Capacità fecondante dello sperma nell'anatra muschiata (1)

M. Marzoni Fecia di Cossato - M. Bagliacca
G. Paci - C. Fedeli Avanzi

Introduzione

La fecondazione artificiale è un metodo industriale di riproduzione che permette di diffondere al massimo il patrimonio genetico di un maschio e di porre rimedio a problemi riproduttivi derivanti da dimorfismi sessuali accentuati, competizione fra maschi, incompatibilità comportamentali, preferenze sessuali fra riproduttori, ecc.

Al maschio spetta il compito di fecondare le uova e quindi, particolarmente dove non esiste un mercato delle uova da consumo di quella specie, di apportare la quasi totalità del valore commerciale alle uova stesse. Tale ruolo, nella fecondazione naturale, è fortemente dipendente dal comportamento sessuale del maschio nell'ambito del gruppo di riproduttori, mentre nella fecondazione artificiale dipende esclusivamente dall'attitudine del soggetto a produrre spermatozoi di buona qualità (de Reviers, 1988a).

Le indicazioni sull'efficacia della spermatogenesi del maschio e sulla capacità fecondante del suo materiale spermatico sono quindi necessarie per formulare il giudizio sulla sua validità riproduttiva.

Tali informazioni vengono ottenute, in maniera sufficientemente certa, combinando i risultati di diverse indagini di laboratorio svolte sullo sperma dopo la raccolta. Idealmente questi test dovrebbero essere oggettivi, quantitativi, semplici da attuare e da interpretare, poco costosi e rapidi (Lake, 1988), ma nessuno di quelli finora impiegati per la valutazione dello sperma presenta tutti questi requisiti contemporaneamente.

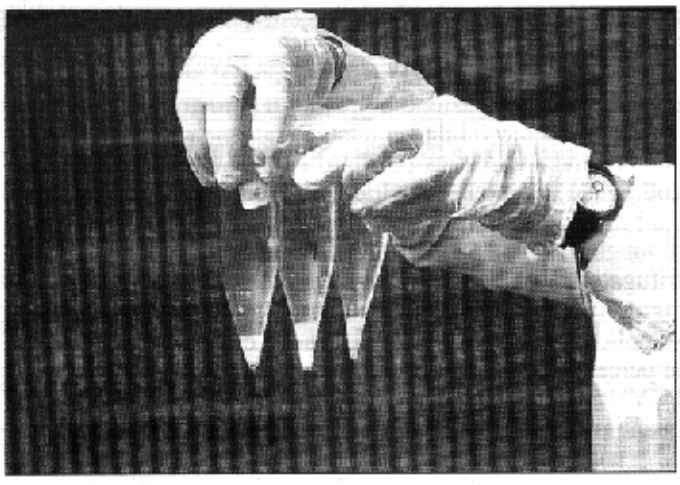
Le analisi del seme possono essere effettuate "in campo" al momento del prelievo o, successivamente, in laboratorio. Le indagini possono essere di ordine macroscopico (volume, pH, colore, aspetto, ecc.), microscopico sugli spermatozoi (concentrazione, motilità d'insieme e individuale, percentuale degli spermatozoi vivi o morti, morfologia, ecc.) e chimico-fisico (variazione del pH, tempo di riduzione di certi coloranti, tenore in GOT ed in LDH, ecc.). Le informazioni ottenute con le suddette indagini devono poi, per una corretta valutazione dei riproduttori, essere arricchite e confermate dai risultati dello sperma *in vivo*, cioè dalla valutazione dell'attitudine degli spermatozoi a fecondare le uova (capacità fecondante) ed a sopravvivere nell'ovidutto (durata del periodo fertile).

Queste due ultime informazioni sono ottenute inseminando artificialmente delle femmine, con quantità note di spermatozoi, e rilevando, nel primo caso, il numero di uova che risultano fecondate in un certo intervallo di tempo (a partire dal secondo giorno successivo all'inseminazione) e nel secondo caso, il tempo che intercorre fra l'inseminazione e la comparsa dell'ultimo uovo fecondato (de Reviers, 1982; 1988a). Per motivi di tempo e poiché le misurazioni più indicative della capacità fecondante del materiale spermatico

Prelievo spermatico dall'anatra muschiata mediante vagina artificiale

(1) Ricerca eseguita con contributi MURST 40% e CNR (93.02739. CT06).

Dipartimento di Produzioni Animali - Facoltà Medicina Veterinaria - Università di Pisa.



