

# P R O G R A M

## 2002. november 8. (péntek)

13.00 A Szaporodásbiológiai Társaság elnökségének ülése

14.00 - 18.00 Regisztráció

15.00 **Aktualizált inszeminátorképzés**  
Moderátor: Prof. Dr. Solti László, dékán  
SZIE Állatorvostudományi Kar

Ki végezze a mesterséges termékenyítést a juhászatokban?  
*Dr. Gergátz Elemér, egyetemi docens, Biotechnikai Állomás,  
Mosonmagyaróvár*

További felkért előadók:

Dr. Flink Ferenc, osztályvezető, OMMI

Dr. Sass Imre, állategészségügyi igazgató, HAGE

Prof. Dr. Wekerle László, elnök, Szaporodásbiológiai Társaság

Dr. Balogh Attila, állatorvos, Nemzeti Lovarda

Dr. Pécsi Tamás, igazgató, OMT Rt., Debreceni Állomás

18.00 Szakembertalálkozó, vacsora

## 2002. november 9. (szombat)

08.00 Regisztráció

09.00 Közgyűlés  
(Elnöki beszámoló, pénzügyi beszámoló, Hetzel díj átadás)  
Megemlékezés dr. Bulla Gézáról  
*Prof. Dr. Wekerle László, elnök  
Szaporodásbiológiai Társaság*

**Szaporodásbiológiai Műhelyek bemutatkozása,  
legújabb tudományos eredményeik ismertetése**  
Levezető elnök: *Dr. Barna Judit, osztályvezető, KÁTKI*

09.30 Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet,  
Szaporodásbiológiai Osztály, Herceghalom  
Moderátor: *Dr. Rátky József, tudományos igazgató*

Alap és alkalmazott szaporodásbiológiai kutatások sertésben  
(mangalicában)  
*Dr. Rátky József*

Andrológiai vizsgálatok juhban és kecskében  
*Sarlós Péter*

X- és Y kromoszómát hordozó bikaondósejtek vizsgálata  
*Révay Tamás*

A szaporítás eredményességének fokozása háziállatokban  
*Dr. Gábor György és ifj. Dr. Szász Ferenc*

Ménspermiumok élő/elhalt és akroszóma festése  
*Kútvölgyi Gabriella, Nagy Szabolcs, Czimmer Gyula, Balogh Attila, Stefler József, Kovács András*

10.00

SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,  
Halgazdálkodási Tanszék, Szaporodásbiológiai Laboratórium, Gödöllő  
Moderátor: *Prof. Dr. Péczely Péter, egyetemi tanár*

A SZIE MKK HALT Szaporodásbiológiai Laboratórium kurrens kutató munkája  
*Péczely Péter*

A gyöngytyúk (*Numida meleagris*) vérplazma és a faeces szexuálszteroid paramétereinek vizsgálata  
*Biczó András, Szőke Zsuzsanna, Péczely Péter*

A maternális stressz hatása a tőkés réce (*Anas platyrhynchos*) néhány szaporodásbiológiai paraméterére  
*Szőke Zsuzsanna, Ferenczy Szilamér, Ádám Dóra, Biczó András, Péczely Péter*

A seregély (*Sturnus vulgaris*) mellékvese szövettani jellemzői a szaporodási valamint az őszi reaktivációs időszakban  
*Pintér Ottó és Péczely Péter*

10.30

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Állatbiológiai Intézet,  
Embriológiai Laboratórium, Gödöllő  
Moderátor: *Dr. Gócza Elen, csoportvezető*

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Állatbiológiai Intézet,  
Embriológiai Laboratórium, Gödöllő  
*Dr. Gócza Elen, Bodó Szilárd, Baranyai Bence, Szabari Miklós*

Bikasperma genetikai, morfológiai, és funkcionális minősítésének komplex lehetősége  
*Bodó Szilárd*

Sperma-festési és zona kötődési eljárások alkalmazása bikasperma minősítésére  
*Szabari Miklós*

A házinyúl ondótermelésének mennyiségi és minőségi javítása a spermiumok számának, motilitási és tárolhatósági mutatóinak értékelésén alapuló szelekcióval

*Baranyai Bence*

11.00 – 11.30

Kávészünet

11.30

SZIE Állatorvos-tudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika, Budapest

Moderátor: *Prof. Dr. Huszenicza Gyula, egyetemi tanár*

A tanszéken működő munkacsoportok, ill. ott dolgozó PhD hallgatók bemutatása

*Huszenicza Gyula*

A tanszék új biotechnológiai és andrológiai laboratóriumának bemutatása

*Cseh Sándor*

Ochratoxin A etetés hatása egyes spermatológiai paraméterekre sertés kanokban

*Bíró Krisztina*

Kibújt blasztociszta stádiumú egér embriók gyors fagyasztással szembeni érzékenységének vizsgálata

*Pribenszky Csaba*

A bélsár progeszteron metabolit tartalmának meghatározása:

egy új lehetőség a petefészek-működés nyomon követésére emlős fajokban

*Prohász Angella, Kulcsár Margit, Magi Zsuzsa, Becskey Csilla,*

*Huszenicza Gyula*

12.15

Nyugat-Magyarországi Egyetem, Állattenyésztési Intézet,

Állatgenetika Tanszék, Mosonmagyaróvár és

Biotechnikai Állomás, Pharmagene-Farm Kft., Mosonmagyaróvár

Moderátorok: *Dr. Bali-Papp Ágnes, egyetemi docens*

*Dr. Gergátz Elemér, egyetemi docens*

Ivarzás indukálás és vemhesítés *lacaune* jerkéknél aszezonban

*Szabados Tamás, Gergátz Elemér, Gyökér Erzsébet, Czimmer Gyula*

Különböző kanok termékenyítő anyagának vizsgálata rövid idejű tárolás során

*Makkosné Petz Brigitta, Baráth Zsuzsa, Bali Papp Ágnes, Iváncsics János*

12.55

Kaposvári Egyetem, Élettani Tanszék, Kaposvár

Moderátor: *Dr. Kovács Melinda, egyetemi tanár*

A mesterséges termékenyítés jelentősége és módszere a lúdfajban

*Almási Anita és Dr. Bogenfürst Ferenc*

- 13.25                   Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet,  
Baromfi Szaporodásbiológiai Osztály, Gödöllő  
Moderátor: *Dr. Barna Judit, osztályvezető*
- Fodrostollú magyar gunarak spermatológiai vizsgálata és ivari  
jellegzetességei  
*Varga Ákos, Barna Judit, Almási A.*
- Új kutatási eredmények a húsnyúl szaporodásbiológiája és  
szaporítástechnikája területén  
*Eiben Csilla és Virág Györgyi*
- 13.40                   Hozzászólások, zárszó
- 14.00                   Ebéd

# Ö S S Z E F O G L A L Ó K

## KI VÉGEZZE A MESTERSÉGES TERMÉKENYÍTÉST A JUHÁSZATOKBAN?

Dr. Gergátz Elemér szaporodásbiológus szakállatorvos

*NYME Állatélettani, Állategészségtani és Biotechnológiai Tanszék, Mosonmagyaróvár*

A gazdasági verseny erősödésével a juhok mesterséges termékenyítése a fejlett állattenyésztési kultúrával és megfelelő állományokkal rendelkező országokban ismét napirendre került. Az inszemináláshoz használt termékenyítő anyag: a tenyésztő telepen gyűjtött hígítatlan kossperma; helyben vett hígított sperma napi felhasználással; helyben vett konzervált sperma 1-2 napi felhasználással; mesterséges termékenyítő állomáson gyűjtött, konzervált sperma 1-4 napi felhasználással; központilag előállított mélyhűtött sperma rendszerint szinkronizált inszeminálásokhoz. E fórumon nem kell hangsúlyoznom, hogy a mesterséges termékenyítés tenyésztési előnyei az előbbi sorrendet követve ugrásszerűen emelkednek. Az eredményességet és így a gazdaságosságot illetően azonban bizonyos kompromisszumos megoldást kell javasolnom a helyi adottságok, a piac feszítő ereje, valamint a gyakorlatra érett vagy kevésbé kész spermakonzerválási és termékenyítési technológiák figyelembe vételével.

