



DOI: 10.22620/agricisci.2009.01.009

ПРОГНОЗИРАНЕ НА ОПЛОДИТЕЛНАТА СПОСОБНОСТ НА МУСКУСНИ ПАТОЦИ ЧРЕЗ ВЪВЕЖДАНЕ НА
ИНДЕКС ЗА КАЧЕСТВО НА СПЕРМАТА
INTRODUCING A SEMEN QUALITY INDEX FOR ASSESSMENT OF THE FERTILIZING ABILITY OF MUSCOVY
DRAKES

Васко Герзилов
Vasko Gerzilov

Аграрен университет – Пловдив
Agricultural University – Plovdiv

E-mail: vasko@au-plovdiv.bg

Резюме

Индексът за качество на спермата (SQI), отнасящ се за спермални дози за изкуствено осеменяване с еднакъв обем (ml), се явява надежден критерий за прогнозиране на оплодителната способност на мускусните патоци. Представеният $SQI = N.M/100.(100-A)/100$ включва брой на сперматозоидите в спермалната доза (N), процент на подвижните сперматозоиди (M) и процент на нормалните живи сперматозоиди (100 – патологични сперматозоиди). Корелацията между SQI и оплодеността на яйцата за получаване на мюлари беше $r_p = 0,437$ ($p < 0,001$). Спермата се получаваше два пъти седмично от 6 мускусни патока чрез патица дразнител. Бяха получени и преценени общо по 10 еякулата от всеки паток по следните показатели: обем на еякулата, подвижност на сперматозоидите, концентрация, pH, дехидрогеназна активност, патологични и мъртви сперматозоиди. Осемняванията по групи се извършиха с индивидуална сперма, като бяха сформирани 6 групи с по 6 патици във всяка.

Abstract

The sperm quality index (SQI) available per equal volume of AI doses (mL), seems to be a promising predictor of the Muscovy semen fertilizing ability. The proposed $SQI = N.M/100.(100-A)/100$ includes the number of spermatozoa per an AI dose (N), the percentages of sperm motility (M) and percentages of live normal spermatozoa (100 – abnormal spermatozoa). The relationship between SQI and the fertility of mule eggs was $r_p = 0,437$ ($p < 0,001$). The semen was collected individually from 6 one-year-old Muscovy drakes by the teasing method two times per week. For individual evaluation semen was collected ten times in total from each male. In the fresh semen the following traits were estimated: ejaculate volume, sperm mobility, concentration, pH, methylene blue reduction test, abnormal and dead spermatozoa. Individual semen was inseminated into 6 Peking ducks in a group per treatment ($n = 6$ groups).

Ключови думи: мускусна патица, мюлари, оплоденост, индекс за качество на спермата.

Key words: Muscovy duck, Mule duck, fertility, semen quality index.

ВЪВЕДЕНИЕ

Високото ниво на селекционно-племенната работа, качеството на еякулатите, получавани от разплодниците, и непрекъснатото усъвършенстване на технологията за изкуствено осеменяване са в основата на успеха за повишаване на оплодеността на яйцата при птиците. Редица автори, работещи в областта на репродуктивната биология, установяват положителни корелации между отделни показатели на спермопродукцията и фертилитета (Белоречков и Средкова, 1990; Димитров, 1996; Wishart and Palmer, 1986; Froman et al., 1999, 2003; Parker and McDaniel, 2007). Според Dopoghue (1999) традиционните методи, използвани в птицевъдната селекция за преценка на разплодниците по отделни показатели на спермопродукцията, не са достатъчни за прогнозиране на оплодителната им

способност. На настоящия етап като подходящ метод за преценка на репродуктивния потенциал на мъжките птици и по-конкретно за прогнозиране на оплодителната им способност се използва индексът за качеството на спермата (SQI). Този индекс не е универсален – най-често в него се включват по-важните показатели на спермопродукцията като обем на еякулата, концентрация, подвижност, морфофункционално състояние и жизнеспособни сперматозоиди (Parker and McDaniel, 2002, 2004; Lukaszewicz and Kruszynski, 2003; Liu et al., 2008). При разреждане и *in vitro* съхранение на сперма някои автори включват времето за съхранение, както и биохимични показатели, отговорни за метаболизма и морфофункционалния им интегритет (Dumpala et al., 2006; Parker and McDaniel, 2006, 2007).

Целта на изследването беше да се проучи възможността за прогнозиране на оплодителната способност на мускусни патоци, участващи като бащина форма в схемата на междувидова хибридизация за получаване на мюлари чрез въвеждане на индекс за качество на спермата.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Експерименталната работа по получаването и преценката на спермата, осеменяването на патиците и инкубацията на яйцата се извърши в птицефермата към катедра „Животновъдни науки“ в Аграрния университет в Пловдив през периода май – юни.