Vagine artificiali contenenti eiaculati di anatre muschiate

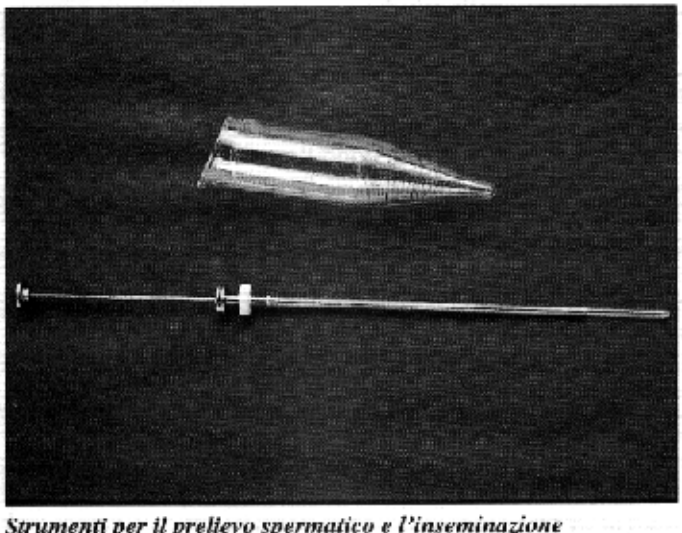
(concentrazione, motilità) richiedono attrezzature di laboratorio e personale specializzato, di solito il materiale spermatico viene valutato solo al momento del prelievo in maniera soggettiva ricorrendo ad alcuni semplici esami macroscopici (volume, colore, aspetto).

Nelle anatre le conoscenze sull'impiego della fecondazione artificiale derivano in prevalenza da ricerche svolte nell'ambito dell'ibridazione di soggetti appartenenti a due generi diversi (Cairina e Anas), dal momento che nei rispettivi allevamenti intensivi in purezza viene normalmente impiegata la riproduzione naturale.

Scarse sono le informazioni sull'inseminazione artificiale nell'anatra muschiata in purezza. Rouvier e coll. (1984) riportano una fertilità media di 89,2% ottenuta a Taiwan con sperma fresco; Schramm e Seibert (1987) e Schramm e Hübner (1989) indicano un tasso di fertilità di 86,4% con materiale fresco, di 87,9%, 85,2% e 87,2% con sperma raffreddato per 0, 3, 6 ore e di 80,3% e 56,2% con materiale congelato per 2-3 e 3-4 giorni.

Scarse sono pure le informazioni sulla variazione stagionale delle caratteristiche quanti-qualitative dello sperma di anatra muschiata. Gvaryahu e collaboratori (1984a), allevando soggetti all'aperto e valutandoli tramite prelievi settimanali, dalla fine di gennaio alla fine di luglio, hanno evidenziato una scarsa variazione nel volume prodotto dai singoli soggetti nel corso della stagione, una notevole variabilità per questo carattere fra i maschi, un incremento nella produzione di spermatozoi nel periodo marzo-aprile e un calo della motilità nel passaggio fra primavera ed estate (maggio-giugno). Tale lavoro ha quindi ipotizzato l'instaurarsi di uno stato di disagio nei maschi di anatra muschiata che si manifesta con un peggioramento delle caratteristiche qualitative degli spermatozoi quando, all'innalzamento della temperatura ambientale sopra i 26-27°C, si aggiunge un aumento di umidità relativa. Ciò concorda con i risultati emersi in prove condotte in Italia circa l'influenza dei fattori climatici sui parametri riproduttivi dell'anatra muschiata (Fedeli e Romboli, 1979; Fedeli e Mori, 1983).

La scarsità di indicazioni bibliografiche sull'andamento della fertilità nell'anatra muschiata dopo un intervento fecondante e sulla durata del periodo fertile, ci ha indotto a condurre un'indagine per giungere alla definizione di questi due importanti aspetti nella riproduzione di questa specie. Inoltre la mancanza di informazioni sull'andamento della capacità fecondante dello sperma, con il progredire della stagione riproduttiva, e sulla rispondenza che alcune caratteristiche spermatiche hanno con la capacità fecondante stessa, ci ha spinto a testare la validità degli esami di più facile rilevamento al momento del prelievo ai fini di una stima "di campo" della qualità dello sperma.



Strumenti per il prelievo spermatico e l'inseminazione artificiale: vagina artificiale graduata (sopra) e cannello per l'inseminazione (sotto)

Materiali e metodi

Valutazione del periodo fertile nell'anatra muschiata

Per la valutazione dell'andamento della fertilità e della durata del periodo fertile sono state utilizzate 30 femmine di anatra muschiata, allevate all'aperto in parchetti a terra ed inseminate tre volte con pool di sperma (100×10^6 spermatozoi/dose/femmina) proveniente da maschi muschiati (concentrazione media: 1900×10^6/ml). Le inseminazioni sono state effettuate secondo il seguente schema:

– 1ª e 2ª inseminazione in giorni consecutivi, (per un rapido riempimento dei "nidi spermatici");

– 3ª inseminazione, dopo un intervallo di un giorno dalla 2ª, (inseminazione di riferimento per la valutazione della durata del periodo fertile).

Entro 20 minuti dai prelievi di sperma, ogni femmina è stata inseminata intravaginalmente ad una profondità di 2 cm, impiegando la metodica dell'estroflessione della cloaca per compressione dell'addome. Tale metodica, sebbene utilizzata comunemente per le anatre comuni (Huang e Chow, 1974; Rouvier e coll., 1984), è stata impiegata nella presente prova in quanto preferita, per motivi igienico-sanitari, alla metodica "del dito" consigliata per tutte quelle specie come oche, anatre muschiate ed a volte anatre comuni in cui l'estroflessione della cloaca si presenta più difficoltosa (de Reviers, 1988c; Rouvier e coll., 1988; Sauveur e de Carville, 1990; Behr e Hartmann, 1992). A partire dal 2° giorno dopo l'ultima inseminazione, tutte le uova deposte da ciascuna femmina per i successivi 21 giorni sono state incubate (stoccaggio massimo 7 giorni) e la fertilità è stata rilevata al decimo giorno di incubazione tramite speratura.

