

Tárolási hőmérséklet hatása különböző fajtájú kosok ondójának minőségére

Oláh János – Fazekas Gergely – Pécsi Anna –
Vass Nóra – Kovács András – Jávor András

Debreceni Egyetem Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma,
Mezőgazdaságtudományi Kar,

Állattenyésztéstudományi Intézet, Debrecen

olahja@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Megállapítható, hogy az utószezonban vizsgált őshonos cigája, szapora merinó és barbadoszi tenyészkosok hígított ondója különböző hőmérsékleten eltérő ideig őrzi meg mozgás képességét. A szerzők 23°C-on és 8°C-on vizsgálták 24 óránként 3 napig a juhondó motilitását. Mindkét tárolási hőmérséklet esetén az értékek legnagyobb mértékben az ondóvételt követő 24 órában csökkentek, majd a csökkenés mértéke lassult. A többtényezős varianciaanalízissel a friss ondó motilitási eredményeit hasonlították össze a csoportok között és a szapora merinó fajta esetében szignifikánsan nagyobb értékeket találtak a másik két fajtához képest. A fajták között és azokon belül nagy egyedi különbségek mutatkoztak a friss sperma motilitásában. A tárolás során vizsgálva az ondó motilitásának változását az idő függvényében megállapították, hogy 8°C-on a sejtek motilitás csökkenésének tendenciája nem volt oly meredek, mint a 23°C-on való tárolásnál. A friss ondóban mért alacsonyabb pH szobahőmérsékleten (23°C) tárolt ondó esetén jobb motilitási eredményeket adott, mint a magasabb pH. A tárolás során – mindkét hőmérsékleten – a szapora merinó ondójának motilitása (élő%) volt a legmagasabb értékű és az idő előre haladásával a csökkenés mértéke kisebb volt, vagyis e fajta egyedek tárolt hígított ondójában lévő sejtek őrítették meg nagyobb arányban előre haladó mozgási képességüket.

Kulcsszavak: kosok, tárolás, sperma, pH-érték

SUMMARY

Semen of 10 Tsigai, 3 Prolific Merino and 7 Barbados Blackbelly rams was taken in January, out of the season. Split samples of the diluted semen samples were kept at 23, v.s. 8°C and their motility was evaluated daily for 3 days by subjective microscopic investigation. The ratio of motile spermatozoa was strongly decreased during the first day, later the motility rate was sinking more slowly. It could be stated by multivariate analysis that the motility value of diluted semen of Prolific Merino rams was higher and showed a slower reduction as compared to the other two breeds. The decrease of the motility rates was slower at 8°C than at 23°C.

Keywords: rams, storage, semen, pH-value

BEVEZETÉS

A hímivarsejt önálló mozgásra képes, autonóm sejt, amelyen a testi sejtekre jellemző morfológiai tulajdonságok alig figyelhetők meg. A spermiumok a hím állatok heréjének kanyarulatlan csatornáiban képződnek, az ősondósejtekből, többszörös számtartó (mitotikus) osztódáson esnek át, majd az érési fázis

későbbi szakaszában számfelező, redukciós osztódással (meiosis) haploid kromoszómagarnitúrájú sejté (spermatida) válnak (Gere, 1996).

Az ondósejt (spermium) fejét, nyakát, törzsét és farkát különböztetjük meg. A fej a sejtmagból, a nyak a sejt középpontból, a törzs és a fark a sejt plazmájából alakul ki (Veress, 1982). Haraszti (1987) szerint az ondósejtek fejének felülete negatív, a fark felülete pozitív elektromos töltésű. Az elektromos töltés élettani jelentősége, hogy összerendezett mozgást tegyen lehetővé, és megakadályozza a spermiumok összeütközését, összecsapódását. Ha az ondósejtek elvesztik a töltésüket, azzal együtt a termékenyítő képességük is elvész (Veress, 1982). Salamon (1976) szerint a spermiumok legjellemzőbb tulajdonsága és termékenyítő képességük nélkülözhetetlen feltétele a mozgás, mely biztosítja a hímivarsejtek előrehaladását, vizsgálatával pedig, következtethetünk a termékenyítő képességére is. Az ondósejtek tömegmozgása a vaginális típusú állatok spermájára jellemző, ilyenkor a mikroszkóp alatt kis nagyítással vizsgálva a spermiumok halvonulás-szerű, hullámzó mozgását láthatjuk. Kialakításában a nagy spermiumkoncentráció és az egyes spermiumok nagy sebességű egyedi mozgása mellett, a felületi feszültségnek és az ondósejtek elektromos töltésének is van szerepe (Becze, 1983; Haraszti, 1987). A hímivarsejtek vizsgálatára alkalmas számos (bonyolult és drága felszereléseket igénylő) módszer ellenére a mindennapi diagnosztikában az ondó minősítésére a mozgás vizsgálata terjedt el a legszélesebb körben, mivel egyszerű, gyors és jól tükrözi a hímivarsejtek életképességét (Horváth és mtsai, 2006a, b).

