

8. SZAPORODÁSBIOLÓGIAI TALÁLKOZÓ

SZAPORODÁSBIOLÓGIA — AZ ÁLLATTENYÉSZTÉS INTEGRÁLÓJA

A 10. éves fennállását ünneplő Szaporodásbiológiai Társaság
jubileumi ülése

A Magyar Tudomány Napja hivatalos rendezvénye

TARTALOM – CONTENT

| | |
|--|----|
| Mézes, M.: Tenyészszüldők takarmányozásának egyes kérdései. (Nutrition of the breeding gilts and sows)..... | 2 |
| Wekerle, L.: Korszerű kocasüldő tenyésztésbevétele..... | 3 |
| Huszenicza, Gy.: A szaporodást befolyásoló takarmányozási tényezők tejhasznú tehénekben. (Nutritional factors influencing reproductive performance in dairy cows)..... | 4 |
| Rátky, J. – Egerszegi, I. – Sarlós, P. – Brüssow, K.-P.: A biotechnika szerepe a sertés-tenyésztésben. (Bio-techniques in swine breeding)..... | 6 |
| Németh, Cs.: A mesterséges termékenyítés szerepe a lótenyésztésben. (The role of artificial insemination in horse breeding)..... | 9 |
| Balogh A.: A csikószaporulat emelése művi eljárásokkal. | 10 |
| Barna, J.Ms. – Hidas, A. – Szalay, I. – Várkonyi, E.Ms.: Baromfifélék ivarsejtjeinek mélyhűtéses tárolása, mint <i>ex situ</i> génmegőrzés. (Cryopreservation of poultry gametes as <i>ex situ</i> gene conservation method)..... | 11 |
| Mezősi, L.: Szaporodásbiológiai teendők az állatkertben. (Reproductive biology work at the Zoo)..... | 14 |
| Novotni-Dankó, G.Ms. – Kulcsár, M.Ms. – Magyar, K. – Nikolic, J.Ms. – Kátai, L. – Dombóvári, E.Ms. – Huszenicza, Gy.: Some metabolic aspects of ovarian activity in out-of-season prolific merino ewes. (Szapora merinó anyajuhok petefészkek-működésének vizsgálata tavaszi, tenyész szezonon kívüli időszakban) (angolul)..... | 16 |
| Szőke, Zs.Ms. – Kisé, Do thi Dong Xuan Ms. – Péczely, P.: Effect of photoperiod on reproduction cycle and postnuptial moulting of muscovy duck (<i>Cairina Moschata</i>). (A fotoperiódus hatása a pézsmaréce (<i>Cairina moschata</i>) szaporodási ciklusára és postnuptialis vedlésére) (angolul)..... | 22 |
| Biczó, A. – Tarcsai, G. – Kelemen, K. – Mödinger, P. – Péczely, P.: Endocrinological study of display behaviour of male great bustards (<i>otis tarda</i>) using faecal steroid analysis. (Túzok kakasok (<i>Otis tarda</i>) szaporodási ciklusának endokrinológiai vizsgálata faecalis szteroid analízissel) (angolul)..... | 24 |
| Nagy, Sz. – Topper, E.: Multikolor spermiumvizsgálatok flow citométer alkalmazásával. (Multi-color flow cytometric sperm analyses)..... | 26 |
| Nagy, Sz.: Flow citometria alkalmazása a spermatológiai kutatásokban. (Application of flow cytometry in spermatology)..... | 28 |

A 8. Szaporodásbiológiai találkozó anyaga szerkesztve, de lektorálás nélkül került közlésre.

TENYÉSZSÜLDŐK TAKARMÁNYOZÁSÁNAK EGYES KÉRDÉSEI

MÉZES MIKLÓS

SUMMARY: NUTRITION OF THE BREEDING GILTS AND SOWS

The main criteria of the breeding programs is the reproduction ability of gilts and sows. Nutrition — as the primary environmental factor — has importance both during the rearing and also during the reproductive periods of life. The paper discuss about the main nutritional criteria during the pre-pubertal period and also during the first pregnancy, with some additional information about the effect of vitamin and/or mineral supplementation in gilts and sows.

A tenyészsüldők takarmányozásának alapja az aktuális szükségletnek megfelelő táplálóanyag ellátás, ezen belül kiemelten az energia és fehérje (aminosav) szükséglet kielégítése. A táplálóanyag ellátás szintje a felnevelés alatt befolyásolja a testsúlygyarapodást és az állatok testösszetételét. A tenyészsüldők esetében cél az ivarzás idejének optimalizálása, szinkronba hozása a tenyészérettséggel. A felnevelés alatti takarmányozás — energia és fehérje (aminosav) ellátás — tenyészállatok esetében befolyásolja az ovulációs folyamatok szabályozását és a vemhességet követően az alomszámot és az alomsúlyt egyaránt. Ennek hátterében az áll, hogy a felnevelés alatt a kocasüldők testében milyen mennyiségű depózsír halmozódik fel. A vemhesség és különösen a laktáció során ennek a zsírdepónak a mobilizálása a tenyészállatok metabolikus státuszát alapvetően befolyásolja. A zsírdepók kialakulását, vagy annak elmaradását takarmányozással erőteljesen befolyásolni lehet. Ebben jelentős szerepe lehet a felnevelés alatt alkalmazott szakaszos takarmányozásnak, amely az aktuális táplálóanyag szükségletet igyekszik optimálisan kielégíteni és a szervezet metabolikus stabilitását maximalizálni.

A makro táplálóanyagok (fehérje, zsír) mellett a mikro mennyiségben jelenlévő anyagok — pl. az ásványi anyagok és vitaminok — is jelentős szerepet játszanak egyrészt a felnevelés, másrészt a hizlalás és szaporodás hatékonyságának növelésében. Ebből a szempontból a sertések esetében kiemelten fontos ásványi anyag a foszfor. Az abraktakarmányokban ez részben fitinsavhoz kötött formában van jelen, amely a foszfor felszívódását gátolja. A takarmány fizikai formája — víztartalma — a vízfelvételekre gyakorolt hatása mellett befolyásolja a fitin-foszfor hidrolízisét is. A folyamat fitáz enzim felhasználásával optimalizálható. A makroelemek mellett a mikroelemek (Fe, Cu, Zn) is lényegesek egyrészt az egészséges szervezet kialakításához, másrészt a szaporodásbiológiai folyamatokhoz is. Ezek felhasználása a felnevelés alatt a takarmányozásban feltétlenül indokolt.

Az ásványi anyagok hatása mellett feltétlenül szólni kell a vitaminok (kiemelten A,E,D,B-vitaminok, valamint a karotin) szerepéről is. Ezek egyrészt befolyásolják a szervezet funkcionális stabilitását, — ezen belül a szaporodásbiológiai folyamatokat is — másrészt hatnak az immunrendszer működésére is.

Szerző címe: Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar
Author's address: Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences
H-2103 Gödöllő, Pf. 303.

KORSZERŰ KOCASÜLDŐ TENYÉSZTÉSBEVÉTEL

WEKERLE LÁSZLÓ

A szakszerű kocasüldő-felnevelésnek kettős feladatot kell teljesíteni:

— A generációs intervallum lerövidítése érdekében minél hamarabb tenyésztésbe venni a kocasüldőt, de úgy, hogy már az első fialásnál megfelelő számú egészséges malacot hozzon világra.

— A kocasüldőből folyamatosan és jól szaporodó koca legyen, vagyis megfelelő „életteljesítményt” produkáljon.

Az utóbbi érdekében valamelyest módosultak a tenyésztésbevitelre alkalmas kocasüldőre jellemző paraméterek:

| | régebben | most |
|---------------|----------|---------|
| életkor (nap) | 240–250 | 200–210 |
| testsúly (kg) | 100–120 | 130–150 |

Változatlan az a törekvés, hogy a ciklus harmadik ivarzásánál történjen a tenyésztésbevitel.

Magyarországon még nem alkalmazzák, de külföldön egyre általánosabb a hátszalonna-vastagság mérése és az ez alapján történő szelekció a tenyésztésbevitel előtt. Általánosan elfogadott, hogy az ún. P2-ponton (az utolsó bordától laterálisan 6,5 cm) a hátszalonna vastagsága legalább 18–20 mm legyen. Ez garantálja azt az energiatartalékot, amely lehetővé teszi, hogy az előhasi koca az első szoptatás után néhány nappal ivarzásba jöjjön és vemhesüljön. A hazai gyakorlat pont ez ellen dolgozik. A tenyésztők szeme előtt egyetlen cél lebeg: minél nagyobb izom(hús)mennyiség, ezért azokat az egyedeket veszik tenyésztésbe, amelyeknél vékony a hátszalonna. Az országos méretű előhasi koca anösztrusz, elsősorban ennek a szemléletnek a következménye.

Egy másik lényeges dologról is megfelelnek a tenyésztők, nevezetesen arról, hogy a szaporaságot nemcsak a fialási alomlétszám jelzi, hogy minden ellenkező híreszteléssel ellentétben, a szaporaság öröklődik. Így viszonylag magas h^2 -tel öröklődik az ivarérettségi életkor, a születési súly, az ivarzás időtartama és intenzitása, a tejtermelő-képesség és az anyai viselkedés.

A kocasüldők kiválogatásánál tehát jóval nagyobb figyelmet kell fordítani azokra a genetikai adottságokra, amelyek viszonylag jól öröklődnek és a szaporaság alapvető meghatározói.

Szerző címe: NEDVET Bt.

Author's address: H-1122 Budapest, Gaál J. 16/A

A SZAPORODÁST BEFOLYÁSOLÓ TAKARMÁNYOZÁSI TÉNYEZŐK TEJHASZNÚ TEHENEK BEN

HUSZENICZA GYULA

SUMMARY: NUTRITIONAL FACTORS INFLUENCING REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN DAIRY COWS

The energy and protein supply, as well as the deficiency of several vitamins, minerals and trace elements have been known as nutritional factors influencing the reproductive performance of dairy cows. Among them the postpartum negative energy balance and its consequences represent priority in high-producing herds nowadays. Certain feeding technologies widely used in modern dairies (inert fat and by-pass protein feeding, supplementing the daily ration with ionophors, protected amino acids and/or antiketogenic, hepato-protective substances) also have reproductive consequences. Under Hungarian farm conditions practical relevance may be attributed sometimes to the protein overfeeding, the carotene and manganese deficiency, and the disorders of ruminal fermentation. The identification of (a) factor(s) really influencing fertility in a current herd is not easy and needs complex approach both in way of thinking and laboratory and other techniques used for diagnosis.