La stima della durata della fertilità al crescere dell'intervallo di tempo dall'inseminazione è stata calcolata usando la procedura iterativa dei minimi quadrati (Kirby e Froman,

1990). I dati giornalieri di fertilità sono stati usati per stimare i parametri *a* (stima della fertilità iniziale), *b* (termine di pendenza), c (stima del punto di mezza fertilità massima) del seguente modello di regressione non lineare: $y(x)=a/[1+exp^{b(c-x)}]$. La significatività della riduzione della fertilità al crescere dell'intervallo di tempo dall'inseminazione è stata testata con il metodo del chi² (Wilkinson, 1990).

Valutazione della capacità fecondante

Per la valutazione della capacità fecondante dello sperma delle anatre muschiate in relazione al tempo trascorso dall'inizio della prova ed alle caratteristiche spermatiche, sono stati impiegati maschi e femmine al primo anno riproduttivo. Tutti i soggetti sono stati allevati all'aperto (luce naturale): i maschi in gabbie individuali sopraelevate (larghezza 100 cm, profondità 80 cm, altezza 70 cm) e le femmine in parchetti a terra. L'impiego di una stazione metereologica, installata in vicinanza della zona di allevamento dei soggetti, ha permesso il rilevamento dei dati giornalieri di temperatura (massima e minima), umidità relativa, pluviometria e velocità del vento.

A partire dalla terza decade di marzo sui maschi sono stati effettuati, una volta alla settimana per 16 settimane consecutive, i prelievi spermatici. Questi sono stati effettuati con il metodo della vagina artificiale (Tan, 1980), adottando il procedimento proposto da Gvaryahu e coll. (1984b), ed impiegando femmine di anatra muschiata in fase di deposizione come stimolatori sessuali. Per limitare il rischio di inquinamento dell'eiaculato con materiale fecale, i maschi sono stati tenuti a digiuno nelle 12 ore precedenti il prelievo. Come vagine artificiali sono stati impiegati semplici contenitori conici di vetro (lunghezza 15 cm, diametro esterno 4,0 cm, diametro interno 3,6 cm), con l'estremità terminale affusolata e graduata.

Su ciascuno dei 71 eiaculati ottenuti sono state valutate le seguenti caratteristiche:

– **volume**: (al momento del prelievo) direttamente nelle vagine artificiali graduate;

– **pH e temperatura**: (al momento del prelievo) direttamente nelle vagine artificiali graduate impiegando un pHmetro portatile a batterie, con sonda di temperatura;

– **colore**: (al momento del prelievo) direttamente nelle vagine artificiali graduate con metodo soggettivo a punteggi impiegando la seguente scala di riferimento: 1 = giallognolo; 2 = bianco chiaro; 3 = bianco latte.

– **aspetto**: (al momento del prelievo) direttamente nelle vagine artificiali graduate con metodo soggettivo a punteggi impiegando la seguente scala di riferimento: 1 = liquido; 2 = poco denso; 3 = denso.

– **motilità d'insieme**: (entro 20 minuti dal prelievo) 0,020 ml di ogni eiaculato sono stati posti su un vetrino da microscopia e, mediante videomicroscopia, filmati in più campi per 10 secondi. A posteriori il movimento d'insieme di ogni campione è stato valutato con metodo soggettivo a punteggio, usando come scala di riferimento quella proposta da Petitjean (1965);

– **concentrazione**: (entro 20 minuti dal prelievo) valutata per microcentrifugazione in quanto tale metodica è risultata sufficientemente valida per una valutazione rapida della concentrazione spermatica (Brillard e McDaniel, 1985; Paci e coll., 1991). Dopo lieve agitazione di ciascun eiaculato, sono stati riempiti per capillarità tubi da microematocrito (75 mm di lunghezza, 0,065-0,095 ml di capacità) che sono stati centrifugati per 10 minuti a 12.000 giri/minuto dopo essere stati sigillati ad una estremità con plastilina. L'impiego di una semplice scala grafica, ha permesso di calcolare direttamente la percentuale di sedimento (volume di cellule ammassate o PCV) senza rendere necessaria la standardizzazione della quantità di sperma in ogni capillare;

– **capacità fecondante**: (entro 20 minuti dal prelievo) su 5 femmine per ogni maschio. Una volta alla settimana ogni femmina è stata inseminata intravaginalmente ad una profondità di 2 cm con una dose di materiale spermatico puro (0,050 ml/femmina) raccolto dal riproduttore corrispondente. Le inseminazioni sono state effettuate impiegando la stessa metodica usata per il precedente esperimento. Le uova deposte dai vari gruppi, raccolte giornalmente e conservate fino ad un massimo di 7 giorni in cella climatica (18°C e 70% U. R.), sono state incubate ad intervalli settimanali. Al decimo giorno di incubazione sono state sottoposte a speratura per rilevare la percentuale di uova fecondate.

