

## Zależność frekwencji zmian morfologicznych i wymiarów plemników od ruchliwości plemników w ejakulatach knurów rasy polskiej białej zwisłouchej

Maria Iwanina, Stanisław Kondracki<sup>#</sup>

Uniwersytet Przyrodniczo-Humanistyczny w Siedlcach,  
Instytut Bioinżynierii i Hodowli Zwierząt, Katedra Rozrodu i Higieny Zwierząt,  
ul. B. Prusa 14, 08-110 Siedlce; <sup>#</sup>e-mail: sk@uph.edu.pl

W pracy podjęto próbę określenia zależności frekwencji zmian morfologicznych i wymiarów plemników od ruchliwości plemników w ejakulatach knurów rasy polskiej białej zwisłouchej. Badaniami objęto 393 ejakulatory pobrane od 33 knurów rasy polskiej białej zwisłouchej. Ejakulatory pogrupowano według kryterium udziału plemników wykazujących ruch postępowy, wyodrębniając ejakulatory, w których odsetek plemników ruchliwych wynosił 70% i ejakulatory, w których odsetek plemników ruchliwych wynosił 80%. W każdym ejakulacie przeprowadzono badania frekwencji zmian morfologicznych plemników i wykonano pomiary morfometryczne plemników. Stwierdzono, że ejakulatory o większym udziale plemników wykazujących ruch postępowy zawierają także więcej plemników. Objętość ejakulatu i koncentracja plemników w ejakulacie nie mają natomiast bezpośredniego związku z ruchliwością plemników. Frekwencja głównych zmian morfologicznych powiązana jest z ruchliwością plemników. Ejakulatory o większej ruchliwości plemników zawierają mniej plemników z głównymi zmianami morfologicznymi. Częstotliwość występowania podrzędnych zmian morfologicznych nie wykazuje natomiast istotnej zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie. Główne zmiany morfologiczne plemników, najczęściej występujące w ejakulatach, to plemniki z kropłą proksymalną i plemniki z wadą Daga. Obie te formy morfologiczne częściej występują w ejakulatach o mniejszej ruchliwości plemników. Do najczęściej występujących podrzędnych zmian morfologicznych plemników należą: plemniki z pojedynczą pętlą witki, plemniki z główką wolną normalną oraz plemniki z distalną kropłą protoplazmy. Zmiany te nie wykazują zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie. Plemniki w ejakulatach charakteryzujących się większą ruchliwością plemników mają nieco większe wymiary niż plemniki z ejakulatu o mniejszej ruchliwości plemników. Do wykorzystania w praktyce korzystniejsze są ejakulatory o większej ruchliwości plemników, nie tylko ze względu na możliwość wykonania większej liczby dawek inseminacyjnych, ale także ze względu na mniejszą frekwencję głównych zmian morfologicznych.

**SŁOWA KLUCZOWE:** ruchliwość plemników / zmiany morfologiczne plemników / wymiary plemników

Ruchliwość plemników wskazuje na zdolność plemników do zapłodnienia oraz stanowi podstawę oceny przeżywalności plemników. Ocena ruchliwości plemników można wykonać badaniem mikroskopowym, określając odsetek plemników wykazujących prostoliniowy ruch postępowy, jak również z wykorzystaniem systemu CASA (*computer assisted sperm analysis*), bezpośrednio po pobraniu ejakulatu [22, 25]. Jakość i zdolność plemników do zapłodnienia wiąże się z ich morfologią. Istotne znaczenie ma frekwencja zmian morfologicznych oraz wymiary i kształt plemników. Od tego zależy mobilność plemników i ich zdolność do penetracji komórki jajowej. Istotne znaczenie dla połączenia plemnika z oocytom mają zmiany zachodzące w strukturze błony komórkowej plemnika podczas kapacytacji oraz reakcji akrosomalnej. Dlatego morfologia plemników ma kluczowe znaczenie przy określaniu płodności samców [1]. Użycie do rozrodu knurów o obniżonej jakości nasienia skutkuje zmniejszeniem wielkości miotów [28]. Na przydatność nasienia do inseminacji mogą wpływać wymiary i kształt plemników [10]. Stwierdzono bowiem zależność między wymiarami plemników a płodnością samców [6]. Cechy ejakulatu i zawartych w nim plemników zależą od rasy [33, 40], wieku i intensywności użytkowania rozplodników [2, 21] oraz od pory roku i warunków pobierania nasienia [35, 42, 43], a także od żywienia i libido samca [19, 31, 44].

Celem przeprowadzonych badań było określenie zależności frekwencji zmian morfologicznych i wymiarów plemników od ich ruchliwości w ejakulatach knurów rasy polskiej białej zwisłouchej.

