

A kos sperma eltarthatósága

**Oláh János – Pécsi Tamás – Kovács András –
Pécsi Anna – Jávor András**

Debreceni Egyetem Agrár- és Műszaki Tudományok Centruma,
Mezőgazdaságtudományi Kar,
Állattenyésztéstudományi Intézet, Debrecen
olahja@agr.unideb.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

Megállapítható, hogy a tenyész szezonban vizsgált awassi tenyészkosok hígított ondója különböző hőmérsékleten eltérő ideig őrzi meg termékenyítő képességét. A szerzők 23°C-on és 8°C-on vizsgálták 24 óránként a juhondó motilitását. Mindkét tárolási mód esetén az értékek között legnagyobb szórás az ondóvételt követő 24. órában volt, majd a mozgó sejtek aránya lineárisan csökkent. A többszörös variancia analízissel a friss, a felolvasztott valamint a hőtűrő próbának kitett ondó motilitási eredményeit hasonlították össze és a csoportok között mindenhol szignifikáns különbséget találtak. Továbbá a fajtán belül nagy egyedi különbséget mutattak ki a friss, felolvasztott és hőtűrő próbán átesett spermiumok motilitásában.

Kulcsszavak: kosok, tárolás, fagyasztathatóság, sperma

SUMMARY

It could be stated that the diluted semen of Awassi rams taken in the breeding season preserved its fertilizing ability at different temperatures for different periods of time. The motility of spermatozoa kept at 23 vs. 8°C was checked daily. The largest spread of data was observed 24 hours after taking the semen, then the motility rate of cells showed a linear decrease. Motility results of fresh and frozen-thawed samples were compared also after heat resistance test and significant differences were found between these groups. Significant individual differences were observed in the sperm motility after heat resistance test.

Keywords: rams, storage, freezability, semen

BEVEZETÉS

A hímivarsejtek a legkülönlegesebb sejtek közé tartoznak, de valójában nem többek, mint egy mozgó sejtmag. Egyetlen szerepük a petesejt megtermékenyítése (Horváth, 2006). A spermium, rendkívül kicsiny, autonóm sejtféleség, önálló mozgásra képes, a testi sejtekre jellemző morfológiai tulajdonságok alig figyelhetők meg rajta. A spermiumok a hím állatok heréjének kanyarulatok csatornáiban képződnek, az ősondósejtekből, többszörös számtartó (mitotikus) osztódáson esnek át, majd az érési fázis későbbi szakaszában számflező, redukciós osztódással (meiosis) haploid kromoszóma-garnitúrájú sejtje (spermatida) válnak (Gere, 1996).

Az ondósejt (spermium) fejét, nyakát, törzsét és farkát különböztetjük meg. A fej a sejtmagból, a nyak a sejtközpontról, a törzs és a fark a sejt plazmájából alakul ki (Veress, 1982).

Haraszi (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. Salamon (1976) szerint a spermiumok legjellemzőbb tulajdonsága és a termékenyítő képesség nélkülözhetetlen feltétele a mozgás, mely biztosítja a spermiumok előrehaladását, és vizsgálatával, következtethetünk a termékenyítő képességére is.

Ha az ondósejtek elvesztik a töltésüket, termékenyítő képességük is megszűnik (Veress, 1982). Az ondósejtek tömegmozgása a vaginális típusú állapot spermájára jellemző. A mikroszkóp alatt látható spermiumok összességének halvonulás-szerű, hullámzó mozgását értjük alatta. Kialakításában a nagy spermiumkoncentráció és az egyes spermiumok nagy sebességű egyedi mozgása mellett a felületi feszültségnek és az ondósejtek elektromos töltésének van szerepe.

A hímivarsejtek vizsgálatára alkalmas számos 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, 2006).

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 vízszűrű, sok fruktózt, mezoinozidot, ergotianint és citromsavat tartalmaz. A prosztatata 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. 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 sperma 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 kell fokoznunk (Pécsi, 2007).

Jól ismert, hogy a mérsékelt égövön a legtöbb juh fajta szaporodási tevékenysége őszzel 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 őszzel magasabb, mint tavasszal (Dacheux et al., 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).

A faji érzékenység miatt a kos sperma mélyhűtése kevésbé kidolgozott. Nem felmért, hogy az awassi intenzív tejelő juh fajta esetében szezononként és egyedenként hogyan változik a juhondó minősége hűtést és fagyasztást követően.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatokhoz az awassi fajtájú kosok friss ondóját használtuk. Az awassi az Arab-félsziget és Mezopotámia ősi zsírfarkú kevertgyapjas fajtája, amelyet Iránig és onnan nyugatra minden arab államban tenyésztenek (Veress, 1982). A fajta 1989 óta van az országunkban, s a kilencvenes évek elején ezer egyed is meghaladó létszámú állomány jött létre (Jávor, 2006).