Az egészséges állatok ejakulátumában 10-20% elhalt, 3-15%-os kórosan deformált, és 2-8% plazmacseppes, éretlen spermium található (Mucsi, 1997). Fehér (2000) szerint az ondóhólyag váladéka több mint az összes többi járulékos nemi mirigy váladéka együttesen, a kérődzőké vízszerű, sok fruktózt, mezoinozidot, ergotianint és citromsavat tartalmaz. A prosztata váladéka állatfajonként különböző minőségű, savószerű. Mennyisége juhban az ondó 4-6%-a. Redukált cukrokat, proteolitikus enzimeket és szabad aminosavakat tartalmaz, elektrolitokban nagyon gazdag, serkenti az ondósejtek mozgását. A Cowper-féle mirigyek váladéka az ejakulátum előtt ürül, elősegíti az ondósejtek gyors és veszteségmentes áramlását, viszont csökkenti az ondósejtek élettartalmát. Mivel az ondó kémhatása (pH-értéke) is jelentősen befolyásolhatja annak termékenyítő képességét

vizsgálata szükséges a spermavétel után. Az ondó a plazma puffer hatású anyagai (citrát, bikarbonát, fehérjék) segítségével igyekeznek a pH-értéket fiziológiás szinten megtartani. Az ondót szobahőmérsékleten tárolva abban a pH savi irányba tolódik el, mert a cukrok bontása során tejsav keletkezik. A baktériumokkal szennyezett ondó pH-ja pedig lúgos irányba tolódik el. A kosondó esetében a pH-érték fiziológiás esetben 6,8-7,2 között változhat (Haraszti és Zöldág, 1993; Husvéth, 1994; Pécsi, 2007). Szenci (1984) szerint a kosondó átlagos mennyisége 1 ml (0,7-2 ml), amelynek 1 ml-re átlagosan 3 milliárd (2-5 milliárd) ondósejtet tartalmaz.

A juhok mesterséges termékenyítésében nagy segítséget nyújt a sperma termékenyítő képességének 24-48 óráig való megőrzése, amely 0°C és +5°C között végzett folyékony konzerválással történik (Jávor, 2006). A 2-4°C-ra hűtött kos spermában a sejtek mozgása minimális, így 2-3 napig nagy biztonsággal eltartható, termékenyítő képessége nem, vagy alig csökken, ha a hígítás és konzerválás szabályait betartjuk, és megfelelő hígítót használunk. Nagyon valószínű, hogy a rendelkezésre álló mélyhűtött kos sperma termékenyítő képessége már közel kielégíti a gyakorlat igényeit, de az inszeminálási technológián egyértelműen javítanunk kell, a fertilizáció biztonságát fokozzuk (Pécsi, 2007).

Jól ismert, hogy a mérsékelt égövön a legtöbb juh fajta szaporodási tevékenysége őszelel zajlik, szezonhoz kötött, és a fotoperiódussal, a nappali világosság hosszának változásával áll összefüggésben. A szezonális inkább a nőivarú állatok szaporodására jellemző, de kétségtelen, hogy egyes fajták kosainál is megállapítható (Becze és mtsai, 1983). A mérsékelt égövben a kosok spermatermelése folyamatos, bár a termelt spermiumok száma őszelel magasabb, mint tavasszal (Dacheux és mtsai, 1981). Sarlós és Molnár (1995) brit tejelőjuh kosoknál augusztusban az abnormális morfológiájú spermiumok arányának növekedését is megfigyelték. Mivel a here parenchymát nagyrészt spermatogén szövet alkotja, a spermatermelési aktivitás szezonális változása kifejeződik a here méretében és térfogatában. A here súlyának szezonális változása függ a fajtától és általában a magasabb szélességi fokon (>40°) a kosok szexuális viselkedése is változik a here súlyának változásával párhuzamosan; egy nyári-őszi csúcs és egy tavaszi visszaesés tapasztalható. A trópusi égövről (10-30°) származó juh és kecske fajták azonban egyáltalán nem, vagy csak kis mértékű szezonális változást mutatnak (Avdi et al., 2004).