### **Material i metody**

Badaniami objęto 393 ejakulatory pobrane od 33 knurów rasy polskiej białej zwisłouchej. W badaniach uwzględniono knury inseminacyjne w wieku 1-2,5 lat. Nasienie pobierano metodą manualną, z częstotliwością 2 razy w tygodniu. W świeżo pobranych ejakulatach określano cechy fizyczne: objętość ejakulatu, koncentrację plemników, ruchliwość plemników, liczbę plemników w ejakulacie i liczbę dawek inseminacyjnych uzyskiwanych z jednego ejakulatu. Objętość ejakulatu określano po odsączeniu frakcji galaretowatej. Koncentrację plemników w ejakulacie oznaczano metodą fotometryczną przy użyciu spektrofotometru. Metoda ta polega na pomiarze natężenia światła przepuszczonego przez zawiesinę plemników w izotonicznym dla nasienia roztworze chlorku sodu. Ruchliwość plemników oznaczano badaniem mikroskopowym, na podstawie udziału plemników wykazujących ruch postępowy. Badania prowadzono z wykorzystaniem mikroskopu świetlnego z podgrzewanym stolikiem. Pod 200-krotnym powiększeniem określano procentowy udział plemników wykazujących prawidłowy ruch w ogólnej liczbie plemników widocznych w polu widzenia mikroskopu. W badaniu mikroskopowym ruchliwość plemników w ejakulacie określa się w procentach plemników wykazujących postępowy ruch prostoliniowy, wyodrębniając ejakulatory o ruchliwości plemników 60% lub mniejszej (takie ejakulatory nie są dopuszczane do inseminacji, 70%, 80% oraz 90% lub większej (nieczęsto spotykane). W niniejszej pracy

badaniom poddano plemniki z ejakulatów o ruchliwości plemników 70% i 80%. Liczbę plemników w ejakulacie i liczbę dawek inseminacyjnych uzyskanych z jednego ejakulatu obliczono przy wykorzystaniu programu komputerowego SYSTEM SUL.

Ejakulaty pogrupowano według kryterium odsetka plemników wykazujących ruch postępowy, wyodrębniając:

- ejakulaty, w których odsetek plemników ruchliwych wynosił 70% (grupa I),
- ejakulaty, w których odsetek plemników ruchliwych wynosił 80% (grupa II).

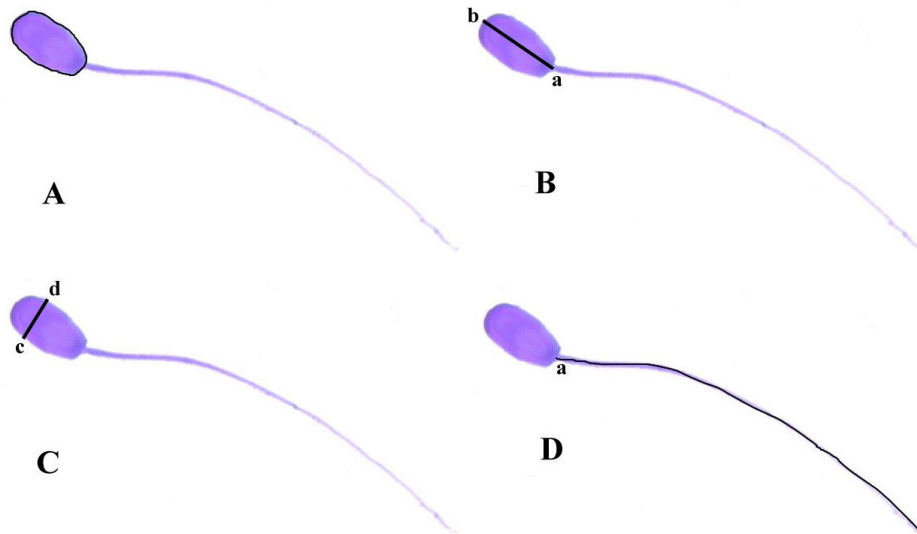
W każdym ejakulacie o ruchliwości plemników wynoszącej 70% lub 80% przeprowadzono badania frekwencji zmian morfologicznych plemników i wykonano pomiary morfometryczne plemników. Ze wszystkich badanych ejakulatów pobrano próbki, z których wykonano preparaty mikroskopowe. Preparaty przygotowano i barwiono metodą eozyna-barwnik gencjanowy, zgodnie z metodyką sporządzania preparatów mikroskopowych opisaną w pracy Kondrackiego i wsp. [20]. W każdym preparacie oceniono budowę morfologiczną 500 plemników, ze wskazaniem liczby plemników o prawidłowej budowie i plemników morfologicznie zmienionych, wyróżniając formy ze zmianami głównymi i podrzędnymi według klasyfikacji Bloma [4]. Frekwencję zmian morfologicznych plemników określono na podstawie mikroskopowych badań morfologii plemników, przeprowadzonych przy użyciu obiektów immersyjnych o powiększeniu 100-krotnym, z wykorzystaniem mikroskopu świetlnego Nikon Eclipse-50i.

Pomiary morfometryczne plemników przeprowadzono na preparatach mikroskopowych, przygotowanych metodą analogiczną jak do oceny frekwencji zmian morfologicznych plemników. Dla każdego z badanych ejakulatów wykonano pomiary 10 losowo wybranych plemników o prawidłowej budowie morfologicznej, dobrze widocznych w polu widzenia mikroskopu. Łącznie wykonano pomiary 3930 plemników. Pomiary prowadzono metodą manualną, z wykorzystaniem zestawu do komputerowej analizy obrazu (Screen Measurement v. 4.1), według metodyki opracowanej przez Kondrackiego i wsp. [17]. Mierzono: obwód główki plemnika, długość główki plemnika, szerokość główki plemnika, pole powierzchni główki plemnika, długość witki i łączną długość plemnika (rys.).