Nyugat-európai (főképp francia), valamint korábbi és jelenlegi hazai tapasztalatainkat is figyelembe véve, válaszolnunk kell a címben feltett kérdésre is. Kövessük a francia szervezést, s a régi ún. körjáratos szarvasmarha- és sertés inszeminátorok munkájának analógiájára a mesterséges termékenyítő állomásokról induló inszeminátorok termékenyítsenek, vagy bízzuk az inszeminálást a gazdákra? Az a határozott véleményem – és javaslatom -, hogy nálunk jelenleg az utóbbi a biztonságosabb, gazdaságosabb és célravezetőbb megoldás. Ez nem jelenti azt, hogy speciális körülmények közt nem tudok elképzelni néhány főállású, „hivatásos” juh-inszeminátort. Itt is a jó kompromisszumot kell megtalálnunk.

Tapasztalataink alapján a termékenyítési munka iránt affinis gazdák a spermavétel, bírálat, konzerválás és főképp a termékenyítési technológia alapfogásaira, - amelyekkel a munka elindítható – intenzív 5 napos kurzus alatt megtaníthatók. A képzéshez megfelelő szervezeti keretet, a gazdák anyagi hozzájárulása mellett központi pénzügyi támogatást és a gyakorlatra érett technológiát ismerő oktatókat kell biztosítanunk. Egyetemünk Továbbképzési Intézetének hitelesítésével lehetőségünk van arra, hogy évente 3-4 csoportot a Biotechnikai Állomáson juhos inszeminátornak kiképezzünk.

Úgy látom, nincs értelme annak, hogy a spermaellátást a telepeken helyben vett kosspermára alapozzuk. A jelenleg már akkreditált két juhos mesterséges állomás mellett kb. még kettőt fel kellene állítani, s ezzel biztosítani tudnánk az ország egész területére egyelőre a 3-4 napig használható 2-4 °C-ra hűtött, hígított kosspermát. Az inszemináló gazdák és főállású inszeminátorok szakmai irányítását, továbbkésztését a mesterséges állomások szakemberei végezzék!

A tenyésztőknek rá kell jönniük arra, hogy ez a biotechnikai eljárás elsősorban a tenyésztés és a gazdák érdekeit szolgálja.

## AZ X- ÉS Y-KROMOSZÓMÁT HORDOZÓ BIKAONDÓSEJTEK FEJFELÜLETE AZONOS MÉRETŰ!

Révay Tamás<sup>1</sup>, Nagy Szabolcs<sup>2</sup>, Edvi M. Erika<sup>3</sup>, Hidas András<sup>3</sup>, Willem Rens<sup>4</sup>, Ingemar Gustavsson<sup>5</sup> és Kovács András<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Budapesti Műszaki és Közgazdaságtudományi Egyetem, Biokémiai és lelmiszertechnológiai Tanszék, 1111 Budapest, Műegyetem rkp. 3.*

<sup>2</sup> *Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Sejtbiológiai Osztály, 2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.*

<sup>3</sup> *Kisállattenyésztési Kutatóintézet, Genetikai Osztály, 2100 Gödöllő Pf. 417.*

<sup>4</sup> *University of Cambridge, Department of Clinical Veterinary Medicine, Madingley Road, Cambridge CB3 0ES, United Kingdom*

<sup>5</sup> *Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Breeding and Genetics, S 740 007, P.O.B. 7023, Uppsala, Sweden*

Több korábbi közleményben beszámoltak a feltételezeten X- és Y-kromoszómát hordozó ondósejtek fejméreteinek eltéréseiről, de az ivari kromoszómák azonosítása és a fejméret felvétele még nem történt meg ugyanazokon a sejteken. Célkitűzésünk az volt, hogy az egyoldali fejfelület mérését, a membrán- és akroszóma-integritást, a morfológiai értékelést és az ivar megállapítását ugyanazokon a sejteken párhuzamosan végezzük.

Öt holstein-fríz bika nyers ejakulátumából végeztünk élő/elhalt és akroszóma festést (Kovács és Foote, *Biotech. Histochem.* 67:119-124, 1992). Több, mint 3000 ondósejt fejének képét rögzítettük 100x immerziós nagyítással magas feloldású digitális kamerával. A sejteket fejük formája, élő/elhalt státuszuk és akroszómájuk állapota szerint osztályoztuk. A fejméret felvétele a Scion Image Beta 4.0.2. image analysis software-rel (Scion Corporation, Frederick, MD, USA) történt. A sejtek szexálását fluorescens in situ hibridizációval (FISH) jak XY paint set-tel és DAPI kontrasztfestéssel Svédországban végeztük. A FISH értékelésekor az itthon rögzített képű sejteket pathfinder lemez és kis nagyítású kivitt képek segítségével azonosítottuk, a sejtek ivarát az eltérő színű fluoreszcens jelekhez hasonló filctollakkal a képeken jelöltük. Az egész kísérlet kettős vakpróbával történt; Magyarországon dolgozó kollégánk a sejtek méretének felvételekor nem tudta azok ivarát, a Svédországban szexálók meg nem tudták azok méreteit. A statisztikai értékelés a Statistica 5.5 software-rel (Statsoft Inc., Tulsa, OK, USA) történt.

A normális morfológiájú élő ép akroszómájú sejtek egyoldali átlagos fejfelülete mind az öt bika esetében szignifikánsan kisebb volt, a zömmel fellazult akroszómájú elhalt sejtekénél. Egyik bikánál sem találtunk szignifikáns eltérést az élő, ép akroszómájú X-, illetve Y-kromoszómát hordozó ondósejtek fejfelülete között, viszont az egyes bikák sejtjei között minden kategóriában szignifikáns eltérések mutatkoztak.

Feltételezhető, hogy a mások által közölt fejméret-különbségek valójában az eltérő membrán- és akroszóma-állapotú sejtekre vonatkoznak, míg az X- és Y-kromoszómát hordozó élő, ép akroszómájú bikaondósejtek fejfelületének mérete nem mutat eltérést.

## MÉNSPERMIUMOK ÉLŐ/ELHALT ÉS AKROSZÓMA FESTÉSE

1,2Kútvolgyi Gabriella, 2Nagy Szabolcs, 3Czímber Gyula, 4Balogh Attila, 1Stefler József, 2Kovács András

*1Kaposvári Egyetem Állattudományi Kar, 7400 Kaposvár, Guba Sándor u 40.*

*2Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, 2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.*

*3Bio-Czinov Kft., Mosonmagyaróvár*

*4Nemzeti Lovarda, 1087 Budapest, Kerepesi út 7.*

Az élő/elhalt és akroszóma festés -első alkalmazása (Kovács és Foote, 1992) óta- a bikasperma kombinált festésén kívül számos állatfajon kipróbálásra került, a ménsperma festésének bemutatása 2000.-ben történt (Kovács és mtsai, 2000). A festés minden eddig próbált háziemlősön (szarvasmarha, sertés, nyúl, juh, kecske, kutya, ló, jak, gímszarvas, dámszarvas, bivaly, egér) eredményesen alkalmazható volt.

