

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



SZERVES SZELÉN ÉS E-VITAMIN KIEGÉSZÍTÉS HATÁSA HÚSTÍPUSÚ TYÚK SZÜLŐPÁROK SPERMATOLÓGIAI MUTATÓIRA

Végi Barbara, Váradi Éva, Ferencziné Szőke Zsuzsanna, Barna Judit

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Baromfi Szaporodásbiológiai Laboratórium
2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.
vbarbus@katki.hu

Összefoglalás

Kísérletünk célja a spermológiai tulajdonságok változásának nyomon követése egy termelési ciklus során két hústípusú szülőpár állomány kakasaiban, valamint a szerves kötésű szelén és E-vitamin kiegészítés hatásának tesztelése a spermológiai profilra. 20-20 ROSS 308 és Hubbard fajtájú kakast 26 hetes kortól 61 hetes korukig egyedi ketrecekben tartottuk a tartástechnológiai előírások szerint. A kísérleti takarmány 0.3 ppm Sel-Plex-et és 200 ppm E-vitamint, a kontroll nyomokban szerves szelént és 100 ppm E-vitamint tartalmazott. Az ondómintákat hetente kétszer gyűjtöttük és egyszer minősítettük. A spermiumok koncentrációját fotométerrel határozzuk meg, amelyhez előzőleg az optikai denzitás mértékéhez igazított tényleges sejtszámmal egy standard görbét határoztunk meg. A spermiumok motilitását egy 0-5 terjedő skálán szubjektív pontozással határozzuk meg. A spermiumok membrán-integritásának (élő/holt sejtarány), valamint morfológiai rendellenességeinek vizsgálatához *anilin-eozin* festés alkalmazásával keneteket készítettünk és mikroszkóppal, olajimmerzió alatt határoztuk meg az egyes rendellenes sejttípusok, valamint az elhalt sejtek %-os arányát 200-200 sejt vizsgálatával. A statisztikai értékelést a Statistica 7.0 program Mann-Whitney tesztjével végeztük el. A ROSS kakasok spermatermelése a ciklus második felében romlott, míg a Hubbard kakasok a teljes termelési időszakban kiegyenlítően adtak változatlan minőségű ondót, jóllehet a Hubbard kakasok spermájának koncentrációja szignifikánsan ($p < 0,05$) alacsonyabb volt a ROSS fajtaéhoz képest. Míg a ROSS kakasok esetében a szerves szelén és E-vitamin kiegészítés szignifikánsan ($p < 0,05$) megemelte a spermiumok motilitását, a koncentrációt, és az élő, ép morfológiájú sejtek arányát, addig a Hubbard kakasoknál nem volt változás a sperma minőségében. A Ross fajtában a sikertelen spermavételek aránya kétszer annyi a kontroll csoportban (11,9 %), mint a kísérleti csoportban (5,5 %). A Hubbard fajtánál ez a tendencia sem figyelhető meg. Vizsgálataink szerint a szerves szelén E-vitaminnal javítani tudott a ROSS kakasok spermaminőségén. Vizsgálataink alapján javasolható a gyakorlatban – ROSS fajtában – a takarmány szerves szelénnel és E-vitaminnal történő kiegészítése a romló spermológiai mutatók kiküszöbölése céljából.

Kulcsszavak: spermológiai tulajdonságok, szerves kötésű szelén, E-vitamin

Effect of organic selenium and vitamin E on sperm characteristics of broiler breeder males

Abstract

Aims of the study were to test the sperm quality during the whole reproductive cycle and to find differences in the effect of inorganic and organic selenium and the higher level of vitamin E on sperm parameters in two types of broiler breeder males. 26 week old males (20-20) from ROSS 308 and Hubbard broiler breeder were placed individually until 61 weeks of age, fed and kept according to the management guides. Sperm collections were made twice a week. Concentrations were determined by spectrophotometer, motility by subjective scoring, morphology of spermatozoa and live/dead cell ratio in stained smears by aniline eosin. The food of experimental groups was supplemented with 0.3 ppm organic selenium and 200 ppm vitamin E, while in control groups with sodium selenite in traces and 100 ppm vitamin E. The 0.3 ppm organic selenium and 200 ppm vitamin E affected differently in the two types of males. While in ROSS they improved significantly the sperm motility, concentration and the ratio of live, morphologically normal spermatozoa in the second half of the production cycle, in the case of Hubbard there were no any significant improvements in sperm traits.