Zebrany materiał poddano analizie statystycznej i obliczono charakterystyki grup (średnie i odchylenia standardowe). Istotność różnic pomiędzy średnimi grup zweryfikowano przy pomocy testu t-Studenta.

## **Wyniki i dyskusja**

W tabeli 1. zestawiono dane pokazujące cechy fizyczne badanych ejakulatów w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie. Z danych tych wynika, że cechy fizyczne ejakulatu w niewielkim stopniu zależą od ruchliwości plemników. Zaobserwowano jednak, że w grupie ejakulatów o większej ruchliwości (grupa II) średnia liczba plemników przydatnych do inseminacji (wykazujących prostoliniowy ruch postępowy) była o blisko 10 mld większa niż w grupie ejakulatów o mniejszej ruchliwości, co potwier-



Rys. Sposób określania wymiarów plemników: A – powierzchnia główki, B – długość główki, C – szerokość główki, D – długość wtyki [17]  
 Fig. Means of determining sperm dimensions: A – head area, B – head length, C – head width, D – tail width [17]

**Tabela 1 – Table 1**

Cechy fizyczne ejakulatów w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie

Physical characteristics of ejaculates depending on the motility of spermatozoa in the ejaculate

Cechy ejakulatu Ejaculate traits	Udział w ejakulacie plemników o ruchu postępowym Percentage of spermatozoa with progressive motility		
	grupa I – group I 70%	grupa II – group II 80%	ogółem total
Liczba ejakulatów Number of ejaculates (n)	94	299	393
Udział plemników o ruchu postępowym (%) Percentage of spermatozoa with progressive motility (%)	70,00 ±0,00	80,00 ±0,00	77,61 ±4,27
Objętość ejakulatu (ml) Ejaculate volume (ml)	272,23 ±86,29	262,85 ±91,05	265,09 ±89,92
Koncentracja plemników (x10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> ) Sperm concentration (x10 <sup>6</sup> /ml)	448,51 ±100,95	458,97 ±97,56	456,47 ±98,35
Liczba plemników w ejakulacie (x10 <sup>9</sup> ) Number of sperm in ejaculate (x 10 <sup>9</sup> )	84,89 <sup>a</sup> ±33,97	94,51 <sup>b</sup> ±33,49	92,21 ±33,82
Liczba dawek inseminacyjnych Number of insemination doses (n)	29,90 ±11,30	31,75 ±11,09	31,31 ±11,16

a, b – P≤0,05

dzono statystycznie na poziomie  $P \leq 0,05$ . Z ejakulatów tych sporządzano więcej dawek inseminacyjnych. Nie udowodniono zależności objętości ejakulatu i koncentracji plemników od ruchliwości plemników w ejakulacie.

W tabeli 2. zestawiono wyniki badania frekwencji zmian morfologicznych plemników w zależności od ich ruchliwości. Plemniki z głównymi zmianami morfologicznymi częściej występowały w ejakulatach o mniejszej ruchliwości plemników. W ejakulatach z grupy I, w których udział plemników wykazujących ruch postępowy wynosił 70%, frekwencja plemników z głównymi zmianami morfologicznymi była ponad dwukrotnie większa niż w ejakulatach grupy II, w której ruchliwość plemników wynosiła 80% ( $P \leq 0,05$ ). Frekwencja plemników z głównymi zmianami morfologicznymi była jednak bardzo mała, niezależnie od ruchliwości plemników. Na małą frekwencję głównych zmian morfologicznych w nasieniu knurów inseminacyjnych wskazują też dane z innych badań [18, 45]. Nie udowodniono różnic międzygrupowych w zakresie frekwencji plemników z podrzędnymi zmianami morfologicznymi.

**Tabela 2-Table 2**

Częstość występowania plemników prawidłowych i zmienionych morfologicznie w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie (%)

Incidence of morphologically normal and abnormal sperm depending on sperm motility in the ejaculate (%)

Wyszczególnienie Parameter	Udział w ejakulacie plemników o ruchu postępowym Percentage of spermatozoa with progressive motility		
	grupa I – group I 70%	grupa II – group II 80%	ogółem total
Udział plemników prawidłowych (%) Normal spermatozoa (%)	95,41 ±4,90	96,25 ±4,62	96,05 ±4,69
Udział plemników ze zmianami głównymi (%) Sperm with major abnormalities (%)	1,02 <sup>a</sup> ±2,54	0,46 <sup>b</sup> ±0,65	0,60 ±1,38
Udział plemników ze zmianami podrzędnymi (%) Sperm with minor abnormalities (%)	3,57 ±3,92	3,28 ±4,46	3,35 ±4,33

a, b –  $P \leq 0,05$

W tabeli 3. przedstawiono strukturę występowania poszczególnych głównych anomalii morfologicznych plemników w ejakulatach o większej i mniejszej ruchliwości plemników. Najczęściej stwierdzano plemniki z kroplą proksymalną i plemniki z wadą Daga. Zarówno plemniki z kroplą proksymalną, jak i z wadą Daga częściej występowały w ejakulatach o mniejszej ruchliwości plemników ( $P \leq 0,05$ ). Pozostałe główne zmiany morfologiczne plemników występowały ze znikomą częstotliwością, a ich frekwencja nie zależała od ruchliwości plemników w ejakulacie.