A festési módszer egy kombinált eljárás, amely lehetővé teszi, hogy az ondósejtek élő/elhalt státuszán kívül az akroszóma épségét és a spermiumok morfológiáját is elbíráljuk. Az eljárás előnye, hogy nem igényel speciális felszereltséget, a kenetek egyszerű fénymikroszkóppal 40x, vagy 100x immerziós objektívvel vizsgálhatók. Hátránya viszont, hogy az utolsó festési mozzanat (Giemsa festés) hosszadalmas, több órás eljárás, amit szeretnénk a módszer egyes fázisainak és anyagainak kisebb változtatásával lerövidíteni, hogy a festés a rutin spermabírálat során is használhatóvá váljon.

A standard festési eljárás során élő/elhalt festésre 0,25- 0,27% tripánkék oldatot (Fluka, Sigma), fixálóként 0,2% neutrálvöröst (Sigma) és 5% formalint tartalmazó 1N HCL oldatot, az akroszóma festésére 7,5% Giemsa törzsoldatot (Sigma) használunk. A különböző sejttípusok eltérően festődnek, így könnyen megkülönböztethetők. A neutrálvörös fekete/ibolyaszínű csapadékot alkot a tripánkéekkel, így az elhalt sejtek feje ill. farki része sötétre festődik, az élő sejtek fejének hátulso része festetlen marad, ill. lónál sok esetben halványkék árnyalatú. A fej elülső részét borító akroszóma piros/rózsaszínű lesz, ha ép, a sérültek sötét levendulaszínűre festődnek, a levált akroszómájú sejtek szürkésfehér színűek maradnak. Az eljárás külön előnye, hogy a sejtek farki részének membránintegritása is értékelhető. Az ondósejtek farka rózsaszínre festődik és általában hullámos lefutású, ha intakt; sötétkék/fe fekete és egyenes, ha elhalt. Azok az ondósejtek, amelyek farki membránja sérült, nem képesek mozgásra, így termékenyítésre sem. Ménspermánál az ondóplazma festődése időnként erős háttérrel eredményez, ugyanez érvényes a fagyasztó spermahígítóban lévő tojássárgájára is. Ezért a friss és mélyhűtött spermát minimálisan 5-10x-re hígítani kell.

A friss és fagyasztott/felolvasztott ménspermában lévő ondósejtek egyaránt érzékenyek a környezeti hatásokra (hígító hőmérséklete, pH-ja, ozmolalítása). Főleg a hirtelen, nagyfokú környezeti változások (hidegsokk, hyper/hypo-ozmózis stb.) okozhatnak tömeges sejtpusztulást, a valósnál rosszabb spermaminősítést eredményezve. Ezért a spermát festés előtt hasonló hőmérsékletű, foszfát puffert tartalmazó fiziológias oldatban hígítjuk, így stabilizáljuk a pH-t, ezzel állandóbb környezetet alakítunk ki az ondósejtek számára. Formalint tartalmazó pufferoldatok (pl. Hancock-oldat) hígítóként történő alkalmazása is kipróbálás alatt áll. Előnye, hogy fixálja a sejtmembránt, tehát a sejteket a festődés szempontjából eredeti állapotukban (élő/elhalt) tartja, így a további környezeti hatások kiiktathatók. Eddigi kísérleteinkben hátrányként tapasztaltuk, hogy a fixáló csökkentette az elhalt sejtek tripánkék festődését és fokozta a háttérrel.

Ménspermiumoknál esetenként nemcsak az akroszóma, de kisebb mértékben a posztakroszómális régió is festődik Giemsa-val, ami az egész sejtnak sötétebb árnyalatot kölcsönöz és zavarhatja az értékelést. Egészen friss felismerésünk szerint ez leginkább a későbbi időpontban fixált keneteken fordult elő. Ezért ménsperma esetében javasolt a tripánkékkal történt festés után minél hamarabb lefixálni a kenetet.

Szintén utóbbi megfigyelés, hogy a Giemsa-festést elengedhetetlen minimálisan szobahőn végezni, mivel alacsony hőmérsékleten (20°C alatt) az akroszóma nem festődött, valószínűleg a kémiai reakciónak alsó hőmérsékletküszöbe van.

Gyors, rövid időn belül értékelhető eredményt szolgáltató festési eljárás kialakításán dolgozunk a standard festési módszertől kiindulva. Ez nagyban megkönnyítené a rutin spermabírálatot. A ménspermium akroszómája meglehetősen gyorsan festődik Giemzával, ami lehetővé teszi, hogy 2 óra alatt értékelhető mintát kapjunk. Eddigi vizsgálataink alapján úgy látjuk, hogy töményebb tripánkék oldat és hosszabb fixálási idő szükséges a biztonságos elbíráláshoz. Az akroszóma-festést gyorsítani lehet, ha a Giemsa-munkaoldat elkészítéséhez desztillált víz helyett 1 % acetont használunk, illetve, ha 40°C-on festünk. Az optimális paraméterek meghatározása folyamatban van.

Az eddig vizsgált 15 mén ejakulátumainak élő/elhalt+akroszóma festése és morfológiai bírálata során azt tapasztaltuk, hogy nagy arányban fordulnak elő Retzius-féle plazmacseppet hordozó sejtek mind az élő, mind az elhalt spermiumok között (más vizsgált állatfajok ejakulátumaiban ez nem jellemző). Az ilyen ondósejtek egyaránt megfigyelhetők a gyakran ugratott (túlugratott) és a ritkábban használt mének spermájánál is. Gyakrabban disztális (a plazmacseppes sejtek 50-80 %-a), ritkábban proximális plazmacseppet találunk. A disztális plazmacseppel rendelkező sejtek egy részének farokrésze visszahajlik és ún. violinkulcsot alkot. Motilitásvizsgálat során ezek a sejtek retrográd irányban úsznak. A plazmacseppes sejtek fiatal, még az érési folyamatban lévő sejtek. A tapasztalat szerint a disztális plazmacseppet könnyen elhagyják (ezzel lezárul az érési folyamat), a proximális plazmacseppel rendelkezők viszont általában nem vesznek részt a termékenyítésben. Ezért fontos ezeknek a sejteknek a felismerése a friss és mélyhűtött sperma értékelésénél egyaránt, mivel nagyarányú előfordulása csökkentheti a sperma fertilitását. A vizsgált mének között egy egyednél Dag-defektushoz hasonló morfológiai rendellenességet észleltünk. Egy másik mén spermamintáinak vizsgálatakor gyakran találtunk kettős-fejű sejteket.

A standard és a "gyors" festés egyaránt alkalmazható a spermaminőséget meghatározó paraméterek vizsgálatára, így meghatározhatjuk a sűrűséget, az élő/ elhalt sejtek arányát, a sejtek akroszómájának állapotát, a morfológiailag hibás sejteket. Ez lehetővé teszi a folyékony tárolás, a mélyhűtés, felolvasztás és hőtűrő próba során bekövetkező károsodások részletes elemzését is.



## **A SZIE MKK HALT SZAPORODÁSBIOLÓGIAI LABORATÓRIUM KURRENS KUTATÓ MUNKÁJA**

Péczely Péter

*Szent István Egyetem, Szaporodásbiológiai Laboratórium  
2100 Gödöllő Páter K. u.1.*

A Laboratóriumban madár szaporodásbiológiai vizsgálatok folynak, melyek során hormon analitikai, fénymikroszkópos szövettani és immuncitokémiai módszereket alkalmazunk. A hormon analitikai:RIA vizsgálatokhoz vér és faeces mintákat gyűjtünk, s ez utóbbi eljárás lehetővé teszi a non invazív kísérleti rendszerek alkalmazását is. A közel múltban fejeztük be a faecalis és tojás szikból történő szteroid-hormon meghatározás módszereinek beállítását és ezek sokrétű összehasonlító elemzését.