1. Получаване и преценка на спермата

Еякулатите се получаваха от 6 едногодишни мускусни патока (*Cairina moschata*) по модифицирана от нас (Герзилов, 2000) методика на Tap (1980) и Marzoni Fecia di Cossato et al. (1996) посредством спермоколектор при честота на полово натоварване два пъти седмично при редуващи се интервали 96 и 72 часа. По време на репродуктивния период мъжките птици се отглеждаха в индивидуални клетки.

Всеки еякулат се преценяше по методики, описани от Курбатов и др. (1987) и Bakst and Cecil (1997), по следните показатели:

- ▶ Обем на еякулата (ml) – чрез директно отчитане след снемане на градуираната епруветка от каучуковия маншон на спермоколектора с точност 0,05 ml.
- ▶ Подвижност на сперматозоидите (%) – чрез визуално определяне на сперматозоидите с настъпателни движения с микроскоп Nikon Alphaphot-2YS2 (увел. 10x40).
- ▶ Концентрация на сперматозоидите ($\times 10^6/\text{ml}$) - с броителната камера на Thoma.
- ▶ pH – ниво с pH-meter MS 2011 Microsyst.
- ▶ Обща дехидрогеназна активност (sec) – чрез отчитане на времето за обезцветяване на сперма, разрежена 1:1 с 0,01%-ов разтвор от метиленово синьо във физиологичен разтвор.
- ▶ Мъртви и патологични сперматозоиди (%) – чрез микроскопско наблюдение на оцветени с еозин/нигрозин натривки.

2. Изкуствено осеменяване

В схемата на междувидова хибридизация като майчина форма от вида *Anas platyrhynchos* беше използвана породата Пекинска патица. Сформирани бяха 6 групи с по 6 бр оя патици във всяка. След макро- и микроскопска преценка на еякулатите всяка група се осеменяваше със сперма от съответен мускусен паток (номерът на патока съответстваше на номера на групата

патици). Бяха извършени общо 10 осеменявания, като се използваше доза от 0,05 ml неразредена сперма, съхранена в продължение на около 60 min при стайна температура.

3. Статистическа обработка на резултатите

Показателите, характеризиращи спермопродукцията на патоците, бяха обработени вариационно-статистически. Коефициентът на фенотипна корелация между тях, както и индексът за качество на спермата, от една страна, и оплодеността на яйцата, от друга, бяха изчислени посредством отношението между ковариацията между показателите спрямо средните им квадратични отклонения (Желязков и Цветанова, 2002)

$$r_p = \frac{\text{COV}_{xy}}{S_x S_y}$$

където: $-1 \leq r_p \leq +1$

Беше извършен и регресионен анализ от вида

$$y = ax^2 + bx + c,$$

където: y – оплодени яйца в % (функция);

x – индекс за качество на спермата (аргумент);

a, b, c – коефициенти.

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

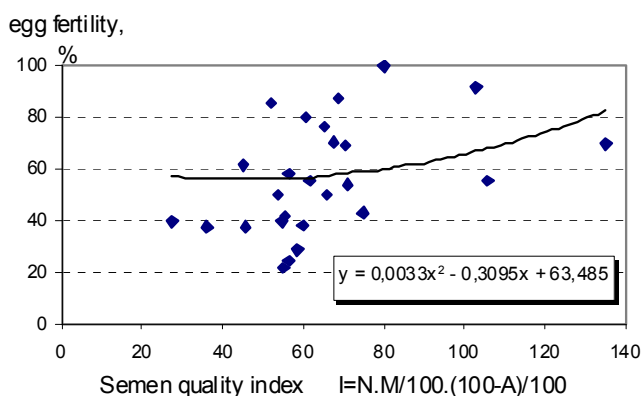
Резултатите, представени в таблица 1, показват, че има значително вариране в количествените и качествените показатели на еякулатите при различните индивиди. С най-нисък обем на еякулата е паток № 1, а с най-висок - паток № 4, като разликите са почти двойни. С доказано най-висока концентрация, но едновременно с най-ниска подвижност на сперматозоидите и с най-висок процент патологични и мъртви сперматозоиди, е паток № 3 спрямо всички останали индивиди ($p < 0,001$). По отношение на оплодеността на яйцата установихме, че тя невинаги кореспондира с високата подвижност или с по-високия брой аплицирани сперматозоиди в доза. Освен това в рамките на съответната група се наблюдава значително вариране на фертилитета. Подобни резултати на силно вариране при този вид хибридизация установяват и други автори (Chelmonska and Lukaszewicz, 1995; Pingel and Wagner, 1995). Склонни сме да приемем становището на Hailu et al. (1999), че цитогенетичните различия между родителските форми увеличават честотата на хромозомните аберации, които са основната причина за много ранната ембрионална смъртност. Тази смъртност трудно може да се отчете по време на първия биологичен преглед чрез овоскопиране и това е една от причините за констатирането на по-ниска оплоденост на яйцата. Неслучайно Sellier et al. (2005) установяват различия в процента на ранната ембрионална