A szaporasági teljesítényt potenciálisan befolyásolni képes takarmányozási tényezők áttekintése jószerevével lehetetlen: az energia-, fehérje-, ásványianyag-, vitamin- és mikroelem-ellátás zavarain kívül alkalmanként bizonyos toxikózisok is jelentőséggel bírhatnak. Újabban ezek sora az ún. endokrin diszruptív hatású (azaz a szó eredeti értelmében nem toxikus, a nemi működés összehangolt hormonális hátterét azonban ennek ellenére is megzavarni képes) anyagokkal egészült ki. A gyakorlatban egyidejűleg több károsító faktor is jelen lehet, ennek ellenére is valójában rendszerint csupán egy-két, az adott körülmények között limitálónak számító tényező gyakorol valóban jelentős befolyást a reprodukciós teljesítményre. Ezen — gyakorta rejtett, csak nehezen, vagy szinte nem felismerhető — faktor(ok) eliminálódását követően aztán újabb takarmány-összetevő(k) léphet(nek) elő meghatározó jelentőségű, a szaporodóképességet behatároló tényezővé.

Befolyásoló szerepe kizárólagosnak természetesen nem tekinthető, de tejhasznú tehénben napjainkban világszerte kétségkívül az energiaellátás — konkrétan az energetikai egyensúly — ellést követő hetekben fennálló zavarra (negatív energetikai egyensúly, NEB), illetve annak dekompenzálttá válása (ketózis, zsírmáj szindróma) számít a reprodukciós teljesítménynek leginkább határt szabó tényezőnek. A NEB dekompenzálttá válása csökkenti a szervezet immunkompetenciáját, és ennek révén megnő az akut putrid endometritis, illetve a mastitis gyakorisága. Ezen túlmenően az üzemi körülmények között rendszerint 8–10 hetes tartamú NEB-nek a szaporodóképességre gyakorolt hatása rendkívül összetett. Ha az állat 4–5 napnál hosszabban nem szoptatja a borját (márpedig ennél hosszabb szoptatási időszak üzemi körülmények között tejhasznú tehénben szinte soha nem fordul elő), a NEB az a tényező, amely meghatározza az ellés utáni acikliás periódus tartamát. A NEB kezdeti, fokozatosan mélyülő szakaszában a tüszőnövekedés ugyan nem akadályozott, a domináns folliculusok (DF) azonban atretizálódnak, és egyidejűleg újabb tüszőnövekedési

hullám veszi kezdetét. A jelenséget élettanilag az LH-alapszekréció zavara magyarázza, emellett kiváltásában közvetlen jelentőséggel bírnak egyes, a NEB következményeként a keringésben a szokásosnál alacsonyabb koncentrációban jelen levő trofikus faktorok (inzulin, IGF-1) is. A DF atretizálódása helyett esetenként sor kerülhet annak cisztás degenerációjára is. Az első ovuláció, illetve ezt követően a petefészek-működés ciklikussá válása a NEB mélypontján való túljutást követő kb. 10. napon remélhető. A már ovulált, ciklikus petefészek-működésű állatban a NEB hirtelen súlyosbodása (pl. az ún. laktációs ketózis, sántaság, takarmányfelvételt akadályozó megbetegedések) esetén az ovariális funkciók ismét acikliássá válhatnak. Jóval gyakoribb azonban ennél, hogy a NEB utolsó heteiben csupán az ivarzási tünetek intenzitása marad el a várakozásoktól. A NEB, és különösképpen annak dekompenzálttá válása (ketózis) ciklikus petefészek-működésű állatokban képes lehet a sárgatest (CL) kialakulásának lassítására. A jelenség a progeszteron szintjének az ovulációt követő lassúbb emelkedésében nyilvánul meg, eredményeként zavart szenved az endometrium mirigyének szekréciós tevékenysége, és ennek révén az embrió táplálása. Következményeként — ha fogamzott is az állat — a vemhesülés zavarával számolhatunk, ugyanis nagy számban figyelhető meg az embrió elhalása. Újabban vált ismertté, hogy a NEB idején fejlődő tüszőkből származó petesejtek még az esetben is csökkent életképességűek, ha a NEB időközben már megszűnt: teljes értékű oocyták képződésével inkább csak a 100-120. nap után (!!!) számolhatunk. A NEB, illetve annak dekompenzációja emellett számos másodlagos, de az állat klinikai állapotával és szaporodóképességével összefüggő anyagcsere-rendellenességet (pl. a karotin/A-vitamin-, az E-vitamin-, a peroxid- és a D₃ vitamin-háztartás zavara) is indukálhat.

A NEB idején jellemző, nagy energiasűrűségű, rendszerint védett fehérje- és zsírforrásokat is magában foglaló takarmányfejadag etetése egyes esetekben önmagában is lehet reprodukciós zavarok forrása. Jól példázza ezt, hogy a magas keményítőtartalmú takarmányok etetése gyakran indukál látens bendőacidózist, ami aztán ruminális sztázist okozva *endotoxin* forrásként szerepelhet, illetve amennyiben az etetett takarmányok trichotecén típusú *Fusarium toxinokat* tartalmaznak, lehetőséget teremt azok felszívódására. Közülük a T-2 toxin ovariális működést károsító hatásával ezért alkalmanként tejhasznú tehénben is számolhatunk. A *védett fehérjék*, *védett zsírok* etetése nyomán megnövekvő tejtermelés súlyosbíthatja a NEB-et, illetve meghosszabbíthatja annak tartamát, különösképpen az esetben, ha pl. a nem megfelelő minőségű (a kolecisztokinin elválasztását fokozó) védett zsírforrás fogyasztása a szárazanyag-fellevő képességet is csökkenti. Hazai körülmények között emellett viszonylag gyakori limitáló faktor lehet a fehérje-túletetés (bendőben könnyen fermentálódó proteinforrások túlzott mértékű etetése), továbbá a mangán- és a karotinhiány.

Szerző címe: Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar
Author's address: Szent István University, Faculty of Veterinary Science
H-1400 Budapest, Pf. 2.
E-mail: gyhuszen@univet.hu

A BIOTECHNIKA SZEREPE A SERTÉSTENYÉSZTÉSBEN

RÁTKY JÓZSEF — EGRSZEGI ISTVÁN — SÁRLÓS PÉTER — BRÜSSOW, KLAUS-PETER

SUMMARY: BIO-TECHNIQUES IN SWINE BREEDING

Reproductive management as part of farm management must include bio-technical methods on middle and large scale pig farms.

The bio-technical methods used in the daily breeding practice or, in special cases, the unique scientific procedures in male as well as female pigs are discussed in this report with special emphasis on zoo-techniques.

Artificial insemination, estrous synchronization, ovulation induction, synchronization of farrowing.

Az üzemi management része a szaporítási, szaporodás-biológiai munka, amely a közepméretű és nagyüzemekben ma már elképzelhetetlen a biotechnikai beavatkozások nélkül.

A szaporítás biotechnikája magába foglal minden, az optimális zootechnikai feltételeken alapuló eljárást, ami tervszerű beavatkozás a szaporodás fiziológiai folyamatába, a szaporodási események teljesítmény-biztosítása, -növelése és időbeni szabályozása céljából (*König*, 1973).

A beszámolóban röviden ismertetjük a mindennapos gyakorlatban használt biotechnikai beavatkozásokat, a különleges esetekben alkalmazott szaporítási eljárásokat és azokat a megoldásokat, amelyek ma még a tudományos érdekesség csoportjába tartoznak.

Hímivar

A mesterséges termékenyítés az 1960-as, '70-es évektől terjedt el hazánkban.

A hímivar tekintetében a mai napig ez a forradalmi biotechnikai eredmény, amely feltételezi a megfelelő genetikai háttérrel rendelkező, helyesen felnevelt és használatban tartott kanállományt, szakszerűen alkalmazott spermavételi, spermavizsgálati és -kezelési eljárást.

Tenyésztés-higiénia (nemi úton terjedő fertőző betegségek megelőzése), ökonómia (apaállatok jobb kihasználása, kevesebb apaállat igénye), genetika (örökletes hibákat hordozó apaállatok kiszűrése, legértékesebb apaállatok genetikai potenciáljának hatékony felhasználása) előnyei közismertek, a továbblépés lehetőségei valószínűleg a korszerű hígítóknban, számítógépes sperma- és spermium-vizsgáló eljárásokban, szexáló berendezésekben, sperma mélyhűtés fejlesztésében kell keresnünk.

Nőivar

A nőivar esetében fokozottan igaz, hogy a biotechnikai eljárások sikerét a zootechnikai módszerek készítik elő, növelik az eredményességet, hiányuk vagy szakszerűtlen alkalmazásuk a biotechnika alkalmazását kudarcra kárhoz-

tatja. A biotechnikai beavatkozások gerincét a különféle hormonkezelések alkotják, amelyek a ciklikus nemi működést befolyásolják. Ezek a fejlett állattenyésztéssel rendelkező országokban — készítmények szerint — eltérő elbírálás alá esnek.

A nemi ciklusban lévő kocasüldők kezelésekor, ivarzás szinkronizálásáról és ovuláció indukcióról beszélünk. Több száz kocás telepen, a beállításra kerülő süldők különböző időpontokban ivarzanak, itt nagyon fontos a csoportos ivarzás elérése.

A tüszőfejlődés és -repedés a gonadotrop (LH, FSH) és szteroid (progeszteron, ösztradiol) hormonok arányváltozásainak eredményeként jön létre: a tüszőfázisban a follikulusok csökkenő FSH és progeszteron, emelkedő ösztradiol és LH-szint mellett szelektálódnak az ovulációra.

Alapvetően két stratégia köré csoportosulnak a jelenlegi módszerek:

— A tüszőfázisban gonadotropokat, nevezetesen PMSG-t applikálunk, amelynek FSH és LH hatása is van. Ezzel a megerősített gonadotrop forrással a szelektálható tüszők számát növeljük.

— A másik fő stratégiai irány a sárgatest fázis korai szakaszában adott FSH készítmény, amely a kiválogatódó tüszők számát gyarapítja. Egyelőre nem gyakorlatias eljárás, a bőr alá ültetett (injektált) ozmotikus pumpa segítségével valósítható meg, amely 1 hetes folyamatos FSH adagolást biztosít.