A következő témakörökben végzünk kutatásokat:

1./ A maternális stressz hatása az utódok stressz érzékenységre és szaporodásbiológiai jellemzőire. Tőkésréce és gyöngytyúk esetében tanulmányozzuk a tojásrakó nőstényeket ért handling és éter-inhalációs stressz hatását a tojástermelésre, keltethetőségre, az utódok fejlődésére, valamint a tojók és az F1 nemzedék kortikoszteroid és szexuál szteroid szintjeire és az utódok stressz érzékenységének alakulására. A két faj összehasonlítása egy kolerikusabb és szangvinikusabb típus összevetését is lehetővé teszi. Ezeket a vizsgálatokat a tojás szikben levő szteroid hormonok meghatározásával és a fejlődő embriók PCR alapú ivar meghatározásával kombinálva végezzük el. Lehetőség adódik életkori és szezonális változások elemzésére is.

2./ Házi-, és vad madarakon tanulmányozzuk a dehydroepiandrosteron, egy feltehetően zömmel mellékvese kéreg eredetű szteroid hormon szerepét, kapcsolatban a szezonális ciklusokkal (ivarérés, szaporodási folyamatok, vedlés, fotorefrakteritás), napszakos jelenségekkel és a madár jellemző viselkedés formáinak alakulásával. A kutatások zöme tőkésrécén, ludon, házityúkon, gyöngyösön történik, de túzok, seregély és vizirigó minták is vizsgálatra kerülnek. A meghatározások plazma és faecalis mintákból történnek.

3./ Az őszi szexuális reaktiváció vizsgálata főként seregélyen történik, évszakosan gyűjtött egyedek szövettani és hormon analitikai tanulmányozásával. ennek során a mellékvese és a gonádok kvantitatív szövettani elemzését, valamint a plazma minták kortiko-, és szexuál szteroid tartalmát határozzuk meg. A vizsgálatok kiterjednek a jellemző viselkedés minták és az ének motívumainak szonogrammos elemzésére is, összevetve a tavaszi reprodukciós időszak történéseivel.

4./ Folytatjuk a gonadotrop releasing hormon-t (GnRH) termelő neuroszekréciós sejtek afferenciájának tanulmányozását tőkésrécén immuncitokémiai módszerekkel. Ennek során vizsgáljuk a korai gének (FRA-2) szerepét, tanulmányozzuk a glutamát, neuropeptid-Y, aromataz, biogén amin neuronok kapcsolatait a GnRH sejtekkel. Cholera toxin-B intraocularis injektálásával lehetőség adódik a retino-hypothalamicus pálya és a GnRH rendszer kapcsolatának tanulmányozására is.

## **A GYÖNGYTYÚK (NUMIDA MELEAGRIS) VÉRPLAZMA ÉS A FAECES SZEXUÁLSZTEROID PARAMÉTEREINEK VIZSGÁLATA**

Biczó András, Szőke Zsuzsanna, Péczely Péter  
*Szent István Egyetem, Szaporodásbiológiai Laboratórium*  
*2100 Gödöllő, Páter K. u.1.*

Laboratóriumunkban már több madár és emlősfaj esetében rutinszerűen alkalmazzuk a faecesből történő szteroidhormon meghatározást. Ez a módszer non-invazív jellegéből következően gyakoribb mintagyűjtésre, és nagyobb mintaszámmal való munkára ad lehetőséget, mint a vérvétel, valamint stresszvizsgálatoknál történő alkalmazásával csökkenthető a mintavétellel járó torzítás. Jelen munkánkban alapadatfelvételre törekedtünk, mivel gyöngytyúk esetében még nem vizsgálták a faeces szteroidhormon tartalmát, valamint a vérplazma hormontartalmával való összefüggéseit, korrelációit. A vérplazma illetve a faeces tesztoszteron (T), dehidroepiandroszteron (DHEA), 17 $\beta$ -ösztradiol (E2) szintjét határoztuk meg mindkét ivar esetében.

10-10 egyedileg elhelyezett gyöngyös tojó illetve kakas mintáit gyűjtöttük a tojástermelés beindulása előtt (január 23), illetve ~80%-os tojástermelés idején (február 24). Az állatoknál intenzív tojóházi fényprogramot alkalmaztak. Mindkét ciklusban vért vettünk 10.00, illetve 16.00 órakor, valamint faecesmintát gyűjtöttünk 10.00, 16.00, 22.00, 04.00 órakor. A mintagyűjtést a gödöllői Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben végeztük.

A faeces mintákat SDS emulgeálást követően, a plazma mintákat közvetlenül extraháltuk dietil-éterrel. A visszanyerését <sup>3</sup>H-tesztoszteron hozzáadásával mértük. A faeces és plazma extraktumok szteroid tartalmát RIA módszerrel, egy assayben határoztuk meg.

Az eredmények összehasonlítása lehetőséget adott a plazma/faeces szexuáliszteroid változásainak értelmezésére.

Mind a két ivar vér és faeces mintáiban a T mennyisége volt a legmagasabb. Kakasok esetében a második legnagyobb értéket a DHEA adta minden esetben. Tyúkok esetében a tojóidőszak előtt a faecesben a DHEA és az E2 közel azonos szintet mutatott, míg ezen időszak plazmamintáiban a DHEA szintje meghaladta az E2 mennyiségét. Az intenzív tojástermelés időszakában azonban az E2 mennyisége mind a faecesben mind a plazmában magasabb volt. Tojóknál az E2, kakasoknál pedig az androgének a februári időszakban mutattak nagyobb értékeket a vérplazmában, azonban a faeces esetében ezt nem tudtuk megfigyelni. A faeces szexuáliszteroid tartalma mind tojók, mind a kakasok esetében jellegzetes napszakos ritmus szerint alakult, de a január végi és a február végi időszakok között ebben a ritmusban egy fáziseltolódás figyelhető meg. A vérplazma és a faeces szexuáliszteroid tartalma között, a mért adatok alapján egy 6-12 órás eltolódásra következtethetünk, azonban ennek pontos megállapításához még további, nagyobb mintaszámot feldolgozó, párhuzamos vérplazma-faeces vizsgálatokra van szükség.

## A MATERNÁLIS STRESSZ HATÁSA A TÖKÉS RÉCE (ANAS PLATYRYNCHOS) NÉHÁNY SZAPORODÁSBIOLOGIAI PARAMÉTERÉRE

Szőke Zsuzsanna\*, Ferenczi Szilamér\*\*, Ádám Dóra\*, Biczó András\*, Péczely Péter\*

\**Szent István Egyetem, Szaporodásbiológiai Laboratórium,  
2100 Gödöllő, Páter K. u.1.*

\*\**Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Molekuláris Genetika Intézet  
2100 Gödöllő, Szent-Györgyi u. 4.*

Az emlősök és humán vonatkozásban is jól ismert jelenség, amikor az anyát ért stresszhatások az intrauterin fejlődés élettani sajátosságai miatt áttevődnek a fejlődő magzatra, és annak fejlődését több szinten is károsítják. Madarakon a hasonló jellegű, epigenetikus módon ható effektusok kevésbé tanulmányozottak, bár klasszikus ismeretnek számítanak azok a megfigyelések, hogy a kedvezőtlen éghajlati és táplálkozási viszonyok nem csak a fészekalj tojászámát, hanem a fiókák mortalitását is jelentősen befolyásolják, amennyiben az elsőnek kikelt utód túlélése tűnik a legkedvezőbbnek.

Amióta ismeretes az, hogy a tojás szikanyagában jelentős mennyiségű szteroid hormon található, és hogy ezek a szteroidok valamiféle „rendező elv” alapján deponálódnak a szikbe, indokoltnak látszik az epigenetikus hatások vizsgálata madarakban is.