Таблица 1. Характеристика на еякулатите и оплодотелната способност на мускусни патози
Table 1. Individual semen characteristic fertilizing ability of Muscovy drakes

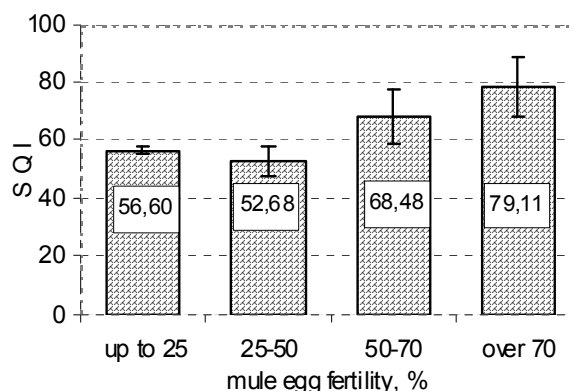
| Показатели / Traits | Номер на мускусния паток / Number of Muscovy drakes | | | | | |
|--|---|---|---|---|---|---|
| | N 1 | N 2 | N 3 | N 4 | N 5 | N 6 |
| Характеристики на спермопродукцията / Semen characteristics | | | | | | |
| Обем на еякулата Ejaculate volume (ml) | 0,94±0,07 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁ | 1,19±0,06 a ₃ , b ₂ , c ₁ | 1,24±0,07 a ₄ , b ₁ , c ₂ | 1,73±0,06 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅ , b ₃ | 1,46±0,06 a ₂ , b ₂ , b ₃ , b ₄ , c ₂ | 1,01±0,06 a ₅ , b ₄ |
| Подвижност на сперматозоидите Sperm motility (%) | 81,56 ± 2,62 a ₁ | 78,20± 1,12 a ₂ | 56,50± 3,43 a ₁ , a ₂ , a ₃ , a ₄ , a ₅ | 81,00± 1,63 a ₃ | 81,25± 2,62 a ₄ | 81,25± 2,73 a ₅ |
| Концентрация на сперматозоидите Number of spermatozoa per 1ml (x10 ⁶ /1ml) | 1150± 103 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁ | 1895± 163 a ₃ , b ₁ | 3552± 300 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅ , a ₆ | 1962± 164 a ₂ , a ₄ | 1536± 101 a ₅ , c ₁ | 1530± 141 a ₆ |
| pH | 7,23±0,06 a ₁ , a ₂ , b ₁ | 6,98±0,06 b ₁ | 6,88±0,06 a ₁ | 6,90±0,06 a ₂ | 7,00±0,11 a ₂ | 7,04±0,06 |
| Обща дехидрогеназна активност Methylene blue reduction test (sec) | 472±64 | 405±33 | 327±26 | 367±31 | 337±26 | 464±57 |
| Мъртви сперматозоиди Dead spermatozoa (%) | 7,56± 1,08 a ₁ | 10,11± 3,08 c ₁ | 19,33± 2,25 a ₁ , a ₂ , a ₃ , c ₁ | 7,63± 1,03 a ₂ | 7,57± 1,81 a ₃ | 8,17± 1,64 |
| Патологични сперматозоиди Abnormal spermatozoa (%) | 8,80± 1,47 a ₁ | 10,17± 3,03 a ₂ | 31,29± 3,36 a ₁ , a ₂ , a ₃ , a ₄ | 9,00± 2,00 a ₃ | 15,80± 7,12 | 12,00± 2,36 a ₄ |
| Искусствено осеменяване / Artificial insemination | | | | | | |
| Време на ИО след еякулацията Time of AI after ejaculation (min) | 64,67±2,85 | 65,89±2,78 | 67,67±3,03 | 69,22±3,89 | 66,86±3,72 | 75,70±1,94 |
| Брой сперматозоиди в доза за ИО Number of spermatozoa per an AI dose (x10 ⁶ /50 µL) | 57,5± 5,19 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁ | 94,75± 8,13 a ₃ , b ₁ | 177,6±14,98 a ₁ , a ₃ , a ₄ , a ₅ | 98,1± 8,19 a ₂ , a ₄ , a ₆ | 76,81± 5,03 a ₅ , a ₆ , c ₁ | 57,5± 5,19 a ₁ , a ₂ , b ₁ , c ₁ |
| Оплоденост на яйцата/Egg fertility (%) min - max | 51,40 28,57–81,82 | 68,03 41,67–100 | 50,47 22,22–76,97 | 68,57 44,44–91,67 | 55,39 25,00–100 | 61,86 33,33–80,00 |