I dati raccolti, previa trasformazione angolare, sono stati elaborati per l'individuazione dei coefficienti di regressione lineare e delle correlazioni fra le caratteristiche spermatiche e la capacità fecondante dello sperma. Inoltre è stata stimata con il metodo dei minimi quadrati l'equazione della curva che descrive l'andamento della capacità fecondante dello sperma con il progredire della stagione di produzione (Wilkinson, 1990).

Risultati

Valutazione del periodo fertile nell'anatra muschiata

I risultati ottenuti con la prova relativa alla valutazione della durata del periodo fertile dopo un intervento fecondante sono riportati nella tab. 1.

La capacità di mantenere in vita gli spermatozoi nell'ovidutto è risultata al massimo di 15 giorni, in accordo con quanto già indicato da Sauveur (1982). Nonostante la ridotta numerosità dei dati, dall'analisi del chi² abbiamo però individuato, già dal 6°-7° giorno dopo l'intervento fecondante, un significativo minor tasso di uova fertili (56,48% *vs* 82,57% e 71,64%, $p < 0,05$). Ciò indicherebbe quindi, con la metodica da noi adottata, la necessità di ripetere gli interventi di inseminazione almeno ogni 4-5 giorni. Non è da escludere tuttavia, dato il modesto tasso di fertilità medio settimanale ottenuto (59,81%, calcolato su tutte le uova deposte dal 2° al 9°

Tab. 1 - Fertilità delle uova deposte in funzione del tempo trascorso dall'inseminazione (valori medi relativi a due giorni di deposizione)

Giorni dopo l'inseminazione							
2-3	4-5	6-7	8-9	10-11	12-13	14-15	>15
82,57% a	71,64% a	56,48% b	28,57% c	26,31% cd	21,43% cd	4,35% d	0

Lettere diverse indicano differenze per P < 0,05.

Tab. 2 - Coefficienti di regressione, coefficienti di determinazione e valore della F determinati fra la fertilità ed alcune caratteristiche spermatiche

Variabile dipendente "y"	Costante "a"	Valori di "b"						R^2 %	F della regressione
		Volume	pH	Temp. seme	PCV	Motilità d'insieme	Stagione		
	83,22	–2,29					–0,47***	25,7	6,92**
	366,29		–34,88				–0,76***	48,1	14,8***
	148,55			–1,35			–0,80***	51,9	12,39***
Fertilità	68,85				2,66		–0,56**	26,8	5,68**
	68,94					3,02	–0,55*	23,5	3,54*
	85,84						–0,47***	25,6	14,11***
	434,97	2,21	–39,41	–1,78	–0,97	4,54	–0,93*	54,9	2,07

Equazione generale delle regressioni: $y = a + b_1x_1 + B_2X_2$ - * Valore significativo per $P < 0,05$ - ** Valore significativo per $P < 0,01$ - *** Valore significativo per $P < 0,001$.

giorno seguente l'inseminazione), che il deposito dello sperma nella vagina dell'anatra muschiata a 2 cm circa di profondità abbia permesso la fuoriuscita di una quota del materiale spermatico inseminato, superiore al normale (Howarth, 1971), con conseguente scarsa disponibilità di spermatozoi nelle ghiandole di stoccaggio dell'oviduto. A conferma di ciò, l'equazione che rappresenta l'andamento della fertilità, al crescere dell'intervallo inseminazione-deposizione, è caratterizzata da un declino precoce, vedi fig. 1.

Valutazione della capacità fecondante

Nel corso della prova sono stati ottenuti eiaculati caratterizzati da valori medi di volume pari a 1,16 ml (range: 0,5-2,0 ml), di spermatocrito pari a 7,35% (range: 4%-12%), di pH pari a 7,43 (range: 6,89-7,77) e di temperatura pari a 30,4°C (range: 26,2°-36,2°C). I risultati dei primi tre parametri trovano riscontro nei dati bibliografici disponibili sull'anatra muschiata (Onishi e coll., 1955; Huang e Chow, 1974; Tan 1980; Gvaryahu e coll., 1984b; Rouvier e coll., 1984; Rouvier e coll., 1988; Jian e coll., 1988; Paci e coll., 1991; Wagner e Pingel, 1995), mentre mancano riferimenti circa la temperatura dello sperma di questa specie.

Seppure nessun autore neghi un effetto sulla fertilità della temperatura dello sperma al momento del prelievo-inseminazione, i riferimenti sono sempre fatti rispetto alla temperatura media ambientale o ad altri parametri microclimatici (Fedeli e Romboli, 1979; Fedeli e Mori, 1983; Gvaryhau e coll., 1984a). A tale riguardo é interessante notare che, seppure tutti i parametri microclimatici da noi rilevati: temperatura, pioggia, umidità relativa e persino velocità del vento influenzino la velocità di raffreddamento dello sperma e quindi la sua temperatura misurata nella vagina artificiale subito dopo il prelievo (R^2 della regressione multipla = 0,64), la variazione della sola temperatura ambientale ha spiegato il 43,3% della variazione totale osservata (b = +0,302***).

Durante il periodo di sperimentazione, la capacità fecondante, misurata come fertilità delle uova deposte, ha raggiunto il valore massimo 34 giorni dopo l'inizio dei prelievi (75,1%) mostrando una ridotta persistenza (-13,3%, 30 giorni dopo il raggiungimento del massimo), vedi fig. 2.