Jelenleg az első módszer terjedt el a gyakorlatban. Jelentős problémát okoz, hogy meg kell előznie egy tartamkezelés, amely blokkolja a trop hormonok kibocsátását, elnyújtja a sárgatest fázist, és a kezelés megszüntetésekor a kocasüldő-csoport azonos időben lendül a ciklus tüszőfázisába. Ez a tartamkezelés az altrenogeszt hatóanyaggal (amely progesztagén) történik, de időről időre felmerül a teratogenitás gyanúja.

A jövőt valószínűleg a hipotalamuszban termelődő gonadotrop releasing hormon szintetikus változatai jelentik, amelyek felezési ideje igen gyors, alkalmazásuk semmilyen szempontból nem aggályos.

A tenyészetten termékenyített állatok fialását követő helyesen végrehajtott választás, olyan zootechnikai eljárás, amely további biotechnikai beavatkozás nélkül már szinkronizálja a következő ivarzást. Ha hormonkezelésre van szükség, a tenyészanyag kiválasztása, a felnevelés és takarmányozás, a nemi működés zootechnikai szabályozása területén kell az anomáliák okát keresnünk.

A beállításra kerülő kocasüldők ivarzásának elmaradása súlyos, sajnos gyakran előforduló jelenség az iparszerű sertéstelepeken. Az intenzív sertésfajták nőivarú egyedei 180-200. napos kor körül érik el a pubertást. Hangsúlyoznunk kell, hogy ez még nem jelent tenyészérett állapotot, az életkoron kívül komoly jelentőséggel bír a megfelelő (kb. 100 kg-os) testsúly és a 2., 3. megfigyelt ivarzás, amelyet követhet a termékenyítés. Az állományszintű anösztrusz előfordulásakor csak tűzoltásszerűen végezhetjük el azt a kezelést, amely a tartamkezelést leszámítva, megegyezik a ciklizáló kocasüldők hormonkezelésével.

A rendszerváltás óta egyre nagyobb igény támad a módszer alkalmazására. Nagyüzemi és háztáji gazdaságokban is fokozódó hangsúlyt kap. Üzemekben kivédhető a hétvégére eső fialás, amikor sokszor nincs megfelelő szaktudású gondozó a telepen, a kiegészítő tevékenységként sertést tartó gazdálko-

dóknál pedig éppen az otthon töltött (pl. munkaszüneti) napok felé lehet terelni a fialás időpontját.

Ebben a fajban a magzati és anyai oldalról egyaránt indukálható a fialás. Előbbi esetben a vemhességi idő végén a magzatot ért stressz következtében, a magzati mellékvesében keletkező hormonokat szimuláljuk az applikált glükokortikoidokkal, utóbbinál, a kocában, a vemhesség végéig szükséges sárgatesetet oldjuk. A kifejezett munkaszervezési előnyök ellenére sem szabad megfélekezni arról, hogy — természetesen pontosan ismerve a termékenyítés és várható fialás időpontját — az ellést egy, legfeljebb két nappal hozhatjuk előre.

Ma még nem tartoznak a sertéstelepi mindennapokba, de várható, hogy a jövőben — bizonyos területeken — fokozódó jelentőséget kap az embrióátültetés, a petesejt-aspiráció és a különböző biotechnológiai beavatkozások.

Szerzők címe: Rátky, J. – Egerszegi, I. – Sarlós, P.: Állattenyésztési és Takarmányozási
Authors' address: Kutatóintézet
Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.
e-mail: jratky@atk.hu
Brüssow, K.P.: Háziállat Biológiai Kutatóintézet
Research Institute for the Biology of Farm Animals
D-18196 Dummerstorf

A MESTERSÉGES TERMÉKENYÍTÉS SZEREPE A LÓTENYÉSZTÉSBN

NÉMETH CSABA

SUMMARY: THE ROLE OF ARTIFICIAL INSEMINATION IN HORSE BREEDING

The development of a network of artificial insemination stations began in Hungary in the middle of the 1990s. Currently, more than 4000 mares have already been inseminated at 39 artificial insemination stations

A lótenyésztés átfogó fejlesztése, a mesterséges termékenyítés széleskörű alkalmazása nélkül megoldhatatlan. A kiváló javító hatású fedezőménnek megfelelő tenyésztési kihasználása, az országos kanca vemhesülési eredmények növelése és a lóállomány szaporodásbiológiai állapotának javítása egyaránt igényli a mesterséges termékenyítő állomás hálózat minél szélesebb körű kiépítését.

A mesterséges termékenyítés országos szintű alkalmazásában, lótenyésztésünk élen járt. Az 50-es évek végén, a 60-as évek elején, a termékenyített kancák száma évente meghaladta a 10 000-et.

A központi szándék megváltozásával azonban, a 60-as évek közepére, a mesterséges termékenyítés gyakorlatilag megszűnt a lótenyésztésben. Néhány szakember ápolgatta csak az összegyűlt ismeretek forrását, és így az ő munkásságukra alapozva a 90-es években nem kellett nulláról indítani az ismét aktuálissá váló mesterséges termékenyítést.

A 90-es évek közepétől, a központi támogatási források segítségével, nagy lendületet kapott a mesterséges termékenyítő hálózat kiépítése. Mára már 39 állomáson több mint 4 000 kancát termékenyítenek. Megkezdődött a ló mesterséges termékenyítő állomásokról a korszerű tenyésztési centrumok kialakítási folyamata.

Szerző címe: Országos Mezőgazdasági Minősítő Intézet
Author's address: National Institute for Agricultural Quality Control
H-1024 Budapest, Keleti Károly u. 24.

A CSIKÓSZAPORULAT EMELÉSE MŰVI ELJÁRÁSOKKAL

BALOGH ATTILA

Felgyorsult a világ, a célok megvalósításához szükséges idő minimalizálására törekszünk, eredményorientáltságunk minden eddiginél kifejezettebb. A rideg ménesi tartást modernebb tenyésztési eljárások váltották föl.

Az új kor igénye a szelekciós nyomást tovább fokozza. Alapvető követelménynek vált, hogy rendszeres vizsgálatok segítségével, a szaporodásbiológiailag problémás egyedeket ki lehessen szűrni. A szűrés hatására ezen egyedek helyett más egészséges állatok kerülnek tenyésztésbe, így a populáció azonos szülő egyedszám mellett nagyobb szaporulatot produkál. További eredmény, hogy a szaporodásbiológiai problémák idejében regisztrálhatók, ezzel a gyógyulás esélyei nőnek.

A szelekciós nyomás által indukált következő lépés az egészséges egyedektől várható utódszám növelése. Ebben a megfelelő tartási és takarmányozási technológiák mellett nagy szerep jut a különböző művi szaporítási eljárásoknak;

A kancák próbáztatás melletti rendszeres vizsgálatával (célja a folyamatos egészségügyi szűrés és az ivarzádetektáció) és esetleges gyógyszeres manipulációjával, még a természetes fedeztetéssel is, akár triplájára emelhető az egy ménhez beosztott kancák száma.

A mesterséges termékenyítés alkalmazásával ez az arány tovább növelhető.

A természetes fedeztetés alkalmazásához képest, az egy ménhez beosztható kancák száma, friss spermás inszeminálással, hatszorosára emelkedhet.

Abban az esetben, ha a mén örökítő anyagát már annak aktív sportkarrierje alatt, és később a tenyésztésbe vétel után, a fedeztetési idényen kívül mélyhűtéssel konzerválják, az egy szezonban termékenyíthető kancák száma 8–10-szeres lehet. A technológia másik előnye, hogy a mén értékes genetikai tulajdonságairól, annak halála után sem kell lemondani.

A nőivarra gyakorolt szelekciós nyomást embrióátütetéssel lehet növelni.

Segítségével az egy kancától, egy évben születendő csikók száma már jelenleg is megháromszorozható. Azoktól a kancáktól is nyerhető így utód, amelyek még aktívan sportolnak vagy olyan szaporodásbiológiai zavarban szenvednek, amikor a nemi utak destrukciója már nem teszi lehetővé a vehem kihordását.

A jövőben, igény esetén, a ló fajban is elterjedhet az embriómélyhűtéssel kombinált embriódarabolás, mellyel egy értékes genetikai kombináció megismételhető. Ennek másik lehetősége a klónozás alkalmazása, melyet lovon még nem végeztek, de a juhon már megoldott a kérdés.

A rideg ménesi tartástól, a jövő szaporítási eljárásai felé, már hosszú a megtett út. A csikószaporulat további növelésével és az értékes genetikai kombinációk megismétlésével kapcsolatos tudományos eredmények, azonban egyre újabb lehetőségeket adnak a tenyésztők kezébe. Ezen új eljárások alkalmazása során figyelni kell arra, hogy nem körültekintő alkalmazásuk a génbázis redukciójával akár zsákutcába is vezethet! Egy kezdeti eredményesség után a kombinációs lehetőségek csökkenése elveheti a további fejlődés esélyeit.

Szerző címe: Nemzeti Lovarda
Author's address: National Riding School
H-1087 Budapest, Kerepesi u. 7.

BAROMFIFÉLÉK IVARSEJTJEINEK MÉLYHŰTÉSES TÁROLÁSA, MINT *EX SITU* GÉNMEGŐRZÉS

BARNA JUDIT — HIDAS ANDRÁS — SZALAY ISTVÁN — VÁRKONYI ESZTER

SUMMARY: CRYOPRESERVATION OF POULTRY GAMETES AS EX SITU GENE CONSERVATION METHOD

Conservation programmes of traditional poultry breeds in the Institute involve the in situ conservation work by keeping and maintaining the various species, breeds and varieties in nucleus populations, and ex situ conservation works such as cryopreservation of spermatozoa and early embryonic cells for maintaining the valuable genetic material. The paper describes the present research situation in the field of cryopreservation of poultry gametes.