Előző évben beszámoltunk az awassi kosok ondójának eltarthatóságáról különböző hőmérsékleten és rámutattunk a fajtán belüli nagy egyedi eltérésekre.

Jelen munkánkban a vizsgálatokat, az őshonos cigája, a szapora merinó és a barbadoszi kosokkal végeztük, mert nincsenek adatok arra, hogy ezen fajták esetében, hogyan változik eltérő hőmérsékleten tárolva a hígított juhondó minősége. Megvizsgáltuk,

hogy e tekintetben találunk-e statisztikailag is kimutatható különbséget a fajták között. Vizsgáltuk továbbá azt is, hogy a levett ondó pH-értéke befolyásolja-e annak tárolhatóságát.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletbe 20 tenyészkost vontunk be, melyek három fajtaba tartoznak. Az őshonos cigája csókai fajtaváltozatát, a szapora merinót és a szőrös juhok csoportjába tartozó barbadoszi fajtájú kosok friss illetve 8°C-on és 23°C-on tárolt hígított ondóját vizsgáltuk.

A szapora merinó az év bármely szakában ivarzik, sűrítve ellelhető, igényes, belterjes tartást igénylő fajta (Veress és mtsai, 1995). A cigája egy régi, önálló fajta, amely az ősi kis-ázsiai fajtakörbe sorolható, Magyarország területén az 1700-as években jelent meg, jelenlegi tenyésztőterülete 12-14 országra terjed ki (Jávor és mtsai, 2006). Nyolc országban található 41 cigája és zackel fajtakörbe tartozó juhállományra kiterjedő genetikai távolság becslését végezték Kusza és mtsai (2008), megállapításaik szerint a vizsgálatba vont 12 magyar cigája állomány genetikai szerkezete nem tér el nagymértékben egymástól. A Debreceni Egyetem Kísérleti telepén a cigája csókai fajtaváltozatát tartják fenn, és ugyanitt tenyésztik a szapora merinó és a barbadoszi fajtát is. Ez a fajta Amerikában a legismertebb szőrös juh fajták közé tartozik, mely szarvatlan, aszezonálisan ivarzik, ikerellésre hajlamos és korán tenyésztésbe vehető (Mason, 1980).

A spermavétel az utószezonban – a Debreceni Egyetem Agrár-és Műszaki Tudományok Centrumának Kismacsi Kísérleti telepén – 2008. január 7-én volt 10 cigája, 3 szapora merinó és 7 barbadoszi kos. A spermavétel után ugyanitt vizsgáltuk a friss sperma mennyiségét (ml-ben), sűrűségét (szubjektív becsléssel), motilitását (szubjektív mikroszkópos vizsgálattal) és a pH-ját (indikátorpapírral), ezt követően került sor a sperma hígítására. A hígításhoz Tris-hígítót használtunk, mennyisége az ondó sűrűségétől függött. A hígított ondót két részre osztottuk és az egyik felét hűtőben 8°C-on, míg a másik felét a 23°C-on tároltuk a Debreceni Egyetem Agrár-és Műszaki Tudományok Centrumának, Spermalaboratóriumában. Az előrehaladó mozgást végző spermiumok arányát 24 óránként mikroszkóposan szubjektív becsléssel vizsgáltuk 3 napig. A motilitás értékelést OLYMPUS BX61 mikroszkópban DP71 kamera segítségével végeztük.

Az adatok statisztikai értékeléséhez többszörös varianciaanalízist végeztünk.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A friss sperma esetében az általunk megállapított mennyiség, sűrűség, motilitás és pH értékek a korábban leírt irodalmi adatoktól nem tértek el jelentősen. A friss ondóban mért pH és az ejakulátumban előhaladó mozgást végző spermiumok

aránya (élő %) között nem találtunk összefüggést (korrelációt). A friss ondó motilitását vizsgálva a szapora merinó (76,7%) esetében kiemelkedően nagy értékeket kaptunk. A barbadoszi (53,3%) fajta ejakulátuma volt a leggyengébb ebben a tekintetben, a cigája kosok (66,7%) pedig a két fajta csoport közötti értékeket mutattak.