Kísérleteinkben arra kerestük a választ, hogy a maternális stresszhatások, hogyan befolyásolják a tojástermelési paramétereket, a kelési százalékot, az utódok életképességét, testtömeggyarapodását, juvenilis vedlését, ivar megoszlását, valamint a szikbe deponált szteroidok koncentrációját. Az embrionális szteroidtermelés nyomon követése folyamatos, naponként történő biopsziával, arra a megállapításra vezetett, hogy a 4-5. napig nincs jelentős szteroid koncentrációváltozás a szikben. Sikeresen beállítottuk a PCR-alapú szexálást, mely során a 84-85 óras (3,5 nap) embrió ivara is már rutinszerűen megállapítható.

Vizsgálatainkban kétféle kezelést alkalmaztunk. Az elsőben a stresszor a handling stressz volt, melyet rövid időintervallumon belül, kézbevéttel, az állatok többszörös áthelyezésével valósítottunk meg. A másodikban éter-inhalációt alkalmaztunk, ugyanis ismeretes a korábbi vizsgálatainkból, hogy ekkor az eminentia mediana CRF tartalma már 2-15 perc múlva csökken, illetve a plazma ACTH szintje 5 perc múlva és a kortikoszteron koncentrációja pedig 10-15 perc múlva szignifikánsan emelkedik.

Eredményeink azt mutatják, hogy a handling-stressz kezelést követően a kezelt csoportban tojástermelés rövid idejű visszaesését követően emelkedik a tojástömeg a kontroll csoporthoz képest, valamint az ezekből a megnövekedett tojásokból csökken a kikelt utódok száma. Kétháromszorosára emelkedik az embrióelhalás különösen a korai elhalás (a keltetés 7-10. napja), a második elhalási csúcsot pedig a 21. nap körül kapjuk, de itt már kisebb a különbség a kontrollhoz képest, míg a befulladás mértéke a mindkét csoportban azonosan alakult. A kikelt, életképes kiskacsák testtömegüket tekintve azonosak voltak, de az egy hetes korukban a kezelt csoport utódai szignifikánsan alulmaradtak a kontrollhoz képest. Ez a hátrányuk megmarad a juvenilis vedlés kezdetéig, ugyanis a kezelt csoport utódai gyorsabban és többnyire egyszerre fejezik be a vedlésüket és így a 12. élethéten már utoléri, sőt a gácsérok tekintetében el is hagyják a kontroll csoportba tartozó társaikat. A handling stresszt követően a kontroll csoportban (n=163) 45% gácsér : 55 % tojó volt az ivar megoszlás, míg a kezelt csoportban ez az arány a következőképpen alakult 61% gácsér : 39% tojó (n=122).

Az éter-inhalációt követően is megfigyelhető volt egy kismértékű tojásprodukciónak csökkenés, valamint egy rövidebb idejű tojástömeg emelkedés. A kelési százalék itt is alacsonyabb, de itt a naposkori testtömeg is elmaradt a kontrollhoz képest. További különbség, hogy már 4. élethéten nem volt a testtömegben szignifikáns különbség.

Eredményeink alapján támaszkodva a 3,5 napig inkubált embriók PCR-alapú szexálására értelmezni tudjuk a szikbe deponált szteroid hormonok szerepét az epigenetikus információ átadásban.

## **A SEREGÉLY (*STURNUS VULGARIS*) MELLÉKVESE SZÖVETTANI JELLEMZŐI A SZAPORODÁSI VALAMINT AZ ŐSZI REAKTIVÁCIÓS IDŐSZAKBAN**

Pintér Ottó és Péczely Péter

*Szent István Egyetem, HALT-Szaporodásbiológiai Laboratórium*

*2103 Gödöllő, Páter Károly u. 1.*

*e-mail:fringila@freemail.hu*

A mérsékelt és hideg övi madarak szaporodására jellemző a határozott szezonális; a tavaszi szaporodási periódust a nyári fotorefrakteritás, majd ezt a nyár végi, őszi eleji bizonyos mértékű ivari reaktiváció követi. Az őszi reaktiváció a gazdasági madarak, pl. lúd esetében lehetőséget ad egy újabb indukált és/vagy spontán termelési ciklus kialakítására. Megfelelő modellállat kiválasztása segítséget adhat az ún. szezonon kívüli termelési ciklusok jobb megértéséhez. A seregély, mint tipikus őszi reaktivációt mutató madár mellékveséjének szövettani változásának vizsgálata - a reprodukciós időszakban és a nyár végi periódusban – ideálisnak tűnt e szerv jobb megismeréséhez. Hím seregélyek mellékveséjét és heréjét Bouin fixálás és Péterfi-féle kettős beágyazás után szánka mikrotómmal metszettük és a metszeteket haematoxylin-eozin eljárással festettük meg. A preparátumokat SPOT-Advanced programmal kvantitatíve értékeltük. A mellékvesék szöveti szerkezetében vizsgáltuk az interrenalis és adrenalis állomány arányát, annak megállapítására, hogy a hímek szexuális aktivitásának elején (március), közepén (április) és a végén (május), valamint az augusztus-szeptemberi reaktivációs időszakban hogyan alakul a szteroid hormonokat termelő interrenalis állomány mennyisége a mellékvese egészéhez viszonyítva. Továbbá tanulmányoztuk az említett állomány esetleges zonációját, mérve a sejtmagok méretét zónánként a fenti időszakokban. Az interrenalis/adrenalis hányados fokozatos növekedést mutat márciustól augusztus-szeptemberig, majd elérve októbert, egy hatalmas esést figyelhetünk meg. Az interrenalis állomány dominanciája csökkent a szaporodási időszak elején, viszont ennek értéke megnőtt az őszi reaktiváció idején, amikor a here már atretizált. Az interrenalis állomány zonációját a szexuális aktivitás elején és augusztus-szeptemberben kifejezett. Ekkor a három zónában a külső zóna sejtmagjai mutattak legnagyobb értéket, ezen belül az októberi csoport (vonulók) külső zóna sejtmagjai voltak a legnagyobbak. Kvantitatív szövettani eredményeink azt mutatják, hogy a szexuális aktivitás elején, valamint az őszi reaktiváció idején a mellékvese perifériás zónája intenzíven működik. Eredményeink a mellékvese kompenzációs képességére utalva, valószínűsítik az adrenalis szteroidok szerepét a seregély őszi szexuális reaktivációjának létrehozásában.

## MEZŐGAZDASÁGI BIOTECHNOLÓGIAI KUTATÓKÖZPONT, ÁLLATBIOLÓGIAI INTÉZET, EMBRIOLÓGIAI LABORATÓRIUM, GÖDÖLLŐ

*Dr. Gócza Elen, Bodó Szilárd, Baranyai Bence, Szabari Miklós*

Az MBK, Állatbiológiai Intézetének célja a mezőgazdaság számára hasznos állati gének térképezése, izolálása, *in vivo*, illetve *in vitro* jellemzése. Az intézetben a Géntechnológiai és az Embriológiai Laboratórium közösen dolgozik a génfunkciók *in vivo* tanulmányozására alkalmas módszerek adaptálásán. Az intézet kutatási stratégiájának részét képezik az alapkutatás eredményeinek a gyakorlatba történő átültetését célzó kutatások is.

Az Embriológiai Laboratóriumban két munkacsoport, az Embriológiai és az Alkalmazott Szaporodásbiológiai munkacsoport dolgozik együtt. Munkánkat dr. Kovács András tudományos tanácsadóval együttműködésben végezzük.