A hagyományos magyar baromfifélék megőrzésére irányuló program, a 90-es évek elejétől, intézetünk alaptevékenységeként folyamatban van, és magába foglalja a régi magyar tyúkfélék 6 fajtájának (sárga, fehér és kendermagos magyar, valamint az erdélyi kopasznyakú három színváltozata), továbbá a parlagi pulykafajták közül a réz- és bronzpulykának, a fodrostollú magyar lúdnak, a fehér, illetve tarka magyar kacsafajtáknak, és a gyöngytyúk három színváltozatának fenntartását. Az *in situ* génmegőrzés az említett fajták eredeti tulajdonságainak, azaz génjeinek szelekció nélküli fenntartását jelenti kis populációkban, olyan tenyésztési program segítségével, amellyel a beltenyésztés elkerülhető (Szalay és mtsai, 2000). Vitathatatlan azonban, hogy az ilyen értékes állományok fenntartásának önmagában — a megőrzés szempontjából — nagy a kockázata, mivel természeti csapás, elemi károk, illetve különböző megbetegedések fellépésével, amelyek kritikus szint alá csökkenthetik a létszámot, folyamatosan számolnunk kell. Mindez felveti annak igényét, hogy egyéb, kevésbé kockázatos, bár technikailag bonyolultabb módon is próbáljuk őrizni a ritka géneket. Az *ex situ* génmegőrzés során az egyed ivarsejtjeit, esetleg csupán egyes szöveteit, illetve szövetdarabjait tároljuk — DNS-izolálás céljából — mélyhűtéses formában. Jelen munkában a madarak hímvarsejtjeinek és a korai embrionális sejtnek a fagyasztásos tárolási lehetőségeiről számolunk be.

Madárspermiumok fagyasztásos tárolása

Polge (1951) kakas-spermiumok fagyasztásának kidolgozása során véletlenül észlelte a glicerol krioprotektív hatását. A kriobiológiai kutatások megindulása tulajdonképpen e felfedezésnek köszönhető. Azóta az emlős ivarsejtek, illetve embrió fagyasztása sikeresnek mondható az ember és a legtöbb gazdasági haszonállat esetében, azonban a madár spermiumok elfogadható szintű fagyasztásos tárolásának megoldása még várat magára (*Graham és mtsai*, 1984). Ennek oka egyrészt az, hogy a baromfifélék mesterséges termékenyítését, mint szaporítási módot, csak nagyon szűk területen alkalmazzák, legtöbbször a munka-, pénz- és eszközigényességére hivatkozva, másrészt az emlősökétől eltérő szaporodás-életteni folyamatok (pl.: *in vivo* spermiumtárolás) nehezítik a

hatékony termékenyítést mélyhűtött ondóval. A baromfifélék spermiumainak fagyasztására irányuló komolyabb kutatások csak a 80-as évek elejétől kezdtek nagyobb lendületet venni, főként alapkutatói és génmegőrzési célokból (Buss, 1993). E kutatások a különböző mélyhűtési protokollok, a krioprotektánsok fajtái, hígítók és inszeminálási ütemezések területére terjednek ki. Napjainkra két fő irányzata alakult ki a madárspermiumok fagyasztásos tartósításának. A „nyugati” irányzat elsősorban glicerolt használ krioprotektánsként és a lassú, programozott hűtési technikát alkalmazza. Ezzel szemben a „keleti” irányzat az alternatív krioprotektánsok egész skálájával dolgozik (DMSO, DMA, EG, stb.), gyors módszerrel, a hígított mintákat közvetlenül folyékony nitrogénbe csepegtetve. Néhány baromfifaj esetében ez utóbbi egyszerű módszer hatásában felülmúlja a kontrollált lassú hűtési protokollt (!). A kakas-spermiumok fagyasztása esetén számos vizsgálat szerint a legjobb védőhatásúnak a glicerol bizonyult (Hammerstedt és Graham, 1992), hátrányos azonban kontraceptív hatása a petevezetőben, ezért inszeminálás előtt el kell távolítani a mintákból (centrifugálás, szűrés, stb.), ami tovább csökkenti a spermiumok túlélési esélyeit. Pulykaspermiumok fagyasztása esetén a DMSO használata kedvezőbb eredményt mutatott a glicerolénál (Sexton, 1981), a gácsérok, illetve a gúnarak spermiumai viszont a DMA és az EG védő hatására reagálnak jobban (Schramm és Hübner, 1989; Sakhasky, 1990). Az említett eredmények jól illusztrálják a tény, miszerint az egyes baromfifajok ondómélyhűtésére nem lehet egységes protokollt kidolgozni, és további kutatások szükségesek az egyes őshonos, ritka, illetve kihalással fenyegető madárfajok spermiumainak biztonságos megőrzése céljából. Az ezzel kapcsolatos kutatómunka másik iránya a mélyhűtés hatékonyságának becslése, ami a különféle spermium-funkciók *in vitro* tesztelésének kidolgozását jelenti, összehasonlítva az *in vivo* termékenységi vizsgálatokkal (Barna és mtsai, 2000). Hazánkban az erre irányuló kutatások végső célja egy baromfi-spermabank kialakítása.

Korai embrionális sejtek fagyasztása

Ellentétben a spermiumfagyasztás hosszabb múltjával, a korai embrionális sejtek mélyhűtéses tárolása, valamint a kimérák előállításának technikai kidolgozása meglehetősen új módszer (Naito és mtsai, 1992). Génmegőrzési szempontból e technika használata előnyösebb az ondómélyhűtésnél, mivel ez esetben a teljes genetikai anyag megőrizhető egy mintában. Az egész tojás lefagyasztása technikailag nehezen megoldható és nem gyakorlatias, ezért az embrionális sejtek fagyasztása látszik járható útnak a teljes genom megőrzése szempontjából. A termékeny, nem inkubált tojásban megtojáskor az embrionális fejlődés kb. 50 000 sejtés blasztodermális állapotban van (Eyal-Giladi és Kochav, 1976). Az embrionális sejtekből az utódok nyerésének elve a következő: a korai embrionális sejteket kiemeljük a tojásból, majd meghatározott fagyasztási és felengedési protokoll után egyszerű sejtsuszpenzió formájában egy ugyanolyan fejlődési stádiumban levő recipiens tojás csírákorongjába injektáljuk. Az átültetett sejtek lehetnek blasztodermális sejtek (Reedy és mtsai, 1995; Várkonyi és mtsai, 1995; Kino és mtsai, 1997), vagy egy későbbi — kb. 50 órás inkubálás utáni — fejlődési szakaszban levő embrióból származó őscsírasejtek, amelyek szomatikus előfutárai a hím-, illetve a női ivarsejteknek

(Naito és mtsai, 1994). Utóbbiak kinyerése az embrionális keringésből történik, bár bonyolultabb technikával, de nagyobb hatékonysággal működik az ivarszer-
vi kimerizmus szempontjából, összehasonlítva a még nem annyira differenciá-
lódott blasztodermális sejtekkel. Az említett technikák kidolgozása napjaink
fontos kutatási feladata, alkalmazásuk a baromfi *ex situ* génmegőrzésében
elkerülhetetlennek tűnik, említett előnyei miatt.

IRODALOM

- Barna, J. – Do thi Dong Xuan, K. – Szalay, I.(2000): Preliminary study on the *in vivo* sperm transport in goose. Proc. 14th Int. Conference on Animal Reproduction. Stockholm, Sweden, 1. 114.
- Buss, E.G.(1993): Cryopreservation of rooster sperm. Poultry Sci., 72. 944–954.
- Eyal-Giladi, H. – Kochav, S.(1976): From cleavage to primitive streak formation: a complementary normal table and a new look at the first stage of development of the chick. I. General morphology. Developmental Biology, 49. 321–337.
- Graham, E.F. – Schmel, M.L. – Deyo, R.C.M.(1984): Cryopreservation and fertility of fish, poultry and mammalian spermatozoa. Proc. 10th Technical Conference on AI and Reproduction. Columbia, MO, 4–27.
- Hammerstedt, R.H. – Graham, J.F.(1992): Cryopreservation of poultry sperm: the enigma of glycerol. Cryobiology, 29. 26–40.
- Kino, K. – Pain, B. – Leibo, S.P. – Cochran, M. – Clark, M.E. – Etches, R.J.(1997): Production of chicken chimeras from injection of frozen-thawed blastodermal cells. Poultry Sci., 76. 753–760.
- Naito, M. – Nirasawa, K. – Oisi, T.(1992): Preservation of quail blastoderm cells in liquid nitrogen. Br. Poultry Sci., 33. 449–453.
- Naito, M. – Tajima, A. – Tagami, T. – Yasuda, Y. – Kuwana, T.(1994): Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable offspring. J. Repr. Fertility. 102. 321–325.
- Polge, C.(1951): Functional survival of fowl spermatozoa after freezing at –79 °C. Nature, 167. 949–950.
- Reedy, S.E. – Leibo, S.P. – Clark, M.E. – Etches, R.J.(1995): Beyond freezing semen. Proc. of 1st International Symposium on the AI of Poultry. Poultry Science Ass. Savoy, 251–261.
- Sakhasky, N.I.(1990): Preservation of poultry germplasm. Doctoral thesis, Ukrainian Poultry Res. Inst., Borky
- Schramm, P. – Hübner, R.(1989): Konservierung von Geflügelsperma. Arch. Tierzucht, 32. 51–61.
- Sexton, T.J.(1981): Development of a commercial method for freezing turkey semen. Effect of prefreeze techniques on the fertility of frozen and frozen-thawed semen. Poultry Sci., 60. 1567–1572.
- Szalay, I. – Barta, I. – Barna, J. – Kisné, Do thi Dong Xuan – Lennert, L. – Hidas, A.(2000): Poultry genetic resources – the Hungarian poultry breed collection. Proc. of 5th Global Conference on the Conservation of Domestic Animal Resources, Brazilia
- Várkonyi, E. – Hidas, A. – Szalay, I.(1995) Production of chicken chimeras by blastoderm cell transfer. Proc. 1st Egyptian Hungarian Conference, Alexandria, Egypt. 1. 10–13.

Szerzők címe: Barna, J. – Hidas, A. – Várkonyi, E.: Kisállattenyésztési és Takarmányozási
 Kutatóintézet
 Istitute for Small Animal Reseach
 H-2100 Gödöllő, Pf. 417.
 Szalay, I.: Magyar Kisállatnemesítők Génmegőrző Egyesülete
 Association of Hungarian Small Animal Breeders for Gene Conservation
 H-2101 Gödöllő, Isaszegi u. 208.

