracki St., Wysokińska A., Kowalewski D., Gajownik K.: Jakość nasienia knurów ras wpb, pbz, duroc i pietrain w poszczególnych miesiącach roku. Roczniki Naukowe Polskiego Towarzystwa Zootechnicznego 2013, 9, 49-56.
20. Wysokińska A., Kondracki St., Kowalewski D., Adamiak A., Muczyńska W.: Effect of seasonal Factors on the Ejaculate properties of crossbred Duroc × Pietrain and Pietrain × Duroc Boars as well as purebred Duroc and Pietrain Boars. Bull. Vet. Inst. Pulawy 2009, 53, 677-685.

Adres autora: dr Piotr Brodzki, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin; e-mail: wetdoc@interia.pl