*Az Embriológiai Munkacsoport* több éve vizsgálja az egér és nyúl embriókból származó pluripotens sejttenyészetek (ES sejtvonalak) fejlődési potenciálját. A hagyományos sejtvonala alapítási metodikával csak egyetlen (129 SV) egértörzsből lehetséges jó hatékonysággal embrionális eredetű ős-sejtvonala létrehozni. Az elmúlt két év során kifejlesztésre került egy olyan új eljárás, amelynek segítségével, nagy hatékonysággal lehetett ES sejtvonala alapítani inbreed és outbreed egértörzsekből egyaránt. Ezzel az új módszerrel sikerült hisztamin-dekarboxiláz deficiens, (Sommelweis Egyetem, dr. Falus András) és miosztatin mutáns (MBK, dr. Varga László) ES sejtvonala alapítanunk. Az egereknél kifejlesztett módszert alkalmazva, ES jellegű kolóniákat tartalmazó nyúl sejttenyészetet is sikerült létrehozunk (OTKA T026321).

Az embrionális eredetű ős-sejtvonala alkalmas *in vitro* modellrendszerként szolgálhatnak a sejtek differenciálódása során lejátszódó folyamatok mechanizmusainak tanulmányozására is. Az ES sejtvonala vázizom irányba differenciáltatva, az egér embrionális fejlődése során, 10-12 nap alatt lezajló vázizom-differenciálódási folyamatot, *in vitro* 30-35 napig tudjuk tanulmányozni. Az elkövetkező időszakban az általunk létrehozott miosztatin mutáns ES sejtvonala *in vitro* vázizom irányú differenciálódását szeretnénk megvizsgálni (OTKA T037587; Bio-00020/2001, KOKI, dr. Madarász Emília).

Az Embriológiai Laboratórium *Alkalmazott Szaporodásbiológiai Munkacsoportja* szarvasmarha embriókat állít elő *in vitro* az alap és alkalmazott kutatás számára. Az elmúlt két évben feladatunk az *in vitro* embrió-előállítási folyamat optimalizálása, valamint a preimplantációs genetikai diagnózis módszerének adaptálása volt. A munkát a SZIE-MTA Állatnemesítési Kutatócsoporttal (dr. Dohy János) közös pályázat (FVM 57017/2001, NKFP 4/031/2001) keretében végeztük. Az *in vitro* termékenyítés számára fontos spermakezelési módszerek vizsgálatát, optimalizálását a Nyugat-Magyarországi Egyetem (dr. Bali Papp Ágnes) az ÁTK (dr. Kovács András, Dr. Nagy Szabolcs) és a KÁTKI (Dr. Virág Györgyi) kutatóival közösen végeztük (FVM 56805/2001).

Laboratóriumunk 2000 novemberétől az OMMI által hivatalosan regisztrált embrió előállító állomás lett. Embrió előállítási programunkat a Holstein-fríz Tenyésztők Egyesületének pártoló tagjaként végezzük.

Az alkalmazott szaporodásbiológiai módszerek vizsgálata mellett, bekapcsolódtunk az alkalmazott kutatást segítő alapkutatási témákba is. Egér és szarvasmarha embriókat felhasználva, több markert egyszerre vizsgáló multiplex PCR eljárás kidolgozásán fáradozunk, egyetlen blasztomer DNS-éből való ivar, BLAD és kappa-kazein genotípus kimutatására.

## OCHRATOXIN A ETETÉS HATÁSA EGYES SPERMATOLÓGIAI PARAMÉTEREKRE SERTÉS KANOKBAN

Dr. Biró Krisztina, Dr. Barna-Vetró Ildikó, Dr. Pécsi Tamás, Szabó Erzsébet, Prof. Dr. Johanna Fink-Gremmels és Prof. Dr. Solti László

A mycotoxinok különböző gomba fajok szerkezetileg rendkívül változatos, kis molekula tömegű másodlagos anyagcsere-termékei, melyek jelentős biológiai aktivitással bírnak. A sperma mennyiséget és minőséget befolyásoló számos tényező közül bizonyított egyes mycotoxinok, például a zearalenon és aflatoxin B<sub>1</sub> károsító hatása. Az ochratoxinok különböző *Aspergillus* és *Penicillium* gombák által termelt metabolitok, melyek közül az ochratoxin A a leggyakoribb és biológiailag legaktívabb származék. A toxin erős fehérje szintézis inhibitor, ezt a hatást a phenylalanine tRNS synthetase kompetitív gátlása révén fejt ki. Egyéb fehérje szintézist gátló mycotoxinok, pl. T-2 toxin, ismert sajátossága, hogy aktívan osztódó sejtek–lymphoid és vérképző szervek, gastrointestinalis mucosa, és csírahám-súlyos károsodását okozhatják laboratóriumi rágsálókban és sertésben. Az ochratoxinok hasonló hatásmechanizmusa ellenére eddig még nem vizsgálták a sperma minőségre (illetve a csírahámra) gyakorolt közvetlen hatásukat sertéseken.

Egy 4 hetes kontrol periódust követően (toxin-mentes takarmány, alap értékek felvétele) naponta 20 µg ochratoxint applikáltunk sertés kanoknak kockacukorra csepegtetve 6 héten keresztül, amelyet egy 9 hetes toxin-mentes időszak (toxin megvonás) követett. A szérum és szeminális plasma toxin koncentrációját ELISA módszerrel határoztuk meg. Vizsgáltuk az alap motilitást, az eltarthatóságot 24, 48, 72 és 96 óra után, az ejakulációs térfogatot, az élő-holt arányt, és az előrehaladó mozgást. Emellett mind a kontrol, mind a kezelt állatokból származó here és mellékhere minták szövettani vizsgálatra kerültek.

A toxin (a szérumhoz képest egy kis fázis késéssel) kimutatható volt a szeminális plazmában. Az alap motilitás, élő-holt arány, és a 24 órás eltarthatóság szignifikánsan csökkent a kísérleti csoportban a megvonási periódusban (SYSTAT 8.0 software programmal értékelve). A hisztometriai vizsgálatnál kiegészített szövettani vizsgálat mind a kezelt, mind a kontrol mintákban a herecsatornácskák mintegy 90-95%-ában a spermatocyták szaporodásának és érésének különböző fázisaira jellemző sejtek száma, morfológiája és mennyiségi aránya alapján zavartalan spermioenezist tükrözött. Mindössze néhány csatornácska üregében lehetett sejtosztódási zavarra utaló óriássejteket és néhány degenerálódó sejtformát felismerni. Nem volt értékelhető különbség továbbá a kezelt és kontrol állatok heréiben a Leydig-sejtek morfológiájában és mennyiségében, valamint a mellékherék szöveti képében sem. A kísérleti eredmények alapján elmondható, hogy 0.08 µg/kg koncentrációban a toxin sperma termelésre és sperma minőségre gyakorolt kedvezőtlen hatása ivarérett sertéseken a toxin etetés időszakához képest bizonyos időbeli késéssel (lag-fázis) jelentkezik. További vizsgálatok szükségesek a toxin spermatozoákra gyakorolt hatásának mechanizmusára vonatkozóan.

## **KIBÚJT BLASZTOCISZTA STÁDIUMÚ EGÉR EMBRIÓK GYORS FAGYASZTÁSSAL SZEMBENI ÉRZÉKENYSÉGÉNEK VIZSGÁLATA**

Pribenszky Csaba, Cseh Sándor, Solti László

*Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika, Budapest 1078 István u.2.*

Kísérleteink középpontjában az eddig kevésbé tanulmányozott késői preimplantációs stádiumú embriók alacsony hőmérséklettel szembeni érzékenységének tanulmányozása, illetve alapkutatás szinten embriók nagy nyomás alatti viselkedésének vizsgálata áll. Mélyhűtési kísérleteinkben kibújt blasztociszta egérembriókat hűtünk, az ún. gyors fagyasztással. Gyors fagyasztásnál az embriókat - a védőanyagot tartalmazó fagyasztó oldatban történő equilibráltatás után – néhány percre a folyékony nitrogén gőzébe helyezzük, majd ezután közvetlenül a folyékony nitrogénbe kerülnek. Összehasonlító vizsgálatainkban különböző krioprotektív anyagot tartalmazó fagyasztó oldatokban hűtjük az embriókat. A felolvasztást követően az embriók túlélését in vitro és in vivo körülmények között egyaránt ellenőrizzük. Felengedést követően a zona pellucida nélküli blasztociszták in vitro illetve in vivo túlélése kb. 85 % illetve 35 %. Eredményeink szerint a kibújt blasztociszták jó hatékonysággal mélyhűthetők gyors fagyasztással, ami azt jelzi, hogy a zona pellucida hiánya nem befolyásolja hátrányosan a késő stádiumú embriók fagyasztást/ felolvasztást követő túlélését.