W tabeli 4. przedstawiono strukturę występowania poszczególnych podrzędnych anomalii morfologicznych plemników w ejakulatach o większej i mniejszej ruchliwości plemników. Najczęściej stwierdzano plemniki z pojedynczą pętlą witki (około 2% plemników), plemniki z główką wolną normalną (około 0,63%) oraz plemniki

**Tabela 3 – Table 3**

Frekwencja poszczególnych głównych zmian morfologicznych w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie (%)

Frequency of individual major defects depending on sperm motility in the ejaculate (%)

Zmiany główne plemników Major sperm defects	Udział w ejakulacie plemników o ruchu postępowym Percentage of spermatozoa with progressive motility		
	grupa I – group I 70%	grupa II – group II 80%	ogółem total
Plemnik niedorozwinięty Underdeveloped sperm	0,04 ±0,10	0,03 ±0,15	0,03 ±0,14
Plemnik podwójny Double forms	0,04 ±0,15	0,02 ±0,08	0,03 ±0,10
Gruszkowata główka Pear-shaped head	0,04 ±0,10	0,03 ±0,12	0,03 ±0,11
Główka zwężona u podstawy Narrow head at base	0,02 ±0,07	0,01 ±0,07	0,02 ±0,08
Zatarty kontur główki Abnormal head contour	0,01 ±0,07	0,01 ±0,06	0,01 ±0,06
Kropła proksymalna Proximal droplet	0,31 <sup>a</sup> ±1,32	0,13 <sup>b</sup> ±0,40	0,18 ±0,74
Pseudokropła Pseudodroplet	0,06 ±0,14	0,04 ±0,23	0,04 ±0,21
Wada Daga Strongly coiled or folded tail (Dag defect)	0,26 <sup>a</sup> ±0,38	0,17 <sup>b</sup> ±0,33	0,19 ±0,35

a, b –  $P \leq 0,05$

z distalną kroplą protoplazmy (około 0,55%). Relatywnie często, z frekwencją około 0,42%, występowały plemniki z główką olbrzymią i plemniki z główką odosiową. Takie zmiany morfologiczne częściej występowały w ejakulatach grupy I, tj. o mniejszej ruchliwości plemników ( $P \leq 0,05$ ). Pozostałe podrzędne zmiany morfologiczne plemników występowały z bardzo małą częstotliwością (poniżej 0,2% plemników).

W tabeli 5. przedstawiono wyniki pomiarów morfometrycznych plemników w ejakulatach różniących się ruchliwością plemników. Wynika z nich, że wymiary plemników w niewielkim stopniu zależą od ruchliwości plemników w ejakulacie. Pewne tendencje można zaobserwować w szerokości główki plemnika. Plemniki z ejakulatów o większej ruchliwości (grupa II) miały główki o nieco większej szerokości niż plemniki z ejakulatów o mniejszej ruchliwości plemników (grupa I). Plemniki w ejakulatach o większej ruchliwości (grupa II) miały także większe pole powierzchni główki (o 1,07  $\mu\text{m}$ ), co zostało potwierdzone statystycznie ( $P \leq 0,05$ ).

Przedstawione w niniejszej pracy dane wskazują, że ejakulatory o większej ruchliwości plemników zawierają więcej plemników. Podobną zależność stwierdzili także Górski i wsp. [13]. Wyniki badań własnych wskazują na zależność częstości występowania zmian morfologicznych plemników od ruchliwości plemników. Z danych tych wynika, że w ejakulatach o większym odsetku plemników wykazujących ruch postępowy fre-

**Tabela 4 – Table 4**

Frekwencja plemników z najczęściej występującymi zmianami podrzędnymi w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie (%)

Frequency of sperm with the most common minor defects depending on sperm motility in the ejaculate (%)

Zmiany podrzędne plemników Minor sperm defects	Udział w ejakulacie plemników o ruchu postępowym Percentage of spermatozoa with progressive motility		
	grupa I – group I 70%	grupa II – group II 80%	ogółem total
Główka wąska Narrow heads	0,012 <sup>a</sup> ± 0,06	0,004 <sup>b</sup> ± 0,03	0,006 ± 0,04
Główka mała normalna Small normal heads	0,021 ± 0,08	0,007 ± 0,05	0,009 ± 0,06
Główka olbrzymia Giant and short broad heads	0,071 <sup>a</sup> ± 0,16	0,031 <sup>b</sup> ± 0,09	0,042 ± 0,12
Główka wolna normalna Free normal heads	0,490 ± 0,94	0,673 ± 3,19	0,633 ± 2,82
Oddzielona błona akrosomu Detached acrosome membrane	0,006 ± 0,06	0,007 ± 0,07	0,007 ± 0,07
Główka odosiowa Abaxial implantation	0,073 <sup>a</sup> ± 0,16	0,032 <sup>b</sup> ± 0,10	0,042 ± 0,12
Kropla distalna Distal droplet	0,611 ± 1,32	0,511 ± 1,09	0,542 ± 1,15
Pojedyncza pętla wtki Simple bent tail	2,094 ± 2,97	1,983 ± 2,68	2,011 ± 2,75
Pętla na końcu wtki Terminally coiled tail	0,201 <sup>a</sup> ± 0,99	0,034 <sup>b</sup> ± 0,12	0,074 ± 0,50