Significant differences were found however, between the sperm qualities of control males of the two types regarding to the sperm volumes (0.18-0.25 ml/ejaculate) and the concentrations (4.9-1.9 million/ μ L) ROSS vs. Hubbard, respectively. The spermatological performance of Hubbard seemed to be more stable – though not excellent – during the reproduction cycle and less accessible by exogenous factors.

Keywords: sperm characteristics, organic selenium, vitamin E

Irodalmi áttekintés

A humán populáció nagyütemű növekedése (80 millió fő/év) évről-évre fokozódó élelmiszer – azon belül állati fehérje – termelést igényel világszerte. A baromfiágazaton belül a vezető szerep a brojlerhús előállítására (87 %), ami az összes hústermelés 25 %-át jelenti világviszonylatban (FAO, 1998). A sikeres termelés alapfeltétele a lehető legalacsonyabb költségek mellett a legjobb minőségű termék előállítása.

Folyamatos problémát jelent napjainkban a hústípusú szülőpár állományok termékenységének csökkenése, főként a termelési ciklus második felében (McDaniel, 1986; Creel és mtsai, 1990; Walsh és Brake, 1997). Ez a probléma leginkább a testtömegre történő szelekciónak köszönhető (Reddy és Sadjadi, 1990; Barbato, 1999). A termékenység csökkenése két oldalról közelíthető meg: egyrészt a hímivar, másrészt a nőivar oldaláról. Így a termékenységi problémák megoldását is mindkét ivar oldaláról vizsgálni kell, valamint szükség van olyan módszerek kidolgozására, melyek módot adhatnak a genetikai korlátokon belül az állományok fertilitásának növelésére. Ennek egyik lehetősége a szerves kötésű szelén és az emelt dóziszú E-vitamin-kiegészítés hatásának vizsgálata a hímivar spermatológiai profiljára.

A szelén azon nyomelemek egyike, amely mint számos szelenoprotein alkotóeleme, a szervezet antioxidáns rendszerének nélkülözhetetlen alkotója. Az elmúlt évtizedben számos enzimről kiderült, hogy a szelén nélkülözhetetlen alkotórészük. Szerepe elsődlegesen az ún. szabadgyökök megkötésében van (Surai, 1999), élettani hatását a természetes antioxidánsként funkcionáló E-vitaminnal együtt, több lépcsős biokémiai folyamatban fejti ki. Az állati szervezet a szerves formáját tudja hatékonyabban hasznosítani, ezáltal tud a szövetekhez, szövetekhez eljutni és az izomszövetben, valamint a tojásban akkumulálódni. A nem megfelelő szelén ellátottságnak a baromfitenyésztésre gyakorolt hatása főként a csökkent termelési és szaporodási teljesítményben, valamint a káros stresszhatások kivédésének csökkent lehetőségében nyilvánul meg. Jóllehet, a lehetséges stresszfaktorok listája telepenként más és más, de az állapotra a szabadgyökök túltermelése és az antioxidánsok iránti szükséglet a jellemző (Surai, 2006).



A spermiumok membránjában nagy mennyiségű többszörösen telítetlen zsírsav található, ezért fokozott antioxidáns védelemre szorulnak. A szerves szelén hatására a spermiumok ellenállóbbak a lipidperoxidációval szemben (Surai és mtsai, 1998). Több kutatás arról számol be, hogy a kakasok termékenyítőképességére, az ondóminőségre pozitív hatással van a 0.3 ppm mennyiségben adagolt organikus szelén (Hansen és Deguchi, 1996; Edens, 2002). Modellszintű kísérletek bizonyították, hogy a brojler szülőpárok szaporasági problémáinak megoldásában a szerves eredetű szelénnek nagy jelentősége lehet. Az eddigi eredmények biztatóak, miszerint mind a hím-, mind a nőivarban számszerűleg kifejezhető pozitív hatása van az organikus szelénnek (Sefton és Edens, 2004).

Jelen munkánk célja két hústípusú szülőpár állomány kakasaiban a szerves kötésű szelén és E-vitamin kiegészítés hatásának tesztelése a spermatológiai tulajdonságokra.