SZAPORODÁSBIOLÓGIAI TEENDŐK AZ ÁLLATKERTBEN

MEZŐSI LÁSZLÓ

SUMMARY: REPRODUCTIVE BIOLOGY WORK AT THE ZOO

Zoo duties have recently been changed. On the one hand, there is a need to save some species from extinction and, on the other, there is no market for some species. To succeed in reproduction, one must ensure the proper coupling rate. This can pose problems in the case of some birds. Sex determination can be done by several methods (endoscopy, chromosome or DNA). Of the zoo's endangered species, rhinoceros and elephant reproductive potentials were evaluated. Fecal samples were collected to determine female ovarian activity by measuring progesterone metabolites. The reproductive organs of one male and one female rhino and two female elephants were examined by ultrasound. The male rhino's semen was collected by electro-ejaculation and evaluated. Different contraception methods are applied. Most frequently MGA implants are used for felids, bears and chimpanzees.

Az utóbbi időben nagymértékben megváltoztak az állatkerttel kapcsolatos elvárások.

Ez abból adódik, hogy igény van az állatkertben tartott és fokozottan veszélyeztetett állatok genetikai értékének megmentésére, másrészt bizonyos fajok esetében nincs kereslet az utódokra. A hatályba lépett állatvédelmi törvény jelentősen korlátozza a nagy területigényű állatok tartását és ezzel együtt a szaporítását is.

Ezek a körülmények részben változást idéztek elő a szaporodásbiológiai munkában. Gyakorlatilag ez azt jelenti, hogy bizonyos, nem szaporodó, de értékes fajokat szaporodásra bírjunk, más fajknál pedig korlátozzuk, vagy teljesen leállítsuk a szaporodást.

Köztudottan hím és nőstény egyedre van szükség a szaporodáshoz. Bizonyos madárfajok, főleg papagájfélék esetében az ivar megállapítása nem egyszerű. Tenyészpárok összeállításánál tudni kell, hogy valóban megfelelő-e az ivararány.

A külső jelek alapján nem azonosítható ivarú egyedek ivar-meghatározása történhet:

— sebészeti módszerrel: endoszkópos vizsgálattal (altatásban, kis metszéssel keresztül a hasüregbe helyezett gonád optika segítségével)

— laboratóriumi módszerekkel: szex kromoszóma vagy DNS alapján (vér, toll felhasználásával).

Veszélyeztetett állatfajok szaporodásbiológiai értékelése:

I. Szélesszájú orrszarvú (*Ceratotherium simum*)

Jelenlegi állomány egy-egy szaporodó korú hím és nőstény, melyek soha nem párosodtak, érdeklődést nem mutattak egymás iránt. Oka valószínűleg tartástechnológiai hiba. A lehetséges csere előtt, az állatok szaporodásbiológiai állapotának felmérése megtörtént.

Először a nőstény petefészek funkciójának megállapítására került sor a két éven keresztül gyűjtött bélsárminták progeszteron metabolit tartalmának ELISA módszerrel történő meghatározásával. Ennek alapján a petefészek szabálytalan időközű, de ciklusos működése derült ki.

Ez év őszén, egy az orrszarvú szaporodásbiológia területén nagy gyakorlattal rendelkező kutatócsoport a nőstény és a hím állat nemi szerveinek alapos ultrahangos vizsgálatát végezte el az altatott állatokon. Ennek során a petefészek cisztás elváltozását találták. Ennek kezelésére hormontartalmú implantátum került bőr alá beültetésre.

A hímtől electro-ejakulációval ondót vettek. A nyert sperma hígítás és elbírlás után mesterséges termékenyítésre előkészítve, mélyhűtésre került.

II. Ázsiai elefánt (*Elaphas maximus*)

Az állomány két nőstény, melyek eddig nem szaporodtak. 30 év körüli koruk szaporodásbiológiai szempontból meglehetősen magas.

Közel két éven keresztül bélsárminta gyűjtés történt a petefészek funkciójának megállapítása céljából, a progeszteron metabolitok meghatározására.

Az orrszarvú vizsgálatokkal egyidejűleg, az állatok bódítva, álló állapotban vizsgálatra kerültek. Végbélen keresztül, megtörtént a teljes nemi traktus ultrahangos értékelése.

Fogamzásgátlás

A nem kívánatos szaporodás megelőzéseként visszafordítható és végleges megoldás alkalmazható.

Legegyszerűbb megoldás a fogékony nőstény, ill. hím elkülönítése.

Nagyobb csapatban, a hímek kasztrációja lehetséges. A galléros pávián csapat vezér hímjén vasectomiát végeztünk, hogy az állat ne veszítse el másodlagos nemi jellegét.

Leggyakoribb módszerként, a nem kívánatos vemhességet, implantátum bőr alá történő beültetésével előzzük meg. Az implantátum melengestrol acetátot tartalmaz, szilikonba ágyazva. A hatás átlagosan két évig tart. Ezt alkalmaztuk a medve- és a macskafélék, továbbá a csimpánzok esetében.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar, Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék; Állatkerti és Vadállat Kutatóintézet Szaporodásbiológiai Osztály, Berlin; Országos Mesterséges Termékenyítő Rt., Gödöllő

Szerző címe: Fővárosi Állat- és Növénykert
Author's address: Budapest Zoo and Botanical Garden
H-1371 Budapest, Pf. 469.

SOME METABOLIC ASPECTS OF OVARIAN ACTIVITY IN OUT-OF-SEASON PROLIFIC MERINO EWES

NOVOTNI-DANKÓ, GABRIELLA — KULCSÁR, MARGIT — MAGYAR, KÁROLY — NIKOLIC, JUDIT — KÁTAI, LEVENTE — DOMBÓVÁRI, EMESE — HUSZENICZA, GYULA

ÖSSZEFOGLALÁS: SZAPORA MERINÓ ANYAJUHOK PETEFÉSZEK-MŰKÖDÉSÉNEK VIZSGÁLATA TAVASZI, TENYÉSZ-SZEZONON KÍVÜLI IDŐSZAKBAN

Az anyánként megtermelhető húsmennyiség a juhtenyésztés gazdaságosságának egyik meghatározó eleme. A hústermelés mértéke az egyedi hústermelő képesség fokozása mellett a szaporodóképesség javításával növelhető, ezért világszerte nagy az érdeklődés az anyák szaporodásbiológiai tulajdonságait befolyásoló tényezők jobb megismerése, illetve a szaporasági mutatók javítását célzó módszerek iránt.

Munkánk során műszeres diagnosztikai (laparoszópia) és endokrinológiai vizsgálmódszerek alkalmazásával követtük nyomon a szapora merinó anyajuhok petefészek működését szaporodásbiológiai szempontból legkritikusabbnak tekinthető tavasz végi — kora nyári időszakban.

The sheep is known as a strict seasonal breeder, entering oestrus in the autumn period. Today, however, many breeds may have cyclic ovarian function and so can show oestrus symptoms year round, also outside the breeding season. The main environmental effect determining this seasonality is the length of daylight (photoperiod), but some other factors, such as genetics, nutritional and management practices and social cues can also influence the ovarian pattern. The fertility in the spring and early summer breeding is usually lower, this imposes the need for alternative methods, such as hormonal treatments and biotechnological practices to increase the conception rate. Using prolific sheep breeds is one of the possibilities to improve the meat production of the sheep flocks (*Haresign, 1985; Quirke and Hanrahan, 1985; Rhind et al., 1985; Webb and Gauld, 1985; Stabenfeldt and Edqvist, 1990*). In Hungary, the booroola fecundity gene (FecB gene) was transferred to Hungarian Merino and a new breed, the Prolific Merino, was bred. Prolific Merino ewes can be mated not only in autumn, but also out of the season. However, in this time their fertilization depends on their ovarian cyclicity, pre-determined by the nutritional and metabolic status of the individual (*Magyar et al., 1999*).

The techniques for artificial insemination (AI) of sheep with fresh-extended semen have been available and become widely used for many years. However, the cooling-freezing-thawing procedure is known to traumatize the spermatozoa, resulting in their ultrastructural, biochemical and functional changes. Due to these consequences the cervical and uterine penetration of frozen semen is poor, so in case of transvaginal sperm deposition the fertility rate is unacceptably low in the ovine practice. To increase the sufficiency laparoscopy has evolved as one of the least invasive techniques for depositing frozen-thawed semen into the uterus of ewes (*Evans and Maxwell, 1987; Magyar et al., 1989*).

For following up the ovarian function the determination of progesterone (P4) levels in serially collected blood (serum or plasma) samples is a traditional method in many species of farm mammals, allowing us the objective distinction of cyclic from acyclic individuals (*Stabenfeldt and Edqvist, 1990; Magdus and Kulcsar, 1999; Huszenicza et al., 2001*). However, the regular collection of blood (7–10 days apart in 2–3 subsequent occasions, or 2–3 days apart for several weeks, depending on the aim of the study as well as on the species) is painful and stressful, therefore, alternative methods have been developed. Among them, assaying P4 from milk is the most traditional in animal husbandry, but this is possible only in lactating ruminants, mainly in dairy cows. Methods suitable for determination of P4 metabolites (called gestagen metabolites or progestogens) in fecal samples have also been developed for the estimation of ovarian status. This technique is based on the phenomenon that certain metabolites of P4 (first of all its various 20-oxo-, 20 α -OH-, 20 β -OH-, and 5 α - or 5 β -pregnane derivatives) are excreted with the bile through the gastrointestinal tract (*Schwarzenberger et al., 1996*). One of the monoclonal P4 antibodies produced by the team of Solti was demonstrated to crossreact significantly with some of these progestagens (*Siklódi et al., 1995*). So with certain modification of the original ELISA system used for blood plasma (*Nagy et al., 1998*), a method has been developed recently for assaying the gestagen metabolite level in fecal samples of different mammals including sheep (*Kulcsár et al., unpublished*).

In our trials involving both endocrine and laparoscopic methods we wanted to study in out-of-season Prolific Merino ewes (1) whether the gestagen metabolite determination from fecal samples is a suitable method to distinguish the cyclic and acyclic ewes, and if so, what is the rate of individuals with cyclic ovarian activity, (2) what is their ovarian reaction to the standard (synthetic gestagen + PMSG based) cycle synchronization / induction technique, and (3) whether there are any connections between their ovarian function [e.g. acyclic vs. cyclic character, as well as the after-treatment ovulation rate (OR)], the fertilization and the circulating levels of certain hormones reflecting the energy supply/balance [insulin, insulin-like-growth factor-I (IGF-I), tiroxin (T₄), triiodine-tironin (T₃)] and/or the total body fat content (leptin).