I risultati delle regressioni lineari calcolate fra la capacità fecondante e le varie caratteristiche spermatiche prese in esame, riportate nella tab. 2, mostrano l'esistenza di correlazioni negative fra capacità fecondante *vs* volume, pH e temperatura dello sperma al momento del prelievo e correlazioni positive *vs* concentrazione e motilità degli spermatozoi. Alcuni di questi risultati, relativamente a volume, motilità e concentrazione, trovano riscontro in analoghi studi di predizione della capacità fecondante condotti sullo sperma di gallo (Wishart e Palmer, 1986; McDaniel e Craig, 1959, 1962). I valori relativamente bassi del coefficiente di determinazione, indicano però che i vari parametri presi singolarmente non sono sufficienti a spiegare la variazio-

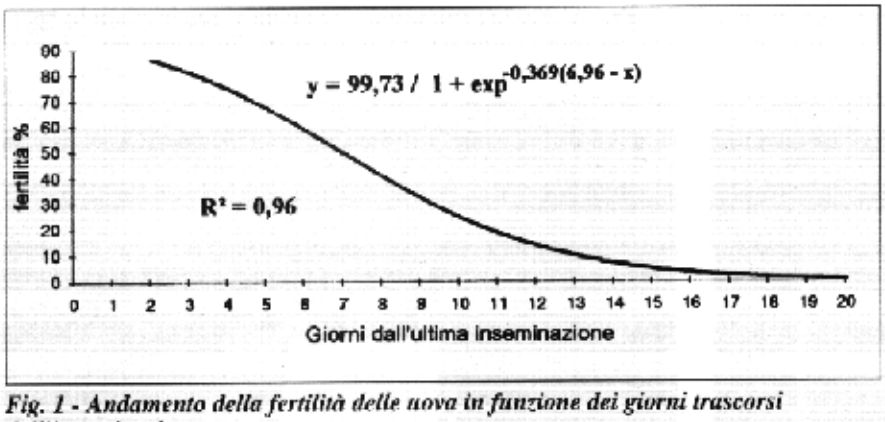


Fig. 1 - Andamento della fertilità delle uova in funzione dei giorni trascorsi dall'inseminazione

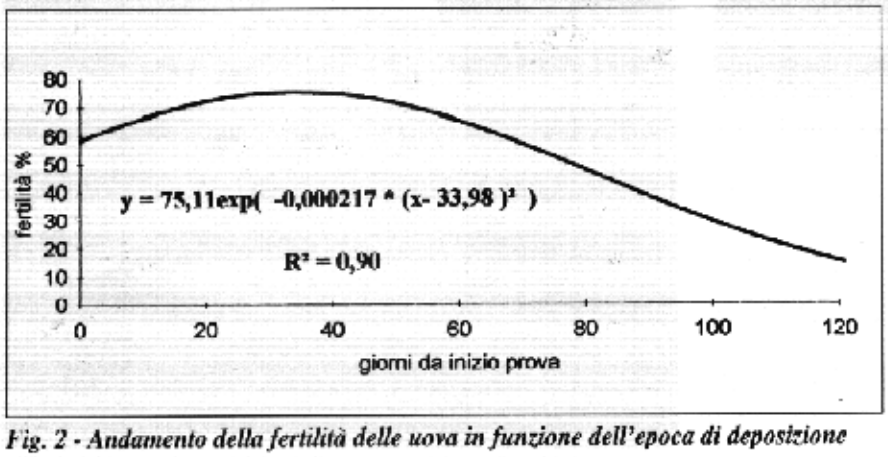


Fig. 2 - Andamento della fertilità delle uova in funzione dell'epoca di deposizione

Tab. 3 - Fertilità media stimata per le tre classi di colore e di densità dello sperma ed effetto dell'epoca di inseminazione

		Colore			Giorni da inizio prova	R^2
		Bianco latte	Bianco chiaro	Giallognolo		
Fertilità	n	55	6	10	b = –0,618 ***	0,407
	media st.	63 ns	49 ns	64 ns		
	σ	26,7	8,2	34,6		
		Aspetto				
		Denso	Poco denso	Liquido		
Fertilità	n	35	16	20	b = –0,471 ***	0,496
	media st.	70 a	61 ab	47 b		
	σ	23,1	22,9	22,8		

Media con lettere diverse indicano valori diversi per $p < 0,05$ - *** Valore significativo per $P < 0,001$.

ne della capacità fecondante dello sperma ed anche presi complessivamente riescono a spiegare solo il 54,9% della variazione della capacità fecondante. L'azione più marcata è comunque legata alla temperatura ed al pH dello sperma raccolto, in grado di fornire indicazioni circa lo stato metabolico-nutrizionale raggiunto dal liquido seminale.

La capacità fecondante è stata infine valutata anche rispetto alle due osservazioni categoriche dello sperma, il colore e l'aspetto (tab. 3).