A motilitás 23°C-on tárolt hígított spermákban (ahogyan az várható is volt) az ondóvételt követő 24 óra elteltével jelentősen csökkent mindhárom fajtánál (C-18,3%; SzM-28,3%; B-12,5%) (1. ábra), egyes kosok esetében mozgás már szinte nem volt észlelhető (B6226 és B6221: 5-5%).

1. ábra: A motilitás változása a három fajta 23°C-on tárolt hígított spermáinál

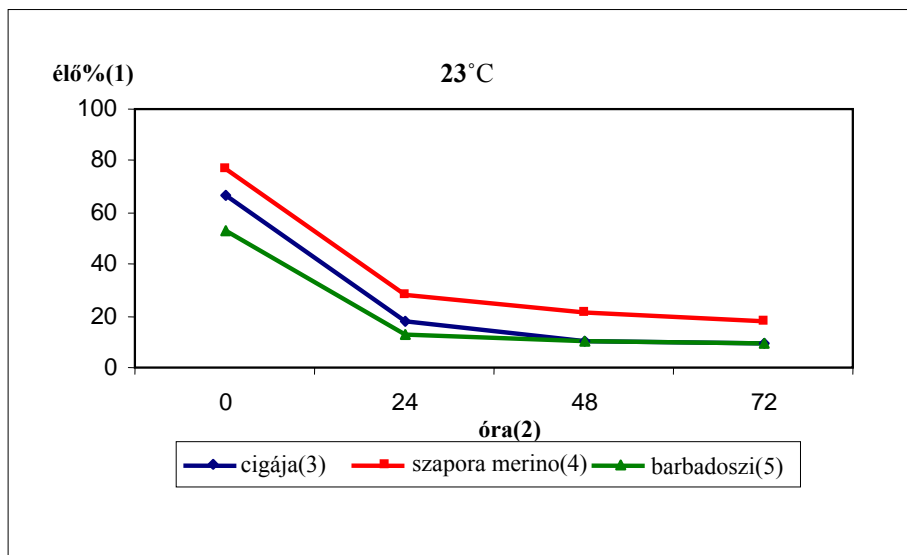


Figure 1: Changes of motility rates of spermatozoa kept at 23°C
Motile%(1), hours(2), cigája(3), polifíc merino(4), barbados(5)

2. ábra: A motilitás változása a három fajta 8°C-on tárolt spermái esetében

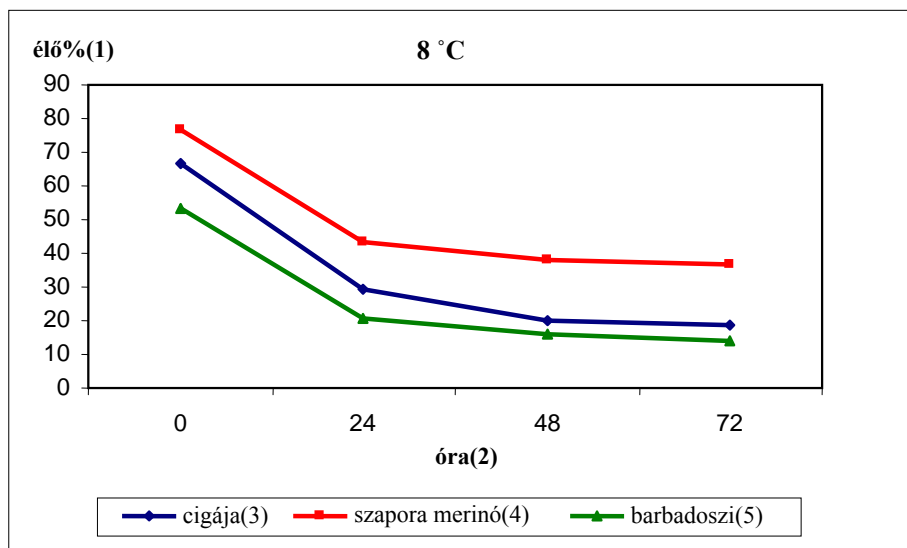


Figure 2: Changes of motility rates of spermatozoa kept at 8°C
Motile%(1), hours(2), cigája(3), polifíc merino(4), barbados(5)

A 23°C-on való tárolás során a motilitás értékek tovább csökkentek 48 és 72 óra elteltével mindhárom fajta termékenyítő anyagában (48 óra: C-10,6%; SzM-21,7%; B-10%; 72 óra: C-9,4%; SzM-18,3% B-9,2%). A 8°C-on tárolt hígított ondó motilitását az

idő függvényében (2. ábra) vizsgálva, megállapítottuk, hogy a sejtek motilitás csökkenésének tendenciája hasonló volt, mint a 23 °C-on való tárolásnál, de a csökkenés mértéke lassabb volt, vagyis a tárolás során nagyobb arányban

végeztek a hímivarsejtek előrehaladó mozgást (48 óra: C-20,0%; SzM-38,3%; B-15,8%; 72 óra: C-18,9%; SzM-36,7%, B-14,2%).