The trials were carried out in an experimental flock of Prolific Merino ewes (Debrecen University, Faculty of Agricultural Sciences, Debrecen–Kismacs) in the spring period (April–May). 37 ewes were randomly chosen for the study. They were 2–9 years old, and mostly homozygous FecB gene carriers (60%). The animals were usually kept on a pastureland daytime. In addition ad libitum alfalfa hay was available for them when they were housed. In a 3-week period prior to and during the cycle synchronization/induction procedure, also an additional energy source (0.4 kg/day grits of maize-oat-rye mixture) was provided for each ewe (flushing period). The body weight (BW) of animals was measured just before and at the end of this flushing period. The cyclic ovarian function was synchronized / induced by a standard 11-day long synthetic P4 (Fluorogestone, Chronogest sponge[®], INTERVET International, Angers, France; dose: 30 mg) treatment, completed with PMSG (Folligon[®], INTERVET International,

Angers, France; dose: 625 IU) administration at the time of the gestagen removal. About 60 hours later the ewes were inseminated with frozen-thawed semen deposited intrauterinely through laparoscopy. The number of corpora lutea (CL-s) was counted 7 days later by a second laparoscopy. The laparoscopies were preceded by 48 and 24 hours long feed deprivation, respectively.

During the study blood samples were collected into heparinized tubes from the jugular vessel 6 times: 11 days before and simultaneously with the gestagen insertion (samples 1 and 2), at the time of AI (sample 3), and again 7, 44 and 100 days later (samples 4–6). With the exception of sampling at AI also fecal samples were taken from the rectum simultaneously. The blood samples were centrifuged immediately. The harvested plasma, as well as the fecal samples were stored at -20°C until. The P4 and gestagen metabolite levels were determined from all the available plasma and fecal samples with ELISA methods. The plasma samples taken on the 12th day of the flushing period (sample 2; collected before the morning feeding) and at the time of the AI (sample 3; collected after 48 hours feed deprivation) were assayed also for leptin, insulin, IGF-1, T_4 , and T_3 with ^{125}J -RIA methods. All the analytical processes were validated for ovine samples.

The plasma P4 concentrations and fecal gestagen metabolite levels were in significant positive correlation ($r=0.816$; $P<0.01$), reflecting the same tendencies. If ≥ 1.00 nmol/l plasma P4 level and ≥ 5.00 nmol/g fecal steroid content were considered as a proof of luteal activity, the overwhelming part ($n=174=97\%$) of the evaluated sample pairs ($n=174$) gave the same results concerning the presence or absence of P4 producing tissue (CL, or 100 days after AI: placenta).

Simultaneously with the AI the plasma P4 levels varied between the detection limit and 1.09 nmol/l (in those found to be pregnant later: between 0.26 and 0.80 nmol/l). 7 days after AI CL related plasma P4 and fecal gestagen metabolite elevation was detected in all of the ovulated animals. Unfortunately however, neither the plasma P4 nor the fecal gestagen metabolite levels determined were suitable for estimation of the number of CL-s formed. At that time the plasma P4 level of those found to be pregnant later was higher than that of ovulated, non-pregnant ewes. No similar difference was seen in the fecal gestagen metabolite content. 44 and 100 days after AI both the plasma P4 and fecal gestagen metabolite levels were elevated in the pregnant ewes. Due to their limited number available, however, no differences related to the placental mass and amount of intrauterine fetuses could be evaluated.

Based on the plasma P4 levels we established, that a significant rate ($n=21=57\%$) of our out-of-season Prolific Merino ewes had cyclic ovarian function (e.g. $P4\geq 1.00$ nmol/l reflecting luteal activity in at least one of the samples 1 and 2) in the late April-May period of the study. After the standard synthetic gestagen + PMSG treatment all of the cyclic and 14 of the 16 acyclic ewes ovulated (OR=1–13). The means of OR were almost the same in both groups, however, showed less variable character in cyclic ewes (4.3 ± 1.8 vs. 4.0 ± 3.6 in cyclic and acyclic animals, respectively; $P=0.731$). 7 days after AI the cyclic ewes had more profound luteal activity, which was reflected by plasma P4 (but

almost not by fecal gestagen metabolite) levels (6.94 ± 2.79 vs. 5.07 ± 2.79 nmol/l; $P=0.027$ and 13.27 ± 3.61 vs. 12.48 ± 5.59 nmol/g; $P=0.621$ in cyclic and acyclic animals, respectively). The pregnancy rate remained unexpectedly low (22%). However, more than 40% of the cyclic, and only 5% of the acyclic ewes conceived (number of pregnant: 7 of 21 vs. 1 of 16, $P<0.05$; number of fetuses: 1–4 vs. 1 in cyclic and acyclic animals, respectively). The cyclic ewes had higher BW ($P<0.001$), and both on the 12th day of the flushing period (sample 2) and at the time of the AI (sample 3) were characterized by slightly more elevated circulating leptin ($P=0.184–0.154$) and significantly more increased IGF-I and insulin levels ($P=0.016–0.076$) than their acyclic flock mates.

Also slightly higher T_3 (but not T_4) levels were determined in the samples 2 of cyclic animals ($P=0.161$). Later, however, — due to the preceding 48-hour-long feed deprivation — significant reduction was seen in circulating T_3 of both groups of animals, so this difference between the acyclic and cyclic individuals disappeared until the time of AI. On day 12 of the flushing period the ewes with OR 1 and 2 later showed lower plasma insulin levels than those with higher OR. Surprisingly, no similar tendencies were found in circulating levels of any other metabolic hormones, and even this difference in insulin level was overridden by the 48-hour-long feed deprivation until the time of AI. During the flushing period the ewes found to be pregnant later gained more BW than those not conceived (4.0 ± 1.0 vs. 2.4 ± 1.3 kg, respectively; $P<0.001$), so before the AI their BW and IGF-I levels were significantly higher than the non-pregnant flock mates (40.5 ± 4.8 vs. 36.6 ± 5.3 kg; $P=0.074$, and 17.46 ± 5.96 vs. 13.36 ± 3.86 nmol/l; $P=0.087$ in pregnant and non-pregnant, respectively).

It can be concluded that the ELISA determination of gestagen metabolite content in fecal samples is a useful diagnostic technique in reproductive care in sheep, which is suitable to replace the plasma P4 assays with the advantage of its less stressful and painful sampling process.

In agreement with earlier findings in cattle (*Pethes et al.*, 1985; *Robinson*, 1990; *Beam and Butler*, 1999; *Huszenicza et al.*, 2001), pig (*Robinson*, 1990; *Barb et al.*, 1999) and sheep (*Gunn*, 1983; *Robinson*, 1990; *Downing and Scar-amuzzi*, 1991; *Adam et al.*, 1997; *Bocquier et al.*, 1998) the observed tendencies in BW as well as in circulating levels of certain metabolic hormones confirm clearly that the good body condition and abundant nutrient (mainly energy) supply can be considered as one of the main factors influencing the rate of cyclic individuals, the OR and also the chance for conception in out-of-season Prolific Merino ewes.

Although some tendencies in their levels must have been overridden by the unusual, 48-hour-long feed deprivation until the time of AI, the physiological and diagnostic importance of insulin, IGF-I, T_3 and perhaps also of leptin were improved also in the current study.

ACKNOWLEDGEMENT

We express our thanks the staff of the Prolific Merino sheep farm (Debrecen University), the endocrine laboratory of the Dept. of Obstetrics and Reproduction (Faculty of Veterinary Science, Szent István University), as well as of the Debrecen Veterinary Institute for their technical assistance. The study was carried out with the financial support of the OTKA/T025 784 and FKFP 025/2000 projects.

REFERENCE

- Adam, C.L. – Findlay, P.A. – Hotston Moore, A.(1997): Effects of IGF-1 on LH secretion in sheep. *Anim. Reprod. Sci.*, 50. 45–56.
- Barb, C.R. – Barrett, J.B. – Krealing, R.R. – Rampacek, G.B.(1999): Role of leptin in modulating neuroendocrine function: a metabolic link between the brain, pituitary and adipose tissue. *Reprod. Dom. Anim.*, 34. 111–125.
- Beam, S.W. – Butler, W.R.(1999): Effects of energy balance on follicular development and first ovulation in postpartum dairy cows. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 54. 411–424.
- Bocquier, F. – Bonnet, M. – Faulconnier, Y. – Guerre-Millo, M. – Martin, P. – Chillard, Y.(1998): Effects of photoperiod and feeding level on perirenal adipose tissue metabolic activity and leptin synthesis in the ovariectomized ewe. *Reprod. Nutr. Dev.*, 38. 489–498.
- Downing, J.A. – Scaramuzzi, R.J.(1991): Nutrient effects on ovulation rate, ovarian function and the secretion of gonadotrophic and metabolic hormones in sheep. *J. Reprod. Fert., Suppl.* 43. 209–227.
- Evans, G. – Maxwell, W.M.C.(1987): Salamos's artificial insemination of sheep and goats. Sydney, Butterworths
- Gunn, R.G.(1983): The influence of nutrition on reproductive performance of ewes. In: *Haresign, W.* (ed.): Sheep production. Butterworth, London, 99–110.
- Haresign, J.(1985): Endocrine basis of seasonal anestrus in sheep. In: *Ellendorff, F. – Elsaesser, F.* (eds): Endocrine causes of seasonal and lactational anestrus in farm animals. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 6–18.
- Huszenicza, Gy. – Kulcsár, M. – Nikolic, J.A. – Schmidt, J. – Korodi, P. – Katai, L. – Dieleman, S.– Ribiczei-Szabo, P. – Rudas, P.(2001): Plasma leptin concentration and its interrelation with some blood metabolites, metabolic hormones and the resumption of cyclic ovarian function in postpartum dairy cows supplemented with monensin or inert fat in feed. In: *Diskin, M.G.* (ed.): Fertility in the high-producing dairy cow. British Society of Animal Science (Edinburgh, United Kingdom), Occasional publications, 26. 2. 405–409.
- Magdus, M. – Kulcsár, M.(1999): Klinikai endokrinológia. In: *Gaál T.*: Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. Sík Kiadó, Budapest, 241–285.
- Magyar, K. – Veress, L. – Komlósi, I.(1989): Laparoscopic intrauterine insemination of sheep with deep-frozen semen. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 44. 475–477.
- Magyar, K. – Veress, L. – Tasi, Zs. – Pécsi, T. – Babik, S. – Horváth, I.(1999): Zootechnical and genetic aspects of a prolific merino program *Act. Vet. Hung.*, 47. 17–31.
- Nagy, P. – Solti, L. – Kulcsár, M. – Reiczigel, J. – Huszenicza, Gy. – Abaváry-Mihály, K. – Wöfling, A.(1998): Progesterone determination in equine plasma using different immunoassays. *Acta Vet. Hung.*, 46. 501–513.
- Pethes, G. – Bokori, J. – Rudas, P. – Frenyo, V.L. – Fekete, S.(1985): Thyroxine, triiodothyronine, reverse-triiodothyronine, and other physiological characteristics of periparturient cows fed restricted energy. *J. Dairy Sci.*, 68.1148–1154.
- Quirke, J.F. – Hanrahan, J.P.(1985): Breed differences in the breeding season in sheep. In: *Ellendorff, F. – Elsaesser (eds): Endocrine causes of seasonal and lactational anestrus in farm animals.* Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 29–43.
- Rhind, S.M. – Leslie, I.D. – Gunn, R.G. – Doney, J.M.(1985): Plasma FSH, LH, prolactin and progesterone profiles of Cheviot ewes with different levels of intake before and after mating, and associated effects on reproductive performance. *Anim. Reprod. Sci.*, 8. 301–313.
- Robinson, J.J.(1990): Nutrition in the reproduction of farm animals. *Nutr. Res. Reviews*, 3. 253–276.
- Schwarzenberger, F. – Möstl, E. – Palme, R. – Bamberg, E.(1996): Fecal steroid analysis for non-invasive monitoring of reproductive status in farm, wild and zoo animals. *Anim. Reprod. Sci.*, 42. 515–526.