OTKA T032215 által támogatott kutatás.

## A BÉLSÁR PROGESZTERON METABOLIT TARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA: EGY ÚJ LEHETŐSÉG A PETEFÉSZEK-MŰKÖDÉS NYOMON KÖVETÉSÉRE EMLŐS FAJOKBAN

Proháczik Angella, Kulcsár Margit, Magi Zsuzsa, Becskey Csilla., Huszenicza Gyula  
*Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai  
Tanszék és Klinika, Budapest 1078 István u.2 Tel: 061-478-4202  
e-mail: aprohaczik@vnet.hu aproh@freemail.hu*

Emlősökben a petefészek (PF) működés nyomon követésének legmegbízhatóbb módszere a sorozatban gyűjtött (vér, tej) minták progeszteron (P4) tartalmának meghatározása (az u.n. P4 profil). Számos fajban azonban a rendszeres mintagyűjtés nehézkes, vagy lehetetlen, ezért alternatív megoldásként a P4 bomlástermékeinek – az un. *gesztagén metabolitoknak* (GM) – a bélsár mintákból történő meghatározását alkalmazhatjuk. Korábbiakban kifejlesztettünk egy (az előforduló fontosabb GM-okkal keresztreagáló ellenanyag használatán alapuló) ELISA eljárást, ami egyes házemlősökben alkalmas a bélsár GM tartalmának meghatározására. Jelen munkánk keretében vizsgálni kívántuk, hogy olyan állatkerti nagyemlősökben (szélesszájú rinocérosz, *Ceratotherium simum*), illetve egzotikus társállatként tartott kisragadozóknak (vadászgörey, *Mustela putorius furo*), amelyekből a vérminták rendszeres gyűjtése lehetetlen, alkalmas-e a módszer a PF működésének a nyomon követésére, klinikailag releváns következtetések levonására.

A Budapesti Állat- és Növénykert 19 éves korú, párjával hosszabb idő óta közös kifutóban élő, még soha nem ivarzott *rinocérosz tehenének* vizsgálatával kívántuk tisztázni, hogy *ciklikus-e* annak PF-működése, ill. igenlő esetben *szabályos-e a ciklusa*. Ezért kezdetben 7 naponként, a majd pedig másfél éven át hetenként három alkalommal bélsár mintákat gyűjtöttünk. A GM profil 1998 szeptember elejétől 1999 március végéig ciklikus PF-működésről tanúskodott, a CL fázisok tartama kb. 30 és 60 nap között váltakozott. 1999 áprilisa és decembere között csak időnként lehetett kisebb GM csúcsokat megfigyelni. Az időszakot *acikliás periódusként* értékeltük. 1999 decemberében a PF működése ismét ciklikussá vált, és a mintagyűjtés végéig az is maradt. Javasoltuk az állatok elkülönített elhelyezését, feltételezve, hogy ez a későbbiekben fölkeltheti a pár egymás iránti szexuális érdeklődését.

A *vadászgöreyeken* végzett 1. kísérletben a GM-ok bélsárban történő megjelenését kívántuk bizonyítani. 3, előzetesen PF-írtott (ovarietomizált, ovex) nőténytől 7 naponként 6-6 alkalommal bélsár mintákat gyűjtöttünk, majd közülük kettő, – ill. egy további kasztrált hím – izomzatába egy alkalommal 12,5 mg P4-t (Luteosan<sup>®</sup> inj., Werfft-Chemie) fecskendeztük, és 8 napon át naponként kétszer további mintákat gyűjtöttünk. A kezelés előtt vett szinte valamennyi mintában alapszintű (<500 ng/g) GM ürítést mértünk (csupán az egyik, elégtelenül ivartalanított, és néhány héttel a P4 kezelés előtt ivarzásszerű tüneteket mutató nőtény bélsárában emelkedett meg kissé a GM-ok mennyisége – az állatot 100 NE HCG injekcióval kezeltük az ivarzási tünetek elmulasztása céljából 6 héttel a P4 kezelés előtt -). A P4 kezelést követő 60-72 órában a GM ürítés valamennyi állatban jelentősen fokozódott. Március elején a 2. kísérletbe 7 intakt nőtényt vontunk be, amelyektől az ivarzások előtt megkezdve hetenként háromszor gyűjtöttünk mintákat. Az ivarzókat fedeztettük. A rendszeres mintagyűjtés a(z ál)vehhesség és szoptatás teljes tartama alatt, – ha az állat ismét ivarzott, akkor a második (ál)vehhesség és szoptatás idején is – folytatódott. Az ivarzó állatokban alapszintű GM ürítést igazoltunk, amely a fedeztetést követően emelkedni kezdett, a(z ál)vehhesség végéig emelkedett szintű is maradt, majd pedig alapszintre csökkent. Májusban a korábban álvehhes állatok, alacsony GM profil mellett rendszerint csakhamar újból ivarzottak. Ezzel szemben a vemhesekben (n=4)  $\leq 5-7$  nappal a kölykezés után a GM ürítés



*ismét fokozódott*, amelyet ez esetben nem előzött meg ivarzás, illetve fedeztetés sem! A GM ürítés a *laktáció teljes tartama* alatt emelkedett maradt. Az állatok tejtermelése, anyai viselkedése a fajra jellemzőnek bizonyult, ivarzásukra (n=2) csak a kölykök elválasztása, ill. a GM ürítés alapszintre csökkenése után került sor. Az irodalomban eddig teljesen ismeretlen jelenség bizonyítására a következő évben (3. kísérlet) 11 állat összesen 19 vemhességét / laktációját és 3 álvemhességét követtük nyomon, a GM ürítés mértéket naponként meghatározva. Az ivarzások és a vemhességek idején a GM profilok a korábbiakhoz hasonlóan alakultak. A kölykezés időpontjában a minták GM tartalma még magas volt, majd 2-3 napon belül számottevően csökkent. Ezt követően azonban, ismét gyors GM szintemelkedés volt megfigyelhető: az 5-7. napon már valamennyi (n=19), kölykeit rendben szoptató anya ismét működő CL jelenlétére utaló mennyiségben ürített GM-okat. A fokozott GM-ürítés a laktáció végéig jellemezte az állatokat. Ezzel szemben az álvemhességeket (n=2) követően, illetve abban az állatban, amelynek kölykei röviddel a világra jövetelük után elpusztultak, a GM ürítés mértéke gyorsan alapszintre csökkent.

Tapasztalataink alapján az eljárást alkalmasnak ítéljük egyes állatkerti és egzotikus emlősök, ill. természetvédelmi oltalom alatt álló fajok szaporodási jellemzőinek és zavarainak vizsgálatára. A *mintavétel módja egyszerű*, az állatra nézve *kíméletes*, ezért *minden fajban könnyen kivitelezhető*. Mindemellett, lehetőséget biztosít az 1998. évi XXVIII. sz. *állatvédelmi törvény előírásainak maradéktalan betartására is*.