A vizsgálatba hét nagy genetikai értékű tenyészkost vontunk be, melyekkel mesterségesen termékenyítenek. A spermavétele és mélyhűtése a fő ivarzási szezonban 2007. október 24-én volt.

A vizsgálatba hét nagy genetikai értékű tenyészkost vontunk be, melyekkel mesterségesen termékenyítenek. A spermavétele és mélyhűtése a fő ivarzási szezonban 2007. október 24-én volt. Vizsgáltuk a friss sperma mennyiségét, sűrűségét és motilitását, ezt követően hígítottuk majd négy fokra hűtöttük. A hígított ondó egy részét két óra ekvibrációt követően mélyhűtöttük. A hígításhoz Tris-hígítót használtunk, mennyisége az ondó sűrűségétől függött. A fagyasztáshoz az általunk már alkalmazott (Kovács és mtsai, 2007) hűtőtáskás mélyhűtési technikával dolgoztunk azzal a különbséggel, hogy a műszalmákat a hűtőtáskába öntött folyékony nitrogén szintjétől 5cm-re helyeztük el és 9 percig tartottuk a nitrogén gőzben, majd ezt követően a mélyhűtött termékenyítő anyagot

konténerbe raktuk. A megmaradt ondót két részre osztottuk és az egyik felét hűtőben 8 °C-on, másik felét pedig a laboratóriumban 23 °C fokon tároltuk. Az előremozgó spermiumok arányát 24 óránként szubjektív becsléssel vizsgáltuk mindaddig, míg az 5% alá nem csökkent.

A mélyhűtött spermából egy műszalmát 40 °C vízben felolvastottuk míg egy másikat 45 °C vízfürdőben egy órán keresztül hőtűrő próbának vetettünk alá.

A spermavételre az Awassi Zrt. Mesterséges Termékenyítő és Embrióátültető Állomásán került sor és a mélyhűtés valamint a vizsgálatok a Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum, Spermaboratóriumában történtek.

Az értékelést OLYMPUS BX61 mikroszkópban DP71 kamera segítségével végeztük.

Az adatok statisztikai értékeléséhez a variancia analízist használtuk.

EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A tenyész szezonban az awassi kosok ejakulátuma 1-2 ml között változott, átlagosan 1,24 ml, melynek átlagos sűrűsége 4,43. A motilitás 23 °C-on tárolt sperma esetében az ondóvételt követő 48 óra elteltével jelentősen csökkent, egyes kosok esetében mozgás már nem volt észlelhető, és 72 óra múlva mindössze egy tenyészkos termékenyítő anyagában volt megfigyelhető minimális mozgás (1 ábra).

1. ábra: A motilitás változása 23 °C-on tárolt sperma esetében

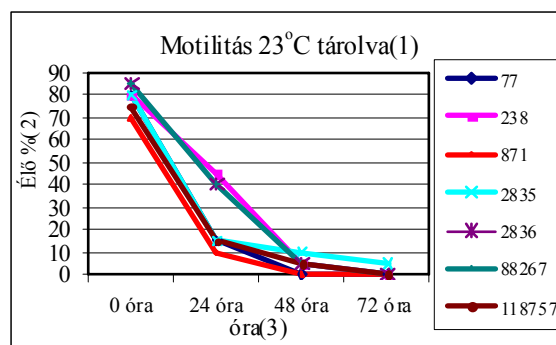


Figure 1: Change of motility of sperm kept at 23 °C
Motility kept at 23 °C(1), Live %(2), hours(3)

A hét tenyészkos friss ejakulátumában a motilitás átlagosan 79% volt és 24 óra elteltével 23 °C-on tárolva átlagosan 26%-ra csökkent. A szórásértéke az ondóvételt követően 24 óra elteltével volt a legnagyobb, majd folyamatosan csökkent (2. ábra).

A 3. ábra szemlélteti a 8 °C-on tárolt ondó motilitását az idő függvényében. A sejtek tovább mutattak előrehaladó mozgást, bár 96 óra elteltével az élő sejtek aránya erősen visszaesett. Kosonként nagy egyedi eltérés figyelhető meg az ondóvételt követő 24 és 72 óra között.

A 8 °C-on tárolt ondó esetén is a spermavételt követő 24. órában történt vizsgálat során volt a legnagyobb

az értékek szórása, majd ezt követően lineárisan csökkent (4. ábra).