Anyag és módszer

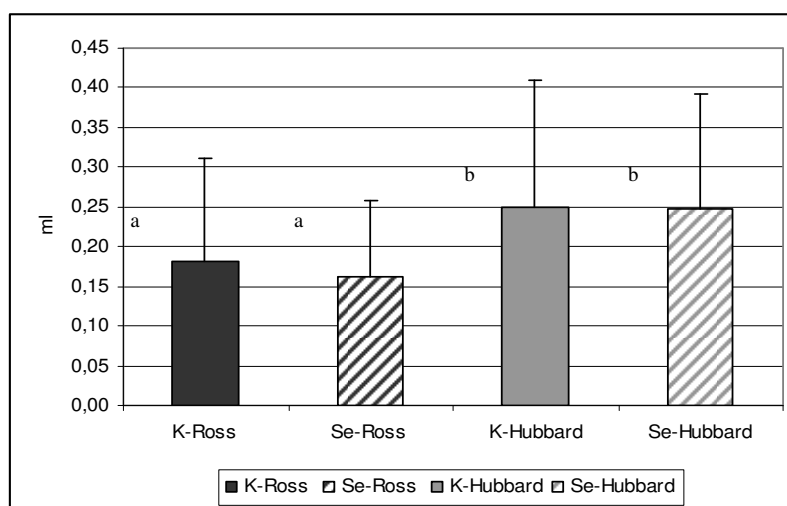
A vizsgálatokat 20-20 ROSS 308 és Hubbard fajtájú kakason végeztük hetente. A kísérleti csoportok (Se-Ross, Se-Hubbard) takarmánya 0.3 ppm Sel-Plex-et (Alltech Ltd.) és 200 ppm E-vitamint, a kontroll csoportoké szerves szelént és 100 ppm E-vitamint tartalmazott. Az állatokat 31 hetes kortól egyedi ketrecekben, a tartástechnológiának megfelelő körülmények között, 56 hetes korukig tartottuk. Az ondómintákat hetente kétszer gyűjtöttük Burrows és Quinn (1957) módszere alapján masszázstechnikával, az értékelést hetente egyszer végeztük el (n= 4 x 250 ondóminta). Az ondóminősítésekhez mikroszkópos egyfunkciós vizsgálatokat végeztünk. A spermiumok koncentrációját fotométerrel határozzuk meg, amelyhez előzőleg az optikai denzitás mértékéhez igazított tényleges sejtszámmal egy standard görbét határoztunk meg. A spermiumok motilitását egy 0-5 terjedő skálán szubjektív pontozással határozzuk meg, amely szakirodalomban is elfogadható értékelési rendszer, ha ugyanaz a gyakorlott személy végzi a minősítést. A számítógépes motilitás-meghatározástól eltekintettünk, mivel több szerző szerint az extrém nagy hígítások következtében fals eredményeket produkálhat a gép. A spermiumok membrán-integritásának (élő/holt sejtarány), valamint morfológiai rendellenességeinek vizsgálatához anilin-eozin festés alkalmazásával keneteket készítettünk és mikroszkóppal, olajimmerzió alatt határoztuk meg az egyes rendellenes sejttípusok, valamint az elhalt sejtek %-os arányát.

Az adatok nem mutattak normál eloszlást, ezért a statisztikai értékelést a Statistica 7.0 program Mann-Whitney tesztjével végeztük el.



Eredmények és értékelés

Az 1. ábra szemlélteti az ondó átlagos mennyiségét a két fajtában (Ross-308, Hubbard), illetve a kontroll (K-Ross, K-Hubbard) és a kísérleti (0.3 ppm Sel-Plex és 200 ppm E-vitamin kiegészítés) csoportokban (Se-Ross, Se-Hubbard). A Hubbard kakasok esetében a sperma mennyisége szignifikánsan ($P \leq 0.01$) magasabb volt, mint a Ross fajta kakasaié (0.25 vs. 0.18 ml/ejakulátum), azonban a spermium-koncentráció szignifikánsan ($P \leq 0.01$) alacsonyabb volt (1.9 vs. 4.9 millió/ μ l), mely az ejakulátum magasabb ondóplazma koncentrációjára utal (2. ábra).