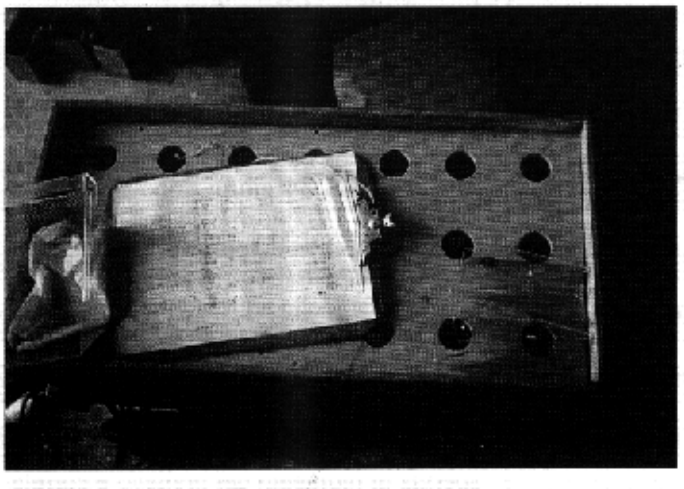
Anche con questo tipo di studio, la fertilità si è confermata negativamente correlata con l'avanzare della stagione produttiva ($p < 0,001$). L'aspetto "liquido" al momento del prelievo ha determinato inoltre una significativa riduzione della fertilità rispetto a quello classificato "denso" (47% *vs* 70%; $p < 0,05$) mentre le tre classi di colore non hanno fatto registrare differenze. Studi sulla valutazione visiva dello sperma di gallo hanno evidenziato come l'esame dell'aspetto permetta in realtà una stima indiretta della concentrazione spermatica ($r = 0,76$) e l'aspetto "liquido" dell'eiaculato indichi generalmente una modesta o scarsa presenza di spermatozoi (McDaniel e Craig, 1959; 1962).

Conclusioni

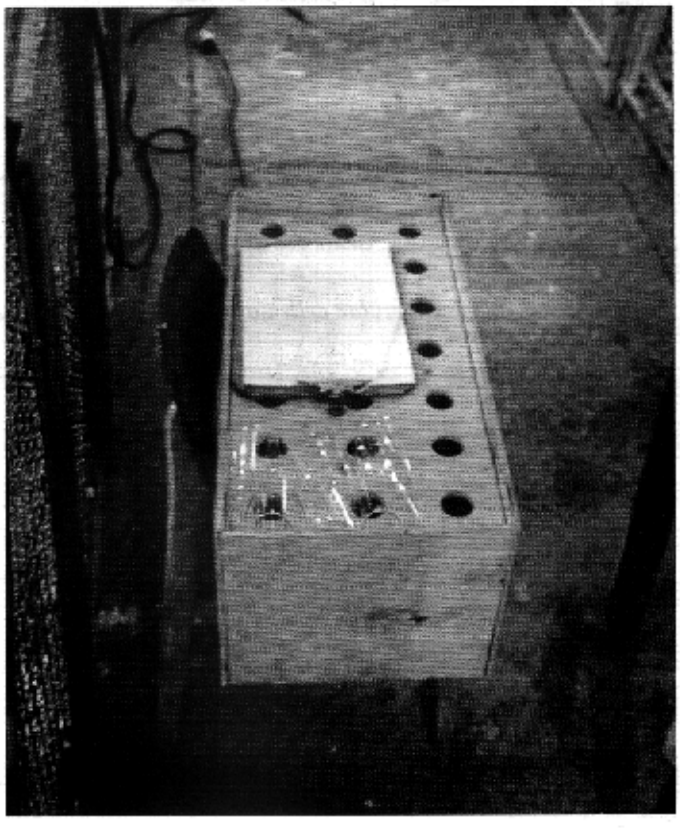
Nell'ambito dell'attività riproduttiva dell'anatra muschiata è stata individuata in due settimane la durata massima di sopravvivenza degli spermatozoi nell'ovidutto di questa specie.

L'inseminazione artificiale con la tecnica dell'estroflessione della cloaca ed il deposito del materiale spermatico poco profondamente nella vagina, ha evidenziato la necessità di ripetere gli interventi fecondanti ad intervalli molto brevi. Già dopo 5-7 giorni la fertilità si è infatti significativamente ridotta rispetto a quella ottenuta durante i primi 2-3 giorni successivi all'inseminazione.

Per quanto la profondità alla quale viene lasciato lo sperma nel tratto vaginale mostri risultati divergenti fra i diversi



A



B

A e B) Contenitore per vagine artificiali per anatre muschiate

Autori (Wentworth e coll., 1975; Holleman e Biellier, 1976; Brillard e de Reviers, 1979), è possibile rilevare che l'inseminazione più profonda, che permetterebbe di migliorare in breve tempo i tassi di fertilità senza richiedere una buona motilità spermatica, necessita di una attenta valutazione. Vanno tenuti in considerazione infatti i rischi immediati legati a possibili lesioni della parete della porzione vaginale profonda sede delle ghiandole di stoccaggio, e, nel caso in cui tale situazione non si verifichi per affinamento delle metodiche, i riflessi negativi che a lungo termine possono verificarsi sulla selezione dei riproduttori. La selezione naturale che si realizza a livello vaginale sugli spermatozoi che devono raggiungere, principalmente per motilità propria, le ghiandole di stoccaggio utero-vaginali (Wishart, 1994; Ashizawa e coll., 1994) è infatti un meccanismo selettivo la cui eliminazione, che avverrebbe con l'impiego di metodiche di inseminazione profonde, potrebbe avere effetti negativi nei programmi selettivi (biased predictions).