Siklódi, B. – Barna-Vetró, I. – Solti, L.(1995): Latent immunization to produce high affinity monoclonal antibodies to progesterone. *Hybridoma*, 14. 79–84.

Stabenfeldt, G.H. – Edqvist, L.E.(1990): Female reproductive processes. In: *Swenson, M.J.* (ed.): *Duke's physiology of domestic animals*. Tenth edition, 3rd printing. Cornell University Press, 798–832.

Webb, R. – Gauld, I.K.(1985): Genetics and physiology of follicular recruitment and maturation in sheep during seasonal anestrus. In: *Ellendorff, F. – Elsaesser, F.* (eds): *Endocrine causes of seasonal and lactational anestrus in farm animals*. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 19–28.

Szerzők címe: *Novotni-Dankó, G. – Magyar, K.*: Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum
Authors' address: University of Debrecen, Faculty of Agricultural Science

H-4000 Debrecen, Böszörményi út 38.

Kulcsár, M. – Huszenicza, Gy. – Kátai, L.: Szent István Egyetem Állatorvos-
tudományi Kar

Szent István University, Faculty of Veterinary Science

H-1400 Budapest, Pf. 2.

Nikolic, J. A.:

Institute for the Application of Nuclear Energy

Banatska 31B, Y-11 080 Zemun, Jugoszlávia

Dombóvári E.: Szent István Egyetem, Agrártudományi Kar

Szent István University, Faculty of Agricultural Science

H-2103 Gödöllő, Práter K. u. 1.

EFFECT OF PHOTOPERIOD ON REPRODUCTION CYCLE AND POSTNUPTIAL MOULTING OF MUSCOVY DUCK (*CAIRINA MOSCHATA*)

SZŐKE ZSUZSA — KISNÉ DO THI DONG XUAN — PÉCZELY PÉTER

ÖSSZEFOGLALÁS: A FOTÓPERIÓDUS HATÁSA A PÉZSMARÉCE (*CAIRINA MOSCHATA*) SZAPORODÁSI CIKLUSÁRA ÉS POSTNUPTIALIS VEDLÉSÉRE

Kísérleteinkben arra kerestünk választ, hogy a trópusi eredetű pézsmaréce hogyan hat a mérsékelt övi (NAT) és a 12L-12D fotóperiódus. Vizsgáltuk a hím- és nőivarú állatok szaporodási ciklusát, valamint postnuptialis vedlését. Eredményeink azt mutatják, hogy a vizsgált pézsmaréce populáció esetében érvényesül a Farner-féle belső koincidencia elv, amely szerint a szaporodási ciklus megindulása fotóperiódus függő folyamat, lezárulását pedig a vedlés endogén ciklusa eredményezi. A 12L-12D és NAT csoport szaporodása eltérő időpontban indul, de azonos időpontban zárul. A vedlés viszont mind két csoportban, tehát a fotóperiódustól függetlenül, azonos időpontban indul és zárul is.

The muscovy Duck originates from equatorial South America, and has been bred in Europe since the 16th century. The adaptation levels of the European livestock have not been entirely understood. In this study, we examined how the equatorial, 12L-12D photo period and the natural (NAT) middle European photo period can influence the reproductive cycle and postnuptial moulting of these birds. We kept two groups of muscovy ducks from hatching under the two different photo period. Both groups were fed ad libitum and egg-production, moulting patterns and sexual activity of drakes were examined. In the 12L-12D group, egg laying started at the age of 28 weeks (end of February) while in the NAT group, it started at the age of 32 weeks (end of March). The beginning of egg production was strongly connected to the 12L photo period in both groups, but this can be affected by different mechanisms. In the 12L-12D group, the beginning of egg-production and the onset of sexual activity of the drakes coincided with their reaching adult body weight. Therefore, it seems possible that permanent 12-hour lighting can indirectly affect reproduction by optimising body weight. In the NAT group, the reproduction cycle starts when ambient lighting reaches 12-hour length. In this case, we can presume a direct photo-stimulation effect. Egg production finished at the age of 53–54 weeks (end of August) in both groups.

We examined the regulation of moulting by measuring (with RIA) the plasma levels of testosterone (T), progesterone (P4) and 17- β -oestradiol (E₂). The postnuptial moult started and finished in the same period in both group. Plasma P4 levels of drake-groups were very similar: high in the period before moulting, and then, concentrations decreased to a minimum level at the end of moulting. The kinetics of T-values were also very similar in both groups of drakes, but we observed a phase shift between them. T values were very high before moulting and decreased at the beginning of moulting, then had a peak level in the period of intensive outgrow of new feathers and finally fell suddenly by the end of moulting. P4 values of both female-groups were the highest before egg-laying

and a second peak level was observed at the beginning of moulting and the concentrations decreased at the end of moulting. Here we observed a phase shift too. T concentration of 12L-12D females showed a significant peak at the beginning of postnuptial moult, then it decreased in the period of intensive development of feather follicles. In this period the E2-concentration was very high. In females of NAT-group T values decreased before the egg-production, then showed a peak before the beginning of moulting. In both female-groups the E2-concentration decreased strongly before the egg-laying.

We can apply the internal coincidence-model of Farner in the case of Muscovy Duck kept in the two photo periods. Consequently, the beginning of reproductive cycle depends on the photo period, the on-effect is 12 hours lighting and the off-effect is the endogenous cycle of moulting. In both groups the reproduction starts in different periods, but it finishes at similar time. It seems very possible that moulting cuts free from the actual photo period, because it starts and finishes at the same period of the year in both experimental groups.

Szerzők címe: Szóke, Zs. – Péczely, P.: Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és
Authors' address: Környezettudományi Kar
Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
e-mail: szokefufi@freemail.hu
Kisné, Do thi Dong Xuan: Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Institute for Small Animal Research
H-2100 Gödöllő, Pf. 417.

ENDOCRINOLOGICAL STUDY OF DISPLAY BEHAVIOUR OF MALE GREAT BUSTARDS (*OTIS TARDA*) USING FAECAL STEROID ANALYSIS

BICZÓ, ANDRÁS — TARCSAI, GERGELY — KELEMEN, KÁROLY —
MÖDLINGER, PÁL — PÉCZELY, PÉTER

ÖSSZEFOGLALÁS: TÚZOK KAKASOK (*OTIS TARDA*) SZAPORODÁSI CIKLUSÁNAK ENDOKRI-
NOLÓGIAI VIZSGÁLATA FAECALIS SZTEROID ANALÍZISSEL

A vizsgálat tárgyát képezte, hogy milyen kapcsolat mutatható ki a túzok kakasok szaporodási viselkedése és a faecesből meghatározható szexuáliszteroidok koncentrációja között. A vizsgált szexuáliszteroidok jellegzetes szezonális és napszakos lefutást mutattak. A tesztoszteron és a dehidroepiandrosteron esetében mért koncentrációcsúcsok egybeestek a dűrgés szempontjából legaktívabb időszakokkal, míg a progeszteron és a 17- β -ösztradiol esetében ez fordítva alakult. Az eredményeket összehasonlítva egy korábbi, vérplazmából történő vizsgálattal az a következtetés vonható le, hogy a faecalis szteroid analízis, mint non-invazív módszer jól alkalmazható madaraknál a szexuáliszteroidok szintjének mérésére.

Display behaviour and testosterone (T), dehydroepiandrosterone (DHEA), 17- β -oestradiol (E_2) and progesterone (P4) content of faeces of 4 captive adult male Great bustards were studied at the beginning (14–15. March), at the peak period (21–22. April) and at the end of the sexual display season (29. June). As a control group, faecal samples of 2 immature males were analyzed. Sexual steroid content of the faecal samples (collected from 06:00–18:00 in the three phases of the display period) were measured with RIA, after alcalic hydrolysis, followed by etheric extraction (3x). 3H-T was added to each sample to evaluate the recovery of hydrolysis and the etheric extraction. Display behaviour (frequency and persistence) was detected without disturbing the birds.

T concentration was the most dominant in the faecal samples of the adult and the infantile males too. Daily fluctuation of steroid hormones was characteristic in the examined period. At the beginning of the display period faecal T content was high in the early morning and showed a second, smaller peak in the early afternoon, when DHEA and E_2 were also high. P4 produced a double peak at noon and in the early afternoon. At the peak level of display period a sharp increase and a bi-phasic character of T values (smaller morning and higher afternoon peaks) was observable. The unchanged DHEA produced relatively high late morning and noon levels, when T concentration was lower. At the same time P4 and E_2 content of faeces decreased. At the end of June, when display activity strongly decreased and neck moulting began the concentrations of all sexual steroids were the lowest. Against the detected low concentrations, two small elevation of steroids (at noon and in the early afternoon) is observable. In the faecal samples of immature males (samples were collected just in March) lower T and DHEA showed similar concentrations and all steroids produced an early afternoon peak.