Таблица 2. Фенотипни корелации между показатели на спермата и оплодеността на яйцата
Table 2. Phenotypic correlations (r_p) between different semen traits and fertility of mule eggs

| Показатели Traits | n | r_p | t_d | Достоверност Significant |
|--|-----|--------|-------|-----------------------------|
| Брой на сперматозоидите в доза за ИО Number of spermatozoa per an AI dose, $\times 10^6/50 \mu\text{L}$ | 59 | -0,029 | 0,221 | n.s. |
| Подвижност на сперматозоидите Sperm motility, % | 59 | 0,141 | 1,105 | n.s. |
| pH | 59 | -0,206 | 1,649 | n.s. |
| Обща дехидрогеназна активност Methylene blue reduction test, sec | 49 | -0,130 | 0,928 | n.s. |
| Мъртви сперматозоиди Dead spermatozoa, % | 43 | -0,152 | 1,022 | n.s. |
| Патологични сперматозоиди Abnormal spermatozoa, % | 28 | -0,196 | 1,047 | n.s. |
| Индекс за качество на спермата Semen quality index (SQI) | 28 | 0,437 | 4,413 | $p < 0,001$ |



Фиг. 1. Направление на регресията между индекса за качество на спермата и оплодеността на яйцата
Fig. 1. Regression trend between semen quality index and egg fertility



Фиг. 2. Изменение на индекса за качество на спермата в зависимост от оплодеността на яйцата
Fig. 2. Variation of semen quality index according to fertility of mule eggs

смъртност при обикновеното овоскопиране на яйцата и при използване на стереоскопския метод.

Получените ниски стойности на фенотипни корелации между отделните показатели, характеризиращи спермопродукцията и оплодеността на яйцата, ни даде основание да въведем като комплексен показател индекса за качеството на спермата (SQI), който е по-надежден критерий за прогнозиране на фертилитета на мъжките разплодници, като се има предвид получената стойност на фенотипна корелация $r_p = 0,437$ (табл. 2).

Предложеният от нас индекс включва най-важните показатели на спермопродукцията

$$SQI = N \cdot \frac{M}{100} \cdot \frac{(100 - A)}{100},$$

където: N е броят на аплицираните сперматозоиди в една доза за изкуствено осеменяване;

M – подвижността на сперматозоидите в %;

A – патологичните сперматозоиди (abnormal spermatozoa) в %, където $(100 - A)$ ни дава нормалните живи сперматозоиди.



От предложената формула става ясно, че индексът е валиден в рамките на равни количества спермални дози, които се аплицират в половия апарат на птиците.

Регресията между индекса за качеството на спермата (SQI) и оплодеността на яйцата, получени при междувидовата хибридизация (♀ Пекинска х ♂ Мускусна), показва тенденция (тренд) на изменение във възходяща посока (фиг. 1). По-високият фертилитет е свързан с по-високи стойности на SQI като цяло. При ниска оплоденост на яйцата, получени при различните осеменявания на патиците, съответно до 25 % и от 25 до 50 %, SQI е почти еднакъв и най-нисък, докато при средно висока (50-70 %) и висока оплоденост (над 70%) той се повишава (фиг. 2).

ИЗВОДИ

Комплексният показател индекс за качеството на спермата (SQI), който включва брой на аплицираните сперматозоиди в една доза за изкуствено осеменяване, подвижност и нормални живи сперматозоиди, е надежден критерий за прогнозиране на репродуктивните способности на мускусните патоци, участващи в схемите на хибридизация като бащина форма по отношение на оплодеността на яйцата в сравнение с отделно взетите показатели на спермопродукцията им.