a, b –  $P \leq 0,05$

kwencja plemników z głównymi zmianami morfologicznymi jest mniejsza. Mažeika i wsp. [26] wykazali, że wraz ze wzrostem udziału plemników morfologicznie zmienionych zmniejsza się ruchliwość plemników w ejakulatach knurów. Główne zmiany morfologiczne są zwykle następstwem nieprawidłowości w przebiegu spermiogenezy oraz procesu dojrzewania plemników w trakcie ich przechodzenia przez kolejne odcinki najądrzy [36]. Genetyczne i środowiskowe zaburzenia w procesie spermatogenezy, jak i podczas dojrzewania plemników w najądrzach skutkują wytwarzaniem plemników o nieprawidłowej morfologii. W zdeformowanych plemnikach często występują uszkodzenia DNA lub struktury chromatyny [7]. Podwyższona frekwencja zmian morfologicznych plemników może wynikać z niestabilności chromatyny i występowania nieprawidłowości chromosomalnych [5, 23, 37]. Obecność plemników morfologicznie zmienionych zmniejsza płodność samca i wskazuje na obniżoną sprawność nabłonka nasieniowórczego. Duży odsetek plemników ze zmianami głównymi, a zwłaszcza defekty akrosomu, znacznie zmniejszają szansę na zapłodnienie. Dane przedstawione w niniejszej pracy wskazują, że odsetek plemników ze zmianami głównymi nie był duży. Był on daleki od wartości określanych jako graniczne dla nasienia płodnych knurów



**Tabela 5 – Table 5**

Wymiary plemników w zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie

Sperm dimensions depending on sperm motility in the ejaculate

Wymiary plemników Sperm dimensions	Udział w ejakulacie plemników o ruchu postępowym Percentage of spermatozoa with progressive motility		
	grupa I – group I 70%)	grupa II – group II 80%	ogółem total
Długość główki (µm) Head length (µm)	9,21 ±0,35	9,17 ±0,33	9,18 ±0,33
Szerokość główki (µm) Head width (µm)	4,67 <sup>a</sup> ±0,27	4,78 <sup>b</sup> ±0,29	4,75 ±0,29
Obwód główki (µm) Head perimeter (µm)	23,38 ±0,77	23,53 ±0,95	23,50 ±0,91
Pole powierzchni główki (µm <sup>2</sup> ) Head area (µm <sup>2</sup> )	39,81 <sup>a</sup> ±2,34	40,88 <sup>b</sup> ±2,39	40,62 ±2,42
Długość witki (µm) Tail length (µm)	45,03 ±1,69	45,35 ±1,33	45,27 ±1,43
Łączna długość (µm) Total length (µm)	54,24 ±1,90	54,52 ±1,49	54,45 ±1,60

a, b – P≤0,05

[4, 30], ale w ejakulatach grupy I, o mniejszej ruchliwości plemników, frekwencja plemników z głównymi zmianami morfologicznymi była ponad dwukrotnie większa niż w ejakulatach grupy II (P≤0,05). Wskazuje to na powiązanie frekwencji głównych zmian morfologicznych z ruchliwością plemników. Spośród głównych zmian morfologicznych plemników badanych knurów rasy polskiej białej zwiślouchej najczęściej stwierdzano plemniki z kroplą proksymalną i plemniki z wadą Daga (tab. 3). Zarówno plemniki z kroplą proksymalną, jak również plemniki z wadą Daga częściej występowały w ejakulatach o mniejszej ruchliwości plemników (P≤0,05). Kropla protoplazmatyczna w położeniu bliższym (kropla proksymalna) jest następstwem zaburzeń dojrzewania plemników w początkowym etapie spermatogenezy. Zaburzenia dojrzewania plemników w końcowym etapie spermatogenezy prowadzą do tworzenia się kropli protoplazmatycznej w położeniu dalszym (kropla distalna), co jest już uznawane za wadę podrzędną. Plemniki z kroplą proksymalną i z kroplą distalną to najczęściej występujące wady morfologiczne plemników, co wykazano także w niniejszej pracy. Z niektórych danych wynika, że plemniki z kroplą cytoplazmatyczną różnią się wymiarami i kształtem główki od plemników morfologicznie poprawnych [11].

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki pozwalają stwierdzić, że cechy morfometryczne plemników powiązane są z ruchliwością plemników. Udowodniono bowiem różnice w wymiarach główek plemników z ejakulatów różniących się ruchliwością plemników. W ejakulatach o większej ruchliwości plemników plemniki miały główki



o nieco większej szerokości i o większym polu powierzchni niż plemniki z ejakulatów o mniejszej ruchliwości plemników ( $P \leq 0,05$ ). Kształt główki plemnika jest determinowany organizacją DNA [34]. Przypuszcza się, że nawet niewielkie odchylenia kształtu główki plemnika mogą być spowodowane zmianami struktury chromatyny w jądrze [29], co może skutkować obniżoną płodnością [8]. Plemniki z kroplą cytoplazmatyczną cechuje większy udział zdekondensowanej chromatyny niż plemniki o prawidłowej morfologii [11]. Zatem stwierdzanie różnic w wymiarach główki plemników może być pomocne przy rozpoznawaniu osobników płodnych i osobników o ograniczonej płodności [14, 32].