2. ábra: A motilis spermiumok átlagos arányának szórása a 23°C-on tárolt mintákban

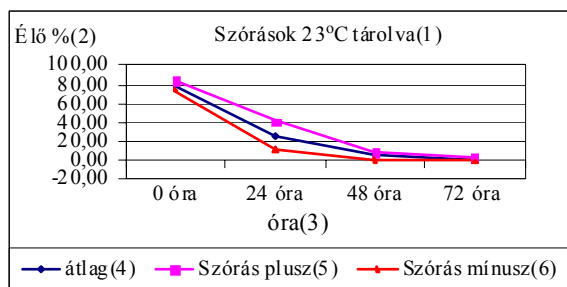


Figure 2: Standard deviation of motile spermatozoa in samples kept at 23 °C
Standard deviations kept at 23 °C(1), Live %(2), hours(3), average(4), Plus deviation(5), Minus deviation(6)

3. ábra: A motilitás változása 8°C-on tárolt sperma esetében

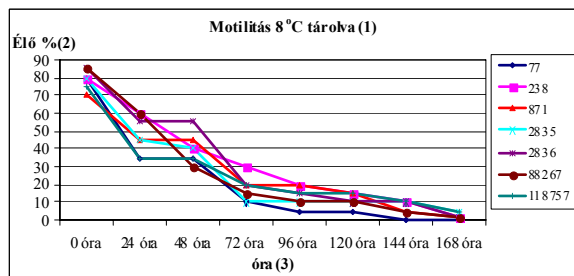


Figure 3: Change of motility of sperm kept at 8 °C
Motility kept at 8 °C(1), Live %(2), hours(3)

A töbttényezős variancia analízissel a friss, a felolvasztott valamint a hőtűrő próbának kitett ondó motilitási eredményeit hasonlítottuk össze és a csoportok között statisztikailag is bizonyított szignifikáns különbséget tapasztaltunk.

A fagyasztási és a hőtűrő próba eredményeit tenyészkosonként szemlélteti az 5. ábra. Jól látható, hogy a vizsgált awassi kosok közül a mélyhűtést és a hőtűrő próba terhelését leginkább a 2836-os tenyészkos ondjája bírta.

A tenyész szezonban az awassi kosok ondjának vizsgálatakor a friss, a tárolt és a mélyhűtött ondó motilitásában szignifikáns különbségek jelentkeztek.

Indokolt kiterjeszteni a vizsgálatokat a tenyészév különböző időszakaira és a hazánkban tenyésztett egyéb juhajtókra is, hogy általános következtetéseket vonhassunk le a juhondó minőségének meghatározására.

4. ábra: A 8°C-on tárolt spermiumok motilitásának szórása

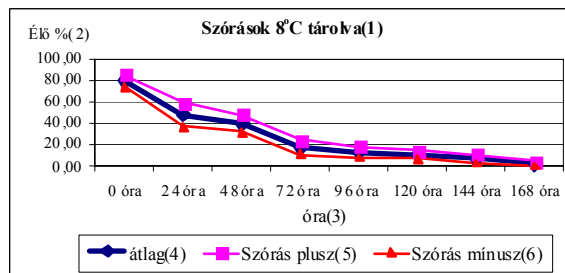


Figure 4: Standard deviation of motility of spermatozoa kept at 8 °C
Standard deviations kept at 8 °C(1), Live %(2), hours(3), average(4), Plus deviation(5), Minus deviation(6)

5. ábra: A friss, a mélyhűtött és a felolvasztás után hőtűrő próbának kitett minták motilitása

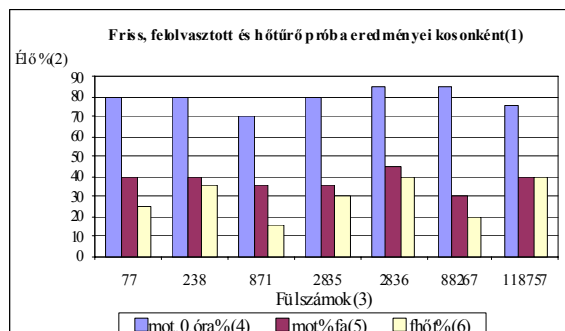


Figure 5: Motility of fresh, frozen-thawed semen and samples after heat resistance test

Results of the fresh, frozen-thawed and heat-resistance tested samples of different rams(1), Live %(2), Eartag numbers(3), motility 0h %(4), motility % after(5)

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-Reviers, 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.

Haraszi J. (1987): A háziállatok szülészete és szaporodásbiológiája. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest.
 Horváth A.-Vásárhelyi J.-Szenci O. (2006): A hímivarűjtek mozgása. Irodalmi összefoglaló 1. rész. A mozgás képességének szerkezeti elemei és vizsgálatuk. *Magyar Állatorvosok Lapja* 128. 308-316.
 Horváth A.-Vásárhelyi J.-Szenci O. (2006): A hímivarűjtek mozgása. Irodalmi összefoglaló 2. rész. A mozgást vizsgáló módszerek fejlődése. *Magyar Állatorvosok Lapja* 128. 437-442.
 Jávor A. (szerk) (2006): Juhtenyésztés A-tól Z-ig Mezőgazda Kiadó, Budapest.

Kovács A.-Khorholjav T.-Shirchingijn D.-Nagy Sz.-Kútvölgyi G.-
Oláh J.-Jávor A. (2007): Argálspermiumok mélyhűtése.
Magyar Állatorvosok Lapja, 129. 306-309.

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.