ЛИТЕРАТУРА

- Белоречков, Д. и В. Средкова, 1990. Характеристика на основни показатели на еякулата от петли и зависимостите помежду им и с оплодяемостта на яйцата при четири линии от хибридната комбинация РА-4. – Животновъдни науки 27 (6): 18-25.
- Герзилов, В., 2000. Метод за получаване на сперма от вида Мускусна патица (*Cairina moschata*). – Животновъдни науки, год. XXXVII, кн. 4, 56–63.
- Димитров, С., 1996. Използване на отделни показатели за преценка на съхранена семенна течност от пуяци за прогнозиране на оплодилната ѝ способност. – Животновъдни науки 33 (5): 60-63.
- Курбатов, А. Д., Л. Е. Нарубина, В. В. Богомолов, В. И. Бесулин, А. Д. Давтян, 1987. Искусственное осеменение птицы, М., ВО "Агропромиздат", с. 127.
- Желязков, Е. и Я. Цветанова, 2002. Ръководство за упражнения по генетика., Стара Загора, с. 220.
- Bakst, M. R. and H. C. Cecil, 1997. Technique for semen evaluation, semen storage, and fertility determination, PSA, Savoy, Illinois, p. 97.
- Chelmonska, B. and E. Lukaszewicz, 1995. Current state and future artificial insemination in waterfowl. – In: Proc. 10th Europ. Symp. on Waterfowl, Halle – Germany, pp. 225-240.
- Donoghue, A. M. 1999. Prospective approaches to avoid flock fertility problem: Predictive assessment of sperm function traits in poultry. – *Poult. Sci.* 78:437–443.
- Dumpala, P.R., H.M. Parker and C. D. McDaniel, 2006. The sperm quality index from fresh semen predicts chicken semen quality after storage. – *Int. J. Poult. Sci.*, 5(9): 850-855.
- Froman, D. P., A. J. Feltmann, M. L. Rhoads and J. D. Kirby. 1999. Sperm mobility: A primary determinant of fertility in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). – *Biol. Reprod.* 61:400–405.
- Froman, D. P., E. R. Bowling and J. L. Wilson. 2003. Sperm mobility phenotype not determined by sperm quality index. – *Poult. Sci.* 82:496–502.
- Gvariahu, G., B. Robinzon, A. Meltzer and N. Snapir (1984) Semen characteristics of the Muscovy drake (*Cairina moschata*) as affected by seasonal variation. – *Reprod. Nutr. Develop.*, 24 (4), 343-350.
- Hailu, C., H. Pingel and W. Saar, 1999. Investigation on frequency of chromosome aberrations (CA) in embryos of Pekin, Muskovies and Mule ducks. – In: Proc. 12th Europ. Symp. on Waterfowl, Adana, Turkey.
- Liu, S.J., JX Zheng and, N Yang, 2008. Semen quality factor as an indicator of fertilizing ability for geese. – *Poult. Sci.*, 87: 155-159.
- Lukaszewicz, E. and W. Kruszynski. 2003. Evaluation of fresh and frozen-thawed semen of individual ganders by assessment of spermatozoa motility and morphology. – *Theriogenology*, 59:1627–1640.
- Marzoni Fecia di Cossato, I. M. Bagliacca, G. Paci and C. Fedeli Avanzi (1996) Capacita fecondante dello sperma nell'anatra muschiata. – *Rivista di Avicoltura*, 12, pp. 34-40 (Ital.).
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2002. Selection of young broiler breeders for semen quality improves hatchability in an industry field trial – *J. Applied Poult. Sci.*, 11: 250-259.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2004. The optimum semen dilution for the sperm quality index that is most predictive of broiler breeder fertility. – *Int. J. Poult. Sci.*, 3: 588-592.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2006. The immediate impact of semen diluent and rate of dilution on the sperm quality index, ATP utilization, gas exchange and ionic balance of broiler breeder sperm. – *Poult. Sci.*, 85: 106-116.
- Parker, H. M. and C. D. McDaniel, 2007. Correlation of the sperm quality index with ATP utilization, gas exchange and ionic balance of broiler breeder semen. – *Int. J. Poult. Sci.*, 6(12): 928-932.

Pingel, H., and A. Wagner, 1995. Improvement of reproduction rate in production of Mulards. – In: Proc. 10th Europ. Symp. on Waterfowl, Halle - Germany, p. 257–264.

*Sellier, N., J. M. Brun, M. M. Richard, F. Batellier, V. Dupuy and J. P. Brillard, 2005. Comparison of fertility and embryo mortality following artificial insemination of common duck females (*Anas Platyrhynchos*) with semen from common or Muscovy (*Cairina Moschata*) drakes.– Theriogenology, 64: 429-439.*

Tan, N. S., 1980. The training of drakes for semen collection. – Ann. Zootech., 29 (2): 93-102.

Wishart, G. J. and F. H. Palmer, 1986. Correlation of the fertilizing ability of semen from individual male fowls with sperm motility and ATP content. – Br. Poult Sci, 27(1): 97-102.

**Статията е приета на 23.03.2009 г.
Рецензент - доц. д-р Димитър Греков
e-mail: grekov@au-plovdiv.bg**