Nell'ambito della valutazione di campo dello sperma dei maschi di anatra muschiata le indicazioni che emergono dal giudizio macroscopico dell'aspetto, insieme alla temperatura, causa della velocità delle reazioni enzimatiche, e al pH, indice metabolico del materiale seminale, possono essere ritenute abbastanza attendibili nel valutare la qualità e la capacità fecondante.

RIASSUNTO

Sono state condotte due prove inerenti l'attività riproduttiva dell'anatra muschiata. Nella prima esperienza è stato stimato l'andamento della capacità fecondante dello sperma (fertilità) e valutata la sua durata nelle femmine di questa specie dopo un intervento fecondativo (attuato mediante estroflessione della cloaca e deposito dello sperma nella vagina a 2 cm di profondità); nella seconda è stato studiato l'andamento della capacità fecondante dello sperma con il progredire della stagione riproduttiva e la rispondenza che volume, pH, temperatura, concentrazione, motilità, colore e aspetto dello sperma hanno con la capacità fecondante stessa.

Nelle femmine l'andamento della fertilità all'aumentare del tempo trascorso dall'inseminazione è stato riassunto dall'equazione *fertilità* = $99,73/[1+exp^{-0,369(6,96\ giorni)}]$ ($R^2 = 0,96$), la capacità di mantenere in vita gli spermatozoi nell'ovidutto ha raggiunto un massimo di 15 giorni. L'equazione *fertilità* = $75,1 exp^{[-217*10^{-6}*(giorni-77,99)]}$ ($R^2 = 0,90$) ha descritto l'andamento della capacità fecondante dello sperma durante i 122 giorni di prova.

Correlazioni negative sono emerse nei confronti della capacità fecondante *vs* volume, pH e temperatura e positive vs concentrazione e motilità degli spermatozoi. Non sono emerse differenze significative fra la fertilità delle uova fecondate con le tre classi di colore dello sperma mentre sono emerse differenze fra la fertilità delle uova provenienti da femmine inseminate con sperma classificato "liquido" o "denso" ($P < 0,05$).

Parole chiave: anatra muschiata, sperma, fertilità.

SUMMARY

SEMEN FERTILIZING ABILITY IN MUSCOVY DUCK

Two trials were carried out to investigate some aspects of reproduction in Muscovy ducks. In the first trial we studied the trend and the duration of semen fertilizing ability in females after the last artificial insemination (two a. i., in consecutive days and a 3rd, 48h after the 2nd a. i.). In the second trial we studied the trend of semen fertilizing ability during 122 days of a reproductive season and the correlations between semen fertilizing ability and some qualitative parameters of semen (volume, pH, temperature, pcv, spermatozoa motility, colour and apperance). Scoring systems were used to evaluate the last three parameters.

The trend of egg-fertility in relationship to the time spent from the last a. i. was summarized by the equation: *egg-fertility* = $99.73/[1+exp^{-0.369(6.96\ days)}]$ ($R^2 = .96$). The duration of fertility resulted in a maximum of 15 days. The trend of semen fertilizing ability in relationship to the number of days of egg-laying was fitted by the equation: *fertility* = $75.1 exp^{[-217*10^{-6}*(days-77.99)]}$ ($R^2 = .90$).

Semen fertilizing ability was correlated negatively *vs* volume, pH, temperature, and positively *vs* pcv and motility. No difference of egg fertility was observed in relationship to the semen colour score but significant differences were observed in relationship to the semen appearance score.

Key words: muscovy duck, semen, egg fertility.

BIBLIOGRAFIA

Ashizawa K., Wishart G. J., Tsuzuki Y. (1994) - Sperm motility in the hen's reproductive tract. *Atti IX European Poultry Conference (Glasgow)*, vol 2: 173-176.

Behr K. P., Hartmann U. (1992) - Artificial insemination of geese under field conditions. *Atti IX International Symposium on Waterfowl (Pisa)*: 112-114.

Brillard J. P., McDaniel G. R. (1985) - The reliability and efficiency of various methods for estimating spermatozoa concentration. *Poultry Science*, **64**: 155-158.

Brillard J. P., de Reviers M. (1979) - Donnees nouvelles sur l'insémination artificielle des pintades. *L'Aviculteur*, n. 393: 63-69.

de Reviers M. (1982) - Differents aspects de l'elevage des reproducteurs males (coqs, pintades) utilises en insémination artificielle. In: *Fertilité et insémination artificielle en aviculture*. I. N. R. A. (Ed), Versailles, 25-60.

de Reviers M. (1988a) - Appareil génital mâle et production de spermatozoïdes. In: *Reproduction des volailles et production d'oeufs*. B. Sauveur (Ed), I. N. R. A. Paris, 141-181.

de Reviers M. (1988c) - Reproduction naturelle et insémination artificielle. In: *Reproduction des volailles et production d'oeufs*. B. Sauveur (Ed), I. N. R. A. Paris, 209-228.

Fedeli Avanzi C., Romboli I. (1979) - Fattori ambientali e parametri riproduttivi nell'anatra muschiata. *Riv. di Avicoltura*, **48**, 9: 41-46.