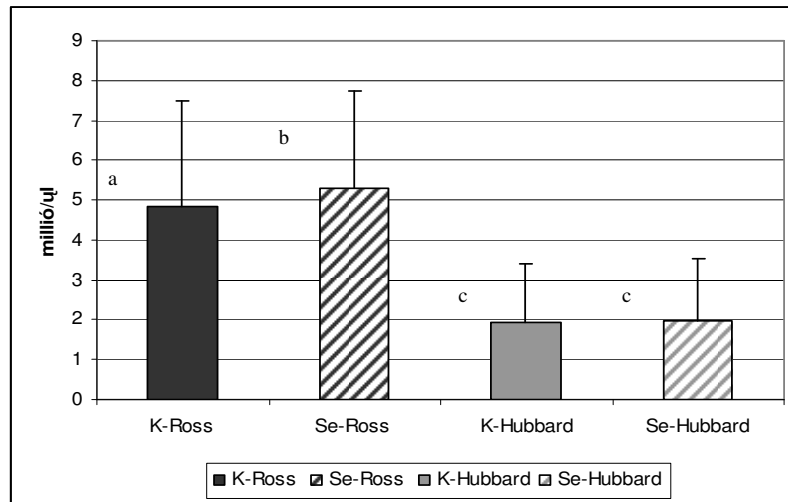


a, b = $P \leq 0.01$

1. ábra: Átlagos ondómennyiség Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénnel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 1. Means of sperm volumes of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups

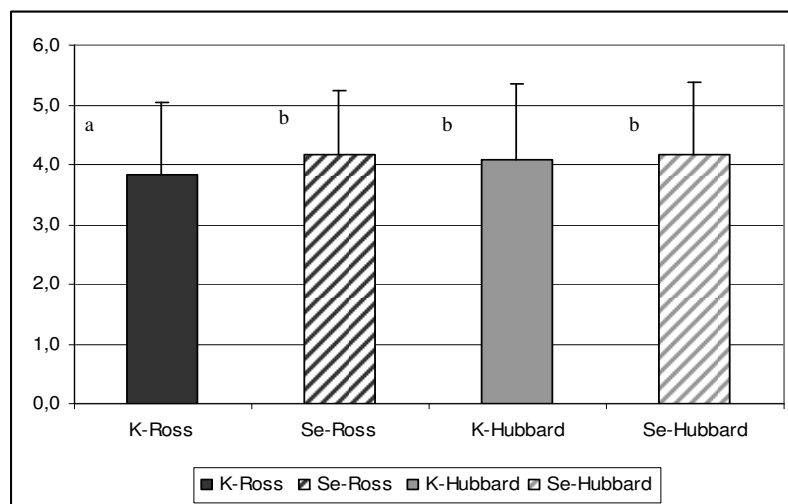
Ha egy fajtán belül vizsgáljuk a szerves szelén és E-vitamin kiegészítés hatását, akkor megállapítható, hogy egyik fajtában sem volt különbség az ondómennyiség tekintetében (Ross 0.18 vs. 0.16 ml/ejakulátum; Hubbard 0.25 vs. 0.25 ml/ejakulátum). A spermium koncentrációra azonban pozitív hatással ($P \leq 0.05$) volt a szerves szelén kiegészítés a Ross fajtában (4.85 vs. 5.29 millió spermium/ μ l), főként a termelési ciklus második felében, míg a Hubbard fajta esetén ez nem figyelhető meg (1.93 vs. 1.96 millió spermium/ μ l millió spermium/ μ l).



a, b= $P \leq 0,05$; a, c= $P \leq 0,01$; b, c= $P \leq 0,01$

2. ábra: A spermiumok mennyisége (millió/μl) Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 2. Concentrations of spermatozoa (Million/μl) of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups



a, b= $P \leq 0,05$

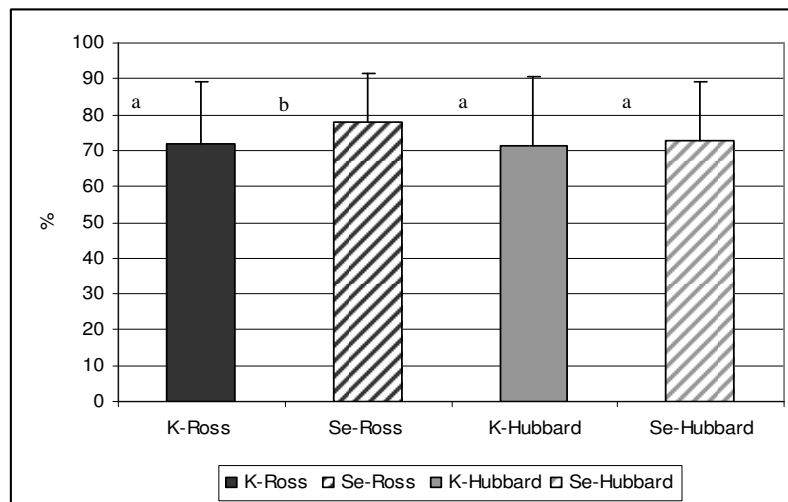
3. ábra: A spermiumok motilitása Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 3. Motility of spermatozoa of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups



A 3. ábra mutatja a spermiumok motilitását. A Ross kakasok esetében a szerves szelén-kiegészítés szignifikánsan ($P \leq 0.05$) javította a spermiumok motilitását (3.83 vs. 4.18). A Hubbard fajtában e paraméterben sem volt különbség a kísérleti és a kontroll csoport között (4.1 vs. 4.18). A két fajtát összehasonlítva a Hubbard fajta spermiumainak motilitása szignifikánsan magasabb volt a kontroll csoportban.

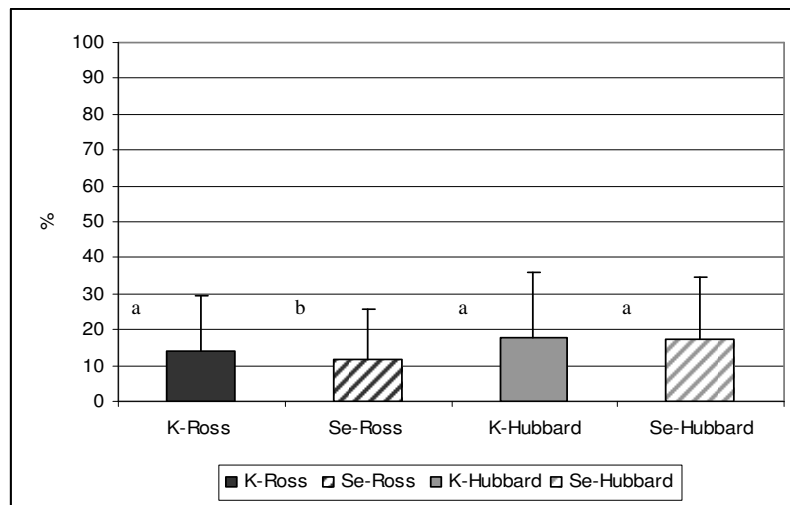
A következő három ábra az élő, ép spermiumok (4. ábra); az élő, rendellenes morfológiájú spermiumok (5. ábra) és az elhalt spermiumok (6. ábra) arányát szemlélteti. Az élő, ép spermiumok aránya (71.96% vs. 77.76%) szignifikánsan magasabbnak bizonyult a kísérleti csoportban a Ross kakasoknál ($P \leq 0.01$). Ezzel párhuzamosan alacsonyabb arányban voltak rendellenes (13.55% vs. 10.44%) és elhalt sejtek (14.04% vs. 11.76%) a mintákban a kontroll kakasok adataihoz képest. A Hubbard fajtában e tekintetben sem figyelhető meg szignifikáns különbség. A fajtákat összehasonlítva nem találtunk lényeges különbséget, viszont szerves szelén kiegészítés hatására a Ross fajta kakasainak mintáiban szignifikánsan magasabb volt az élő, termékenyítőképes spermiumok mennyisége.



a, b= $P \leq 0,01$

4. ábra: Élő, ép spermiumok aránya Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénnel kiegészített takarmányozás esetén