## IVARZÁS INDUKÁLÁS ÉS VEMHESÍTÉS LACAUNE JERKÉKNÉL ASZEZONBAN

Szabados Tamás, Gergátz Elemér, Gyökér Erzsébet, Czimber Gyula  
*Biotechnikai Állomás – Pharmagene-Farm Kft., Mosonmagyaróvár*

A hús-és kettőshasznú állományainknál a gazdaságosság fokozása érdekében a bárányprodukción emelnünk kell. Ezt a fajtakérdésen, a tartási és takarmányozási technológián kívül nagyban befolyásolja a tenyésztésbe vétel időpontja, illetve a két ellés közötti idő alakulása. Kísérletünk beállításával meglehetősen szélsőséges körülményeket teremtettünk. 114 db 13-15 hónapos korú *lacaune* és *lacaune keresztezett* jerkét próbáltunk vemhesíteni aszezonban, május végén, ivarzás indukálás után. Így jerekünket a szokásos vemhesítési periódus előtt négy hónappal korábban vettük tenyésztésbe, megelőzve ezzel a magasabb vágóállat felvásárlási árakat a bárányok értékesítésekor. A kísérleti állatokat három csoportra osztottuk. Az ivarzás indukálás során első lépésként mindhárom csoport tagjaiba progesztagén tartalmú hüvelyimplantátumot helyeztünk be. Az implantátum kivételekor 3 féle PMSG kezelést alkalmaztunk. Az első két csoportnál 500 illetve 750 NE PMSG-t juttattunk az állatokba intramuszkulárisan, a harmadiknál 500 NE-t szubkután. Az állatokat 48 és 53 óra múlva cervikouterinális inszeminálás alkalmazásával, 2-4°C-ra hűtött, hígított kosspermával termékenyítettük. A vemhességek elbírálását a termékenyítést követő 56-58 nappal végeztük UH-os vizsgálattal. A kísérlet végleges értékelését az ellések befejeződése után kezdtük meg. Megállapítottuk, hogy a három csoport átlagában a jerek 88,6%-ban sikerült ivarzást kiváltanunk, 43,9% vemhesült és 42,1% ellett meg. Eredményeink alapján elmondható, hogy a 750 NE PMSG-dózis alkalmazásakor az ivarzási %, a vemhesülési %, az ellési %, is jelentős mértékben magasabb a másik két csoportnál ( $p=0,005$ ), az átlagos alomnagyság, és a szaporulati % is ennél a csoportnál bizonyult kedvezőbbnek, ugyanakkor az egy bárány „előállításához” szükséges fajlagos ráfordítás itt a legalacsonyabb. A kezeléseket költségét jelentős mértékben meghaladta a bárányonként elérhető extraprofit mértéke, amit a decemberi - keresleti piacra történő - bárány értékesítéskor értünk el. Megvizsgáltuk az októberi elletés laktációra gyakorolt hatását. Megállapítottuk, hogy az állatok laktációs idejét sikerült jelentős mértékben - 85 nappal - megnyújtanunk, így az értékesített tej mennyisége anyánként 76 literrel emelkedett. A fentiek alapján elmondható, hogy a május végi ivarzás indukálás és vemhesítés célravezető lehet a juhtenyésztés jövedelmezőségének fokozására *lacaune* fajta felhasználása esetén.

## KÜLÖNBÖZŐ KANOK TERMÉKENYÍTŐ ANYAGÁNAK VIZSGÁLATA RÖVID IDEJŰ TÁROLÁS SORÁN

Makkosné Petz Brigitta-Baráth Zsuzsanna-Bali Papp Ágnes-Iváncsics János  
*Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Kar  
Állattenyésztési Intézet– H-9200 Mosonmagyaróvár, Vár 4.*

A mesterséges termékenyítés ma már széles körben elterjedt és használt módszer az állattenyésztésben. A nagy genetikai értéket képviselő apaállatok termékenyítő anyaga szélesebb körben felhasználható a módszer segítségével, és többek között eredményesebbé teszi a sertéshústermelést a magasabb szaporulat biztosításával. A különböző festési eljárásokkal fény derül az élő/elhalt sejtek arányára és az akroszóma integritására is. Újabban a fluoreszcens mikroszkópia az alapvető technikák egyike lett a plazmamembrán integritásának vizsgálatában. Előnye, hogy gyors, kevésbé szubjektív, ezért kevésbé függ a technikai jártasságtól.

Vizsgálataink során a Kovács-Foote-féle festést, és a módosított Harrison és Vickers fluoreszcens festést is alkalmaztuk. A kísérlet célja, hogy *in vitro* körülmények között naponta megbecsüljük az élő/elhalt spermiumok számát, valamint az akroszóma változásokat is nyomon követhessük a 17°C-on végzett hét napos tárolási kísérlet során.

A 17°C-on tartott hígított spermából a vizsgálat hét napja alatt minden nap mintát vettünk, keneteket készítettünk, majd mindkét módszerrel megfestettük és minden kenetnél kétszáz spermiumot vizsgáltunk meg négyszázszoros nagyítással és osztályoztuk a spermiumokat.

Az öt kan termékenyítő anyagának vizsgálatánál azt tapasztaltuk, hogy az ejakulátumban lévő mozgó spermiumok aránya 80%-ra tehető. A Kovács-Foote-féle eljárást használva a termékenyítő anyag minősége valamivel magasabbnak mutatkozott, mint a fluoreszcens festést alkalmazva. Ez a tendencia végig megmaradt a hét nap során. A vizsgálat során mindkét festési eljárás azt mutatta ki, hogy a termékenyítő anyag minősége napról napra romlik. A Kovács-Foote-féle festésnél az élő, ép akroszómával rendelkező spermiumok száma az első öt napon 82% fölötti, míg ugyanezen típusú spermium a fluoreszcens festésnél az első négy napon 75% feletti, az utolsó két napon ez a típus az első festéssel még mindig 80% feletti de a fluoreszcens festéssel

csak 45%-os értéket mutatott. A tárolás során a legnagyobb mennyiségben az elhalt sejtek száma növekedett meg az élő sejtek számának rovására, ezen kategórián belül is a sérült akroszómájú spermiumok aránya növekedett legjelentősebben.

## FODROSTOLLÚ MAGYAR GUNARAK SPERMATOLÓGIAI VIZSGÁLATA ÉS IVARI JELLEGZETESSÉGEI

Varga, Á.<sup>1</sup>, Barna, J.<sup>1</sup>, Almási, A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute for Small Animal Research, POB 417, Gödöllő, Hungary*

<sup>2</sup>*Animal Science Department of Kaposvár University, Kaposvár, Hungary*

A Gödöllői Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézetben folyó ex situ génmegőrzési program keretében spermológiai vizsgálatokat kezdtünk a Fodrostollú Magyar gunaraknál.

Vizsgálatainkhoz az állatokat a masszálásra adott válaszreakcióik, külső ivarszerveik nagysága és általános egészségi állapotuk alapján válogattuk ki a törzsállományból.

Az egyedi ondómintákat mennyiségi (*térfogat*), és minőségi (makroszkóposan: *szín, konzisztencia, szennyezettség*, mikroszkópos vizsgálatok: *spermium-motilitás, koncentráció, élő-élettelen arány, morfológia*) vizsgálatoknak vetettük alá. A kapott összesített eredményeinket más lúdfajták irodalmi adataihoz hasonlítottuk, amelyek alapján megállapíthatjuk, hogy a Fodrostollú Magyar gunarak spermatermelése sok tekintetben elmarad a nemesített lúdfajtákétól (rövid tenyészszon, viszonylag kisebb mennyiségű ondó, gyengébb motilitás). A különböző spermium-anomáliák megoszlásainak aránya sok érdekességet tartalmaz, de adataink megerősítéséhez további ondóminták elemzése szükséges. Spermológiai vizsgálataink az idei őszi és a jövő évi tavaszi tenyészszonban sperma fagyasztási kísérletekkel kiegészítve folytatódnak.