Fedeli Avanzi C., Mori B. (1983) - Influenza dei fattori climatici sulla fertilità e sulla schiusa dell'anatra muschiata. *Riv. di Avicoltura*, **52**, 2: 25-27.

Gvaryahu G., Robinzon B., Meltzer A., Snapir N. (1984a) - Semen characteristic of the muscovy drake *(Cairina moschata)* as affected by seasonal variation. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, **24**, 4: 343-350.

Gvaryahu G., Robinzon B., Meltzer A., Perek M., Snapir N. (1984b) - An improved method for obtaining semen from muscovy drakes and some of its quantitative and qualitative characteristics. *Poultry Science*, **63**: 548-553.

Holleman K. A., Biellier H. V. (1976) - Fertility and embryonic livability as influenced by depth of insemination of turkey hens. *Poultry Science*, **55**: 1154-1156.

Howarth B. (1971) - Transport of spermatozoa in the reproductive tract of turkey hens. *Poultry Science*, **50**: 84-89.

Huang H. H., Chow T. C. (1974) - Artificial insemination in mule duck production. *Atti XV World's Poultry Congress and Exposition (New Orleans)*: 261-262.

Jian W., Xiufu S., Yi W., Xianyou J., Jinfa W. (1988) - Artificial insemination of muscovy duck and its hybridization with ma and decoy duck. *Atti International Symposium on Waterfowl Production (Beijing)*: 256

Kirby J. D., Froman D. P. (1990) - Analysis of poultry fertility data. *Poultry Science*, **69**: 1764-1768.

Lake P. E. (1988) - Recent progress in poultry reproduction, especially the role of the male. *Atti XVIII World's Poultry Congress (Nagoya)*: 78-83.

McDaniel G. R., Craig J. V. (1959) - Behavior traits, semen measurements and fertility of white leghorn males. *Poultry Science*, **38**: 1005-1014.

McDaniel G. R., Craig J. V. (1962) - Predicting male fertilizing capacity in high and low fertility strains of chickens. *Poultry Science*, **41**: 866-869.

Nishiyama H., Nakashima N., Fujihara N. (1976) - Studies on the accessory reproductive organs in the drake. 1. Addition to semen of the fluid from the ejaculatory groove region. *Poultry Science*, **55**: 234-242.

Onishi N., Kato Y., Futamura K. (1955) - Studies on artificial insemination in ducks. *Bull. Nat. Inst. Agr. Sci.*, serie G, 11: 1-16. (Citato da Nishiyama e coll., 1976; Gvaryahu e coll., 1984b).

Paci G., Marzoni Fecia di Cossato M., Bagliacca M., Fedeli Avanzi C. (1991) - Metodi di valutazione della concentrazione spermatica nell'anatra muschiata. *Annali Fac. Med Vet.* XLIV: 347-354.

Peitjean M. J. (1965) - Recherches sur l'estimation du pouvoir fécondant des coqs. *Thèse d'ingénieur d'Etat, Agricolture, France* (Citato da Boussit, 1989. Reproduction et insemination artificielle en cunicolture. Ed. AFC, Lempdes, Francia).

Rouvier R., Tai J. J. L., Tai C. (1984) - L'insémination artificielle des canes communes pour la production de mulards à Taiwan. La situation actuelle. In *Insémination artificielle et amélioration génétique: bilan et prospectives critiques.* Les colloques de l'I. N. R. A., n°29, 360 367.

Rouvier R., Mialon M. M., Salzmann F., Poujardieu B. (1988) - Fertilité et éclosabilité des oeufs d'une souche de canes pékin *(Anas platyrhynchas)* en croisement interspécifique avec le barbarie *(Cairina moschata)* par insémination artificielle. *Ann. Zootech.*, **37**, 2: 73 86.

Sauveur B. (1982) - Notions de physiologie de la reproduction femelle en relation avec l'insémination artificielle. In: *Fertilité et insémination artificielle en aviculture.* I. N. R. A. (Ed), Versailles, 61-75.

Sauveur B., de Carville H. (1990) - *Le canard de Barbarie*. I. N. R. A., Paris.

Schramm G. P., Hübner R. (1989) - Konservierung von Geflügelsperma. *Arch. Tierz.*, **32**, 1: 51-61.

Schramm G. P., Seibert I. (1987) - Short-term and long-term storage of duck *(Cairina moschata)* semen. *Tierzucht*, **41**, 9: 418-419.

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

Wagner A., Pingel H. (1995) - Characteristics of semen of muscovy and pekin drakes. *Atti X European Symposium on Waterfowl (Halle)*: 286-289.

Wentworth B. C., Wineland M. J., Paton G. D. (1975) - Fertility of turkey hens correlated with depth of insemination. *Poultry Science*, **54**: 682-687.

Wilkinson L. (1990) - Systat: The system for statistics. SYSTAT, Inc, Evanston, IL, USA.

Wishart G. J. (1994) - Vaginal sperm transport and sperm selection. *Atti IX European Poultry Conference (Glasgow)*, vol 2: 161-168.

Wishart G. J., Palmer F. H. (1986) - Correlation of fertilising ability of semen from individual male fowls with sperm motility and ATP content. *British Poultry Science*, **27**: 97-102.