Niektórzy badacze [15, 16] zwracają uwagę na zależność szybkości poruszania się plemników od długości główki i witki. Plemniki o wydłużonych główkach są szybsze niż plemniki o główkach zaokrąglonych [24]. Od kształtu główki zależy także forma ruchu plemnika [39]. Ejakulatory cechujące się małym odsetkiem plemników ruchliwych zawierają plemniki o krótszych wtkach. Witki plemników samców o wysokiej płodności są proste, zaś samców o obniżonym wskaźniku zapłodnień są kątowne w miejscu zatrzymania kropli cytoplazmatycznej [27]. Długość wstawki plemników może mieć związek z poziomem energii pochodzącej z mitochondriów [3] i wpływa na ruchy witki, a tym samym na siłę i szybkość poruszania się plemnika [27]. Plemniki o dłuższych wtkach są bardziej konkurencyjne, gdyż mogą się szybciej poruszać i szybciej dotrzeć do komórki jajowej [9, 12]. Ruchliwość plemników wpływa na wielkość miotu i liczbę żywo urodzonych prosiąt [38, 41]. Zatem dokładna ocena ruchliwości plemników w ejakulacie może być wykorzystana do prognozowania płodności knura [41].

Podsumowując należy stwierdzić, że ejakulatory knurów rasy polskiej białej zwisłouchej o większym procentowym udziale plemników wykazujących ruch postępowy zawierają także więcej plemników. Objętość ejakulatu i koncentracja plemników w ejakulacie nie mają natomiast bezpośredniego związku z ruchliwością plemników. Ejakulatory o większej ruchliwości plemników zawierają mniej plemników z głównymi zmianami morfologicznymi. Częstotliwość występowania podrzędnych zmian morfologicznych nie wykazuje natomiast istotnej zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie. Główne zmiany morfologiczne plemników, najczęściej występujące w ejakulatach knurów rasy polskiej białej zwisłouchej, to plemniki z kroplą proksymalną i plemniki z wadą Daga. Obie te formy morfologiczne częściej występują w ejakulatach o mniejszej ruchliwości plemników. Do najczęściej występujących podrzędnych zmian morfologicznych plemników należą plemniki z pojedynczą pętlą witki, plemniki z główką wolną normalną oraz plemniki z distalną kroplą protoplazmy. Zmiany te nie wykazują zależności od ruchliwości plemników w ejakulacie. W ejakulatach o większej ruchliwości plemników, plemniki mają nieco większe wymiary od plemników z ejakulatów o mniejszej ruchliwości plemników. Dla praktyki inseminacyjnej korzystniejsze są ejakulatory o większej ruchliwości plemników, nie tylko ze względu na możliwość wykonania większej liczby dawek inseminacyjnych, ale także ze względu na mniejszą frekwencję głównych zmian morfologicznych.

## PIŚMIENNICTWO

1. AUGER J., JOUANNET P., EUSTACHE F., 2016 – Another look at human sperm morphology. *Human Reproduction* 31, 10-23.
2. BAJENA M., KONDRACKI S., IWANINA M., WYSOKIŃSKA A., ADAMIAK A., 2016 – Physical characteristics of ejaculates produced by insemination boars depending on the interval between successive ejaculate collections. *Journal of Central European Agriculture* 17 (2), 260-271.
3. BIERŁA J.B., GIŻEJEWSKI Z., LEIGH C.M., EKWALL H., SÖDERQUIST L., RODRIGUEZ-MARTINEZ H., ZALEWSKI K., BREED W.G., 2007 – Sperm morphology of the Eurasian beaver *Castor fiber*: an example of a species of rodent with highly derived and pleiomorphic sperm populations. *Journal of Morphology* 268, 683-689.
4. BLOM E., 1981 – Morphological evaluation of spermatozoons defects in the bull. II. Proposal of a new classification of spermatozoons defects (in Polish). *Medycyna Weterynaryjna* 37, 239-242.
5. CALOGERO A.E., DE PALMA A., GRAZIOSO C., BARONE N., ROMEO R., RAPAZZO G., D'AGATA R., 2001 – Aneuploidy rate in spermatozoa of selected men with abnormal semen parameters. *Human Reproduction* 16, 1172-1179.
6. CASAY P.J., GRAVANCE C.G., DAVIS R.O., CHABOT D.D., LIU I.K.M., 1997 – Morphometric differences in sperm head dimensions of fertile and subfertile stallions. *Theriogenology* 47, 575-582.
7. ENCISO M., CISALE H., JOHNSTON S.D., SARASA J., FERNÁNDEZ J.L., GOSÁLVEZ J., 2011 – Major morphological sperm abnormalities in the bull are related to sperm DNA damage. *Theriogenology* 76, 23-32.
8. EVENSON D., WIXON R., 2006 – Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reproductive BioMedicine Online* 12 (4), 466-472.
9. FITZPATRICK J.L., LÜPOLD S., 2014 – Sexual selection and the evolution of sperm quality. *Molecular Human Reproduction* 20, 1180-1189.
10. GAGE M.J.G., MORROW E.H., 2003 – Experimental evidence for the evolution of numerous, tiny sperm via sperm competition. *Current Biology* 13, 754-757.
11. GAGGINI T.S., ROCHA L.O., SOUZA E.T., REZENDE F.M., ANTUNES R.C., BELETTI M.E., 2017 – Head morphometry and chromatin instability in normal boar spermatozoa and in spermatozoa with cytoplasmic droplets. *Animal Reproduction Science* 14 (Suppl. 1), 1253-1258.
12. GOMENDIO M., ROLDAN E.R.S., 1991 – Sperm competition influences sperm size in mammals. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* 243, 181-185.
13. GÓRSKI K., KONDRACKI S., STRACHOCKA K., WYSOKIŃSKA A., 2017 – Association of ejaculate sperm counts with their morphological and morphometric characteristics in Hypor boars. *Annals of Animal Science* 17 (4), 1043-1052.
14. GRAVANCE C.G., LIU I.K.M., DAVIS R.O., HUGHS J.P., CASEY P.J., 1996 – Quantification of normal stallion sperm-head morphometry. *Journal of Reproduction and Fertility* 108, 41-46.
15. HELFENSTEIN F., PODEVIN M., RICHNER H., 2010 – Sperm morphology, swimming velocity, and longevity in the house sparrow *Passer domesticus*. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 64, 557-565.