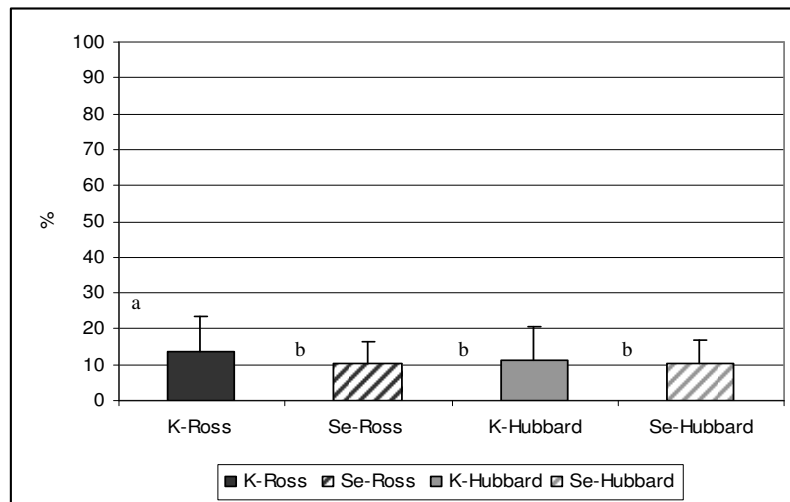
Figure 4. Live, intact sperm ratios of semen of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups



a, b= P<0,05

5. ábra: Élő, rendellenes morfológiájú spermiumok aránya Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 5. Live abnormal sperm ratios of semen of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups



a, b= P<0,05

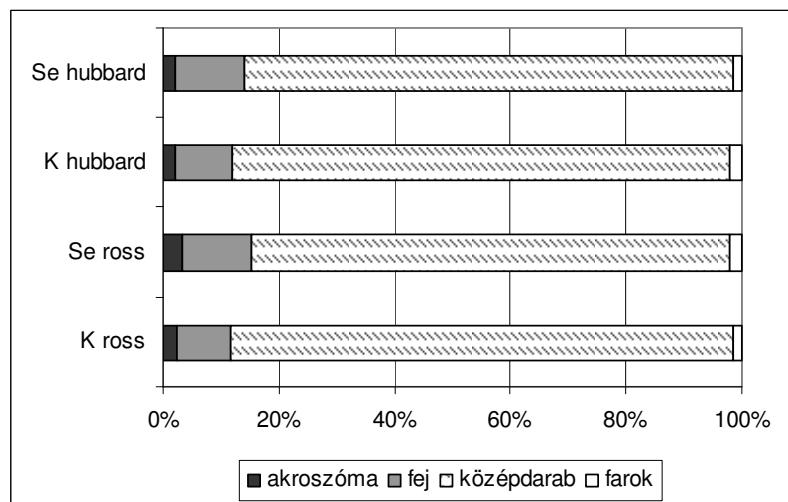
6. ábra: Elhalt spermiumok aránya Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás

Figure 6. Dead cell ratios of semen of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups



Az élő, rendellenes spermiumok aránya a Ross fajta kontroll csoportjában volt a legmagasabb (13,55 %).

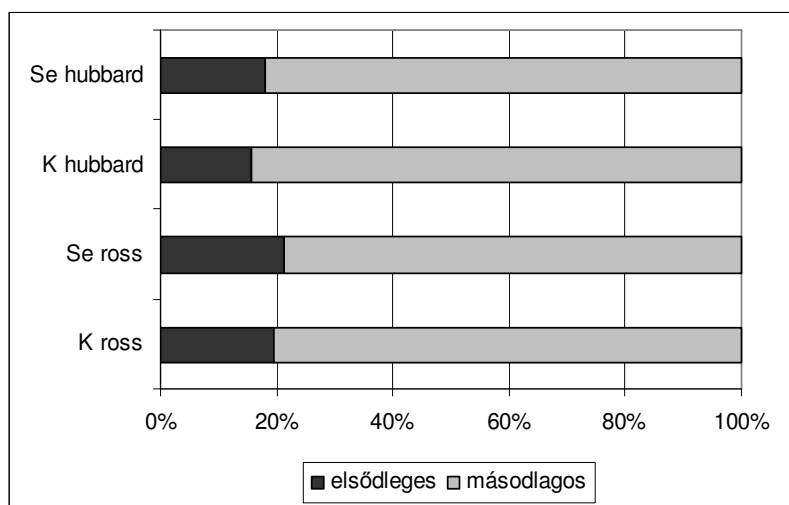
A 7. ábrán a morfológiai rendellenességek megoszlását tüntettük fel. Érdekes módon mindkét fajtánál szignifikánsan magasabb volt a feji rendellenességek aránya ($P \leq 0,001$; és $P \leq 0,05$) és alacsonyabb a közepdarab rendellenesség a szelénrel kiegészített csoportokban. Ha a rendellenességeket elsődleges (herei eredetű), illetve másodlagos (környezeti hatások) csoportokra bontva vizsgáljuk (8. ábra), hasonló következtetés vonható le, a szelén-kiegészítés a másodlagos rendellenességek arányát szignifikánsan csökkentette ($P \leq 0,05$).