We concluded that the analysis of faecal sexual steroids is an adequate method to study the hormonal background of sexual display behaviour of Great Bustard.

Szerzők címe: Biczó, A. – Tarcsai, G. – Kelemen, K. – Mödinger, P. – Péczely, P.:
Authors' address: Szent István Egyetem, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar
Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences
H-2103 Gödöllő, Páter K. u. 1.
e-mail: biczus@yahoo.com

MULTIKOLOR SPERMIVIZSGÁLATOK FLOW CITOMÉTER ALKALMAZÁSÁVAL

NAGY SZABOLCS —TOPPER, EINKO

SUMMARY: MULTI-COLOR FLOW CYTOMETRIC SPERM ANALYSES

A new fluorescent triple staining method was developed and tested under routine conditions for the simultaneous evaluation of sperm cell viability and acrosome integrity by flow cytometry. With this SYBR 14/PE-PNA/PI (SPP) combination spermatozoa and particles present in egg yolk-based extenders can be clearly distinguished.

The average difference between repeated flow cytometric SPP-measurements (d) was -0.7% , SD was 1.3% , the British Standard Institution repeatability coefficient ($2SD$) was 2.6% , indicating a high repeatability.

Method agreement analysis between SPP and the conventionally used FITC-PNA/PI showed that measurements by FITC-PNA/PI were on average 6.3% larger than measurements by SPP (SD 4.65%).

It can be concluded, that the SPP method is highly repeatable, more precise than the conventionally used fluorescent combinations are simple enough for routine application.

Az akroszóma és a plazmamembrán épségének egyidejű citométeres vizsgálatára leggyakrabban fluoreszein-izotiocianáttal konjugált lektin, mint például a FITC-PSA, vagy FITC-PNA, kontrasztfestékként a DNS-specifikus propidium-jodid (PI) használatos. FITC-PNA-val festve, az ép akroszómával bíró spermiumok nem, a sérült, vagy reaktált akroszómájú sejtek zölden fluoreszkálnak. PI-dal jelölve, az élő sejtek nem, az elhalt sejtek vörösen fluoreszkálnak. Tojássárgája-alapú hígítóval feldolgozott spermaminták vizsgálatokor problémát jelenthet, hogy a tojássárgája-cseppek és egyéb sejtörmelék hasonló morfológiai paramétereket mutat, mint a nem fluoreszkáló élő, ép akroszómájú ondósejtek, így a citométer túlbecsüli ezen spermium-szubpopulációt.

Vizsgálataink célja egy új, festékkombináció, a SYBR14/PE-PNA/PI (SPP) precizitásának megállapítása, és a rutinszerűen alkalmazott FITC-PNA/PI módszerrel való összevetése volt.

Egy holland mesterséges termékenyítő állomáson termelő holstein-fríz tenyészbikák ondóját használtuk kísérleteinkben. Az SPP módszer precizitásának vizsgálatára 10 bika két-két ejakulátumát vizsgáltuk. A termékenyítő adagokból 3-3 műszalmát futtattunk le, két ismétlésben. A tojássárgájának köszönhető mérési torzítás mértékének megállapítására FITC-PNA/PI festés használata esetén, 14, véletlenül kiválasztott, fagyasztott/felolvasztott spermamintán méréspárokat végeztünk FITC-PNA/PI és SPP festéssel. A méréseket felolvasztás után azonnal („0 óra”) és $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on három órás inkubációt követően („3 óra”) végeztük.

Az ismétlések közötti átlagos eltérés $d=-0,7\%$, a szórás $SD=1,3\%$, a British Standard Institution ismételtelhetőségi index $2SD=2,6\%$ volt, nagyfokú ismételtelhetőséget jelezve.

Az összes méréspár (0 óra és 3 óra) együttes értékelése azt mutatta, hogy a FITC-PNA/PI festékkombinációval átlag $6,3\%$ -kal becsüljük túl az élő, ép

akroszómájú spermiumok arányát (átlagos eltérés $d=6,33\%$, szórás $SD=4,65\%$).

A 0, illetve 3 óra inkubáció után végzett mérések külön elemzésekor kitűnt, hogy a FITC-PNA/PI módszer torzítása nagyobb inkubáció után ($d_{0\text{ óra}}=4,21\%$, $d_{3\text{ óra}}=8,44\%$).

Összességében megállapítható, hogy az általunk kidolgozott SYBR 14/PE-PNA/PI hármas festékkombináció flow citométerrel értékelve alkalmas az „élő, ép akroszómájú” spermiumpopuláció arányának becslésére, a módszer pontosabb a közismert FITC-PNA/PI kombinációnál, rendkívül precíz, és nem igényel olyan bonyolult minta-előkészítési lépéseket, amelyek a rutinszerű alkalmazást megnehezítenék.

Érkezett:

Szerzők címe: Nagy Sz.: Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Authors' address: Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés u. 1.
Topper, E.: ALTA Semen Collection Centre
Kleine Huisjes, The Netherlands

FLOW CITOMETRIA ALKALMAZÁSA A SPERMATOLÓGIAI KUTATÁSOKBAN

NAGY SZABOLCS

SUMMARY: APPLICATION OF FLOW CYTOMETRY IN SPERMATOLOGY

A non-exhaustive review is given on the possibilities of applying flow cytometry in spermatology studies, either research or routine.

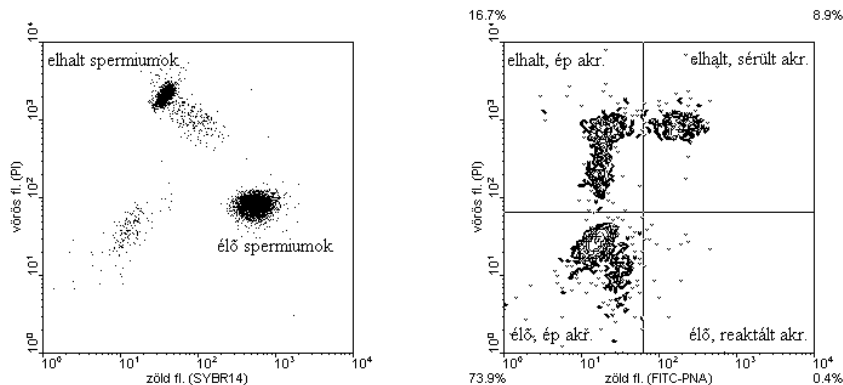
Examples are presented on investigations of membrane integrity (viability and/or acrosome integrity), mitochondrial activity, spermatozoa concentration and sperm chromatin integrity.

A flow citometria, vagy áramlási sejtanalízis rövid idő alatt nagyszámú sejt (10 000 sejt mintánként, másodpercenként akár 1000–2000 spermium) objektív értékelését teszi lehetővé.

Citométer segítségével értékelhető az élő és elhalt spermiumok aránya (Mátyus és mtsai, 1984; Szöllősi és mtsai, 1986b; Garner és mtsai, 1986, 1994; Pajor és Pásztory, 1991), az akroszóma integritása (1. ábra, Thomas és mtsai, 1997; Pena és mtsai, 1999ab; Szász és mtsai, 2000), a mitokondriumok épsége (Evenson és mtsai, 1982; Garner és mtsai, 1997), illetve a spermiumkoncentráció (Szöllősi és mtsai, 1986a; Evenson és mtsai, 1993).

Külön említést érdemel az ún. Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA, Evenson és mtsai, 1980), mely a spermiumok kromatin-állományának épségéről ad információt.

1. ábra: Spermium-citogramok. Az első, dot-plot citogramon élő és elhalt spermiumok szubpopulációi különböztethetők meg, a második, kontúr-citogramon az élő/elhalt státusz mellett az akroszóma integritása is értékelhető



IRODALOM

- Evenson, D.P. – Darzynkiewicz, Z. – Melamed, M.R.*(1980): *Sci.*, 240. 1131–1133.
- Evenson, D.P. – Darzynkiewicz, Z. – Melamed, M.R.*(1982): *J Histochem Cytochem*, 30. 3. 279–280.
- Evenson, D.P. – Parks, J.E. – Kaproth, M.T. – Jost, L.K.*(1993): *J. Dairy Sci.*, 76. 86–94.
- Garner, D.L. – Johnson, L.A. – Yue, S.T. – Roth, B.L. – Haughland, R.P.*(1994): *J. Androl.*, 15. 6. 620–629.
- Garner, D.L. – Pinkel, D. – Johnson, L.A. – Pace, M.M.*(1986): *Biol. Reprod.*, 34.127–138.
- Garner, D.L. – Thomas, C.A. – Joerg, H.W.*(1997): *De Jarnette J.M. and Marshall, C.E. Biol. Reprod.*, 57. 1401–1406.
- Mátyus, L. – Szabó, G. Jr. – Resli, I. – Gáspár, R. Jr. – Damjanovich, S.*(1984): *Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung.*, 19. 3–4. 209–214.
- Pajor, L. – Pásztor, Cs.*(1991): *Magyar Állatorvosok Lapja*, 46. 10. 593–598.
- Pena, A.*(1999): *Quintela LA and Herradón PG. Reprod. Dom. Anim.*, 34. 495–502.
- Pena, A.*(1999): *Johannison, A. and Linde-Forsberg. C. Therio.*, 52. 965–980.
- Szász, F. – Sirivaidyapong, S. – Cheng, F.P. – Voorhout, W.F. – Marks, A.*(2000): *Colenbrander, B. Solti, L. and Gadella, B.M. Mol. Reprod. Dev.* 55. 289–298.
- Szőllősi, J. – Takács, T. – Balázs, M. – Gáspár, R. – Mátyus, L. – Szabó, G. – Trón, L. – Resli, I. – Damjanovich, S.*(1986a): *Magyar Állatorvosok Lapja*, 41. 8. 459–463.
- Szőllősi, J. – Takács, T. – Balázs, M. – Gáspár, R. – Mátyus, L. – Szabó, G. – Trón, L. – Resli, I. – Damjanovich, S.*(1986b): *Magyar Állatorvosok Lapja*, 41. 12. 731–736.
- Thomas, C.A. – Garner, D.L. – De Jarnette, J.M. – Marshall, C.E.*(1997): *Biol. Reprod.*, 56. 991–998.

Szerző címe: Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
Author's address: Research Institute for Animal Breeding and Nutrition
H-2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