Statisztikai elemzéssel (többszörös varianciaanalízis) megvizsgáltuk a 20 tenyészkosnál azt is, hogy a friss ondóban mért pH befolyásolja-e a tárolás alatt a motilitás (élő %) változását. A 8°C-os tárolást értékelve (1. táblázat) azt láthatjuk, hogy a friss sperma pH értékének növekedésével párhuzamosan csökkent a tárolás során megállapítható motilitás (élő %). Mivel az *r* értéke mindhárom esetben kicsi (-0,3 körüli), és a szignifikancia szint is nagyobb, mint az elfogadhatóság felső határa, így nem tekinthetjük tényleges változásnak az általunk mért eredményeket. A 23°C-os tárolást értékelve (2. táblázat) szintén azt láthatjuk, hogy a friss spermában mért pH értékének növekedésével párhuzamosan csökken a motilitás az idő előrehaladásával. Azonban ezekben, az esetben az *r* értéke mindhárom vizsgálati időpontban közepes (-0,5 körüli), és a szignifikancia szint sem éri el a szignifikancia elfogadás felső határát, így azt mondhatjuk, hogy a friss ondó pH-értéke és a motilitás (élő%) változása között vizsgálatunk szerint statisztikailag igazolható összefüggés van 23°C-on való tároláskor.

1. táblázat

A friss sperma pH-jának és 8°C-os tárolás során vizsgált motilitásnak a kapcsolata

8°C-on	r	P
24 óra	-0,33	0,16
48 óra	-0,28	0,24
72 óra	-0,3	0,2

*Szignifikancia elfogadás határa $p < 0,01$

Table 1: Connection of the pH of the fresh semen with the motility during storage at 8°C

2. táblázat

A friss sperma pH-jának és 23°C-os tárolás során vizsgált motilitásnak a kapcsolata

23°C-on	r	P
24 óra	-0,524	0,0178*
48 óra	-0,492	0,027*
72 óra	-0,452	0,0454*

*Szignifikancia elfogadás határa $p < 0,05$

Table 2: Connection of the pH of the fresh semen with the motility during storage at 23°C

Varianciaanalízissel elemeztük azt is, hogy a különböző tárolási hőmérsékleten és tárolási idő alatt megállapított motilitás (élő %) különbözött-e a vizsgálatba bevont három fajta között.

A 8°C-os tárolási hőmérsékleten a motilitás (élő %) csökkenésének vizsgálata során a szapora merinó a másik két fajtánál, mindhárom vizsgálati időpontban statisztikailag igazolhatóan (szignifikánsan) jobbnak bizonyult. A másik – 23°C-os – tárolási hőmérsékleten is hasonló eredményeket kaptunk, vagyis ebben az esetben is a szapora merinó ondójának motilitás (élő %) csökkenése, lassabb ütemű volt, mint a másik két fajtaé, a különbség ebben az esetben is szignifikáns volt (3. táblázat).

3. táblázat

A fajták összehasonlítása a 8°C-os tárolás alatt megállapított motilitás értékek alapján

8°C-on	Összehasonlított fajták	p
24 óra	cigája-szapora merinó	0,061
	cigája-barbadoszi	0,183
	barbadoszi-szapora merinó	0,01*
48 óra	cigája-szapora merinó	0,011*
	cigája-barbadoszi	0,369
	barbadoszi-szapora merinó	0,004*
72 óra	cigája-szapora merinó	0,004*
	cigája-barbadoszi	0,244
	barbadoszi-szapora merinó	0,001*

*Szignifikancia elfogadás határa $p < 0,05$

Table 3: Comparison of the breeds based on the motility values during storage at 8°C

A friss ondóban mért alacsonyabb pH (<7) (6,8; 6 egyednél) szobahőmérsékleten (23°C) tárolt ondó esetén jobb motilitási eredményeket adott, mint a magasabb pH (>7) (7,1-7,4). A tárolás során – mind 8°C-on, mind 23°C-on – a szapora merinó ondójának motilitása (élő %) volt a legmagasabb értékű és az idő előre haladásával a csökkenés mértéke kisebb volt, vagyis e fajta egyedek tárolt hígított ondójában lévő sejtek őrizték meg nagyobb arányban előre haladó mozgási képességüket (4. táblázat).