16. HUMPHRIES S., EVANS J.P., SIMMONS L.W., 2008 – Sperm competition: linking form and function. *BMC Evolutionary Biology* 8, 319, 1-11.
17. KONDRACKI S., BANASZEWSKA D., MIELNICKA C., 2005 – The effect of age on the morphometric sperm traits of domestic pig (*Sus scrofa domestica*). *Cellular & Molecular Biology Letters* 10, 1, 3-13.
18. KONDRACKI S., BANASZEWSKA D., BAJENA M., KOMOROWSKA K., KOWALEWSKI D., 2013 – Correlation of frequency of spermatozoa morphological alterations with sperm concentration in ejaculates of Polish Landrace boars. *Acta Veterinaria Beograd* 63, 513-524.
19. KONDRACKI S., IWANINA M., WYSOKIŃSKA A., GÓRSKI K., 2013 – The use of sexual activity measurements to assess ejaculatory performance of Boars. *Archiv Tierzucht* 56 (106), 1052-1059.
20. KONDRACKI S., WYSOKIŃSKA A., KANIA M., GÓRSKI K., 2017 – Application of two staining methods for sperm morphometric evaluation in domestic pigs. *Journal of Veterinary Research* 61, 345-349.
21. KOWALEWSKI D., KONDRACKI S., GÓRSKI K., BAJENA M., WYSOKIŃSKA A., 2016 – Effect of piggery microclimate on ejaculate performance of artificial insemination boars. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 22, 225-232.
22. KRŽKOVÁ J., ČOUĐKOVÁ V., MARŠÁLEK M., 2017 – Computer-Assisted Sperm Analysis of Head Morphometry and Kinematic Parameters in Warmblood Stallions Spermatozoa. *Journal of Equine Veterinary Science* 57, 8-17.
23. KUBO-IRIE M., MATSUMIYA K., IWAMOTO T., KANEKO S., ISHIJIMA S., 2005 – Morphological abnormalities in the spermatozoa of fertile and infertile men. *Molecular Reproduction and Development* 70, 70-81.
24. MALO A.F., GOMENDIO M., GARDE J., LANG-LENTON B., SOLER A.J., ROLDAN E.R.S., 2006 – Sperm design and sperm function. *Biology Letters* 2, 246-249.
25. MASENYA M.B., MPHAPHATHI M.L., MAPEKA M.H., MUNYAI P.H., MAKHAFOLA M.B., RAMUKHITHI F.V., MALUSI P.P., UMESIOBI D.O., NEDAMBALE T.L., 2011 – Comparative study on semen characteristics of Kolbroek and Large White boars following computer aided sperm analysis® (CASA). *African Journal of Biotechnology* 10 (64), 14223-14229.
26. MAŽEIKA K., SUTKEVIČIENĖ N., ŽILINSKAS H., RIŠKEVIČIENĖ V., ANIULIENĖ A., JUODŽIUKYNIENĖ N., 2012 – Relationship between sperm quality and testicular lesions in culled ai boars. *Veterinarija ir Zootechnika* 59 (81), 52-57.
27. NOORAFSHAN A., KARBALAY-DOUST S., 2010 – A simple method for unbiased estimating of ejaculated sperm tail length in subjects with normal and abnormal sperm motility. *Micron* 41, 96-99.
28. O'CONNOR R.E., FONSEKA G., FRODSHAM R., ARCHIBALD A.L., LAWRIE M., WALLING G.A., GRIFFIN D.K., 2017 – Isolation of subtelomeric sequences of porcine chromosomes for translocation screening reveals errors in the pig genome assembly. *Animal Genetics* 48, 395-403.
29. OSTERMEIER G.C., SARGEANT G.A., YANDELL B.S., EVENSON D.P., PARRISH J.J., 2001 – Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape. *Journal of Andrology* 22, 595-603.