7. ábra: A spermium-morfológiai rendellenességek aránya Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 7. Ratios of various sperm abnormality in the semen of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups

A Ross fajtában a sikertelen spermavételek aránya kétszer annyi a kontroll csoportban (11,9 %), mint a kísérleti csoportban (5,5 %). A Hubbard fajtánál ez a tendencia sem figyelhető meg.



8. ábra: Elsődleges és másodlagos rendellenességek aránya Ross és Hubbard kakasoknál a kontroll, illetve szerves szelénrel kiegészített takarmányozás esetén

Figure 8. Ratios of primary and secondary sperm abnormalities in the semen of Ross and Hubbard males in the control and organic selenium treated groups

Következtetések és javaslatok

A Ross kakasok rosszabb spermaminőségét sikerült a szerves szelén kiegészítéssel szignifikánsan feljavítani, oly mértékben, hogy minőségben a Hubbard kakasok teljesítményét is felülmúlták. A Hubbard kakasok ondóminősége ezzel szemben egyik spermaparaméterben sem mutatott különbséget a szelén (0,3 ppm) + E-vitamin (200 ppm) kiegészítés hatására, azaz spermatológiai szempontból sokkal stabilabbnak bizonyult. Tehát a két szülőpár típus kakasai eltérően reagáltak a külső hatásra, jóllehet, ugyanolyan korú, ugyanolyan körülmények között elhelyezett, takarmányozott és kezelt állatokról volt szó.

Vizsgálataink alapján javasolható a gyakorlatban – ROSS fajtában – a takarmány szerves szelénrel és E-vitaminnal történő kiegészítése a romló spermatológiai mutatók kiküszöbölése céljából.

Irodalomjegyzék

Barbato, G.F. (1999): Genetic relationships between selection for growth and reproductive effectiveness. Poultry Sci., 78. 444-52.



- Creel, L.H., Maurice, D., Bridges, W.C., Grimes, L.W.* (1990): A model to describe and predict post-peak changes in broiler hatchability. *J. Appl. Poultry Sci.*, 7. 85-89.
- Edens, F.* (2002): Practical applications for selenomethionine: broiler breeder production. Proc. Of 18th Alltech's Annual Symposium, Edited by Lyons, T.P. and Jacques, K.A., Nottingham University Press, Nottingham, UK, 29-42.
- FAO, 1998
- Hansen, J.C., Deguchi, Y.* (1996): Selenium and fertility in animals and man – a review. *Acta Vet. Scand.*, 37. 1. 19-30.
- McDaniel, G.R.* (1986): Sex separate feeding of broiler parent stock. *Zootechnic Intern.*, 11. 43-58.
- Reddy & Sadjadi* (1990): Selection for growth and semen traits in the poultry industry: what can we expect in the future? In: Control of fertility in domestic birds. Edited by J.P. Brillard. Institut National de la Recherche Agronomique Editions, Versailles, 47-60.
- Sefton, A.E., Edens, F.W.* (2004): Sel-Plex improves semen quality in broiler breeder males in a cage environment. XII. World Poultry Conf. Proc. in CD.
- Surai, P.F., Blesbois, E., Grasseau, I., Chalah, T., Brillard, J.P., Wishart, G.J., Cerolini, S., Sparks, N.H.C.* (1998): Fatty acid composition, glutathione peroxidase and superoxide dismutase activity and total antioxidant activity of avian semen. *Comp. Biochem. Physiol., Part B* 120. 527-533.
- Surai, P.F., Woble, R.C., Speake, B.K.* (1999): Relationship between vitamin E content and susceptibility to lipid peroxidation in tissues of the newly hatched chick. *Br. Poultry Sci.*, 40. 406-410.
- Surai, P.F., Sparks, N.H.C., Speakman B.K.* (2006): The role of antioxidants in reproduction and fertility of poultry. EPC XII. European Poultry Conf. Proc. In CD.
- Walsh, T.J., Brake, J.* (1997): The effect of nutrient intake during rearing of broiler breeder females on subsequent fertility. *Poultry Sci.*, 76. 297-305.