4. táblázat

A fajták összehasonlítása a 23°C-os tárolás alatt megállapított motilitás értékek alapján

23°C-on	Összehasonlított fajták	p
24 óra	cigája-szapora merinó	0,05
	cigája-barbadoszi	0,14
	barbadoszi-szapora merinó	0,007*
48 óra	cigája-szapora merinó	0,022*
	cigája-barbadoszi	0,84
	barbadoszi-szapora merinó	0,02*
72 óra	cigája-szapora merinó	0,022*
	cigája-barbadoszi	0,88
	barbadoszi-szapora merinó	0,023*

*Szignifikancia elfogadás határa $p < 0,05$

Table 4: Comparison of the breeds based on the motility values during storage at 23°C

IRODALOM

- 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.
- Becze J. (szerk.) (1983): A hímivarú állatok szaporodásbiológiája. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Dacheux, J. L.-Pisselet, C.-Blanc, M. R.-Hocheau-de-Reviere, M. T.-Courrot, M. (1981): Seasonal variations in rete testis fluid secretion and sperm production in different breeds of ram. *Journal of Reproduction and Fertility*. 61, 363-371.
- Fehér Gy. (2000): A háziállatok funkcionális anatómiája. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Gere T. (1996): Állattenyésztés Alapismertek. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Haraszti J. (1987): A háziállatok szülészete és szaporodásbiológiája. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Haraszti J.-Zöldág L. (1993): A háziállatok szülészete és szaporodásbiológiája. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Horn P. (szerk.) (1995): Állattenyésztés 1. Szarvasmarha, juh, ló. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Horváth A.-Vásárhelyi J.-Szenci O. (2006a): A hímivarsejtek mozgása. Irodalmi összefoglaló 1. rész. A mozgás képességének szerkezeti elemei és vizsgálatuk. *Magyar Állatorvosok Lapja* 128. 308-316.
- Horváth A.-Vásárhelyi J.-Szenci O. (2006b): A hímivarsejtek mozgása. Irodalmi összefoglaló 2. rész. A mozgást vizsgáló módszerek fejlődése. *Magyar Állatorvosok Lapja* 128. 437-442.
- Husvéth F. (szerk.) (1994): A háziállatok élettana és anatómiája. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Jávor A. (szerk.) (2006): Juhtenyésztés A-tól Z-ig. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Jávor A.-Kukovics S.-Dunka B. (2006): Régi magyar juhajták. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Kusza, Sz.-Nagy, I.-Sasvári, Zs.-Stágel, A.-Németh, T.-Molnár, A.-Kume, K.-Bősze, Zs.-Jávor, A.-Kukovics, S. (2008): Genetic diversity and population structure of Tsigai and Zackel type of sheep breeds in the Central-, Eastern- and Southern-European regions, *Small Rum Res* 78: 13-23.
- Mason, I. L. (1980): Prolific Tropical Sheep. FAO Animal Production and Health Paper 17. M-22 ISBN 92-5-100845-0 Food and Agriculture Organization of the United Nations Rome
- Mucsi I. (szerk.) (1997): Juhtenyésztés és -tartás. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Pécsi T. (szerk.) (2007): Házi emlősállatok mesterséges termékenyítése. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Salamon, S. (1976): Artificial Insemination of Sheep. Department of Animal Husbandry, University of Sydney
- Sarlós, P.-Molnár, A. (1995): Seasonal changes in sperm parameters of British Milk rams. *Acta Veterinaria Hungarica* 43, 247-257.
- Szenci O. (1984): A háziállatok szaporodása és mesterséges termékenyítése. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Veress L. (szerk.) (1982): Juhtenyésztők kézikönyve. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest
- Veress L.-Bedő S.-Lovas L.-Mucsi I.-Lengyel A.-Zomborszky Z. (1995): Juhtenyésztés. In: Állattenyésztés 1. (szerk.: Horn P.), Mezőgazda Kiadó, Budapest, 305-441.