30. PENA F.J., SARAVIA F., NUNEZ-MARTINEZ I., JOHANNISSON A., WALLGREN M., RODRIGUEZ-MARTINEZ H., 2006 – Do different portions of the boar ejaculate vary in their ability to sustain cryopreservation? *Animal Reproduction Science* 93, 101-113.
31. RODRIGUEZ A.L., VAN SOOM A., ARSENAKIS I., AND MAES D., 2017 – Boar management 891 and semen handling factors affect the quality of boar extended semen. *Porcine Health Management* (doi: 10.1186/s40813-017-0062-5).
32. SEVERA L., MACHAL L., SVABOVA L., MAMICA O., 2010 – Evaluation of shape variability of stallion sperm heads by means of image analysis and Fourier descriptors. *Animal Reproduction Science* 119, 50-55.
33. SMITAL J., DE SOUSA L.L., MOHNSEN A., 2004 – Differences among breeds and manifestation of heterosis in AI boar sperm output. *Animal Reproduction Science* 80, 121-130.
34. STEINHOLT H.C., CHANDLER J.E., BARON R.A., ADKINSON R.W., 1994 – Chromosome and sperm size of Holsteins with and without bovine leukocyte adhesion deficiency. *Journal of Dairy Science* 77, 1239-1250.
35. STONE B.A., 1982 – Heat induced infertility of boars: the interrelationship between depressed sperm output and fertility and an estimation of the critical air temperature above which sperm is impaired. *Animal Reproduction Science* 4, 283-299 (doi: 10.1016/0378-4320(82) 90043-4).
36. STRZEŻEK J., 1999 – Fizjologia reprodukcyjna knura – aspekty poznawcze i aplikacyjne. *Nowa Weterynaria* 14 (3), 39-47.
37. SUN F., KO R., MARTIN R.H., 2006 – Is there a relationship between sperm chromosome abnormalities and sperm morphology? *Reproductive Biology and Endocrinology* 4, 1-15.
38. SUTKEVICIENE N., ANDERSSON M.A., ZILINSKAS H., ANDERSSON M., 2005 – Assessment of boar semen quality in relation to fertility with special reference to methanol stress. *Theriogenology* 63 (3), 739-747.
39. THURSTON L.M., WATSON P.F., MILEHAM A.J., HOLT W.V., 2001 – Morphologically distinct sperm subpopulations defined by Fourier Shape Descriptors in fresh ejaculates correlate with variation in boar semen quality following cryopreservation. *Journal of Andrology* 22, 382-394.
40. VALVERDE A., MADRIGAL-VALVERDE M., ZAMBRANA-JIMÉNEZ A., 2018 – Evaluación de la cinética y movilidad espermática de verracos en condiciones tropicales [Assessment of boar sperm kinetics and motility in tropical conditions]. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 12, 125-132.
41. VYT P., MAES D., QUINTEN C., RIJSSELAERE T., DELEY W., AARTS M., de KRUIF A., VAN SOOM A., 2008 – Detailed motility evaluation of boar semen and its predictive value for reproductive performance in sows. *Vlaams Diergeneeskundig Tijdschrift* 77, 291-298.
42. WETTEMANN R.P., WELLS M.E., OMTVEDT I.T., POPE C.E., TURMAN E.J., 1976 – Influence of elevated ambient temperature on reproductive performance of boars. *Journal of Animal Science* 42, 664-669.
43. WOLF J., SMITAL J., 2009 – Quantification of factors affecting semen traits in artificial insemination boars from animal model analyses. *Journal of Animal Science* 87, 1620-1627.

44. WYSOKIŃSKA A., KONDRACKI S., 2014 – Assessment of sexual activity levels and their association with ejaculate parameters in two-breed hybrids and purebred Duroc and Pietrain boars. *Annals of Animal Science* 14, 559-571.
45. WYSOKIŃSKA A., KONDRACKI S., IWANINA M., 2015 – The usefulness of selected physicochemical indices, cell membrane integrity and sperm chromatin structure in assessments of boar semen sensitivity. *Asian Australasian Journal of Animal Sciences* 28, 1713-1720.

Maria Iwanina, Stanisław Kondracki

## Dependence of the frequency of sperm defects and dimensions on sperm motility in ejaculates of Polish Landrace boars

### Summary

An attempt was made to determine the dependence of the frequency of sperm defects and dimensions on sperm motility in ejaculates of Polish Landrace boars. The study was conducted on 393 ejaculates collected from 33 Polish Landrace boars. Ejaculates were grouped according to the percentage of sperm with progressive motility, distinguishing ejaculates in which the percentage of motile sperm was 70% and 80%. In each ejaculate, the frequency of morphological changes in the sperm was determined and morphometric measurements of the sperm were made. Ejaculates with a higher proportion of sperm with progressive motility were found to contain more sperm. The ejaculate volume and sperm concentration in the ejaculate were not found to be directly associated with sperm motility. The frequency of primary defects was linked to sperm motility. Ejaculates with higher sperm motility contained fewer sperm with primary defects. The frequency of minor morphological changes, however, shows no significant dependence on sperm motility in the ejaculate. The primary morphological sperm defects most often found in ejaculates are a proximal droplet and the Dag defect. Both of these morphological forms are more common in ejaculates with lower sperm motility. The most common secondary sperm defects include sperm with a simple bent tail, sperm with a free normal head, and sperm with a distal droplet. These defects were not found to depend on sperm motility in the ejaculate. Sperm cells in ejaculates with greater sperm motility had slightly larger dimensions than sperm in ejaculates with lower sperm motility. Ejaculates with higher sperm motility are preferable for use in practice, not only because more insemination portions can be prepared from them, but also due to the lower frequency of primary defects.

**KEY WORDS:** sperm motility / morphological changes in sperm / sperm dimensions