

**Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola**

Awassi juhok ivari működésének szezonalitása

PhD értekezés tézisei

Dr. Faigl Vera

2012

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola
Budapest, Magyarország

Témavezetők:

† Prof. Dr. Huszenicza Gyula egyetemi tanár, DSc Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika
--

.....
Prof. Dr. Cseh Sándor
egyetemi tanár, DSc
Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

Az értekezés a Prof. Dr. Cseh Sándor elnökletével 2012. május 9-én tartott munkahelyi vita nyomán nyerte el végleges formáját.

.....
Dr. Faigl Vera

BEVEZETÉS

Tradicionális körülmények között a juhtejből készült termékek tipikus szezoncikk, amelyek előállíthatóságát a faj szaporodóképességének az évszakhoz kötött jellege a tavaszi - nyár eleji idő-szakra korlátozza. Ugyanakkor fontos piaci érdekek fűződnek az árútej-előállítás folyamatosságának a biztosításához. Kiskérődzőkben a tenyésztés-szezonon kívüli vemhesítés hagyományos eszközeinek számítanak a gesztagén+eCG használatán alapuló ciklusindukciós technikák. E módszerek tej-termelő juhászatokban is engedélyezettek ugyan, a növekvő fogyasztói elvárásokra tekintettel azonban fejtt állományokban napjainkban szerencsésebb tartózkodni a szexuáliszteroid hormonok tenyésztéstechnikai célú alkalmazásától. Alternatívaként a jövőben olyan állományok kialakítására célszerű törekedni, amelyen belül az anyák jelentős részének a petefészek-működése egész éven át – az őszi tenyésztés-szezonon kívül is – ciklikus, ami a hagyományos őszi mellett lehetővé teszi a tavaszi időszakban történő vemhesítést is. Elsősorban különböző merinó tenyésztésvonalakon végzett vizsgálatok alapján tudjuk, hogy juhban az egész éven át ciklikus petefészek-működésre való képesség genetikailag rögzült tulajdonság, amely – jelen idő tájt részleteiben nem ismert módon – kapcsolódik a melatonin receptor 1a (MT1) gén polimorfizmushoz (Pelletier és mtsai. 2000, Notter és mtsai. 2003). E képesség valós megnyilvánulását azonban számos tényező befolyásolja: ilyen az életkor, a tápláltsági állapot, bizonyos feromon-hatások. Az egész évben ciklikus petefészek-működésre képes genotípusokban új dimenziót nyerhetnek egyes régről ismert természetes, vagy természet-közelinek tekinthető tenyésztési technológiák – pl. az u.n. flushing, vasectomizált kosok anyák közé helyezésével biztosított feromon-expozíció, és/vagy a melatonin kezelés – alkalmazása is.

A fotoperiódusos jel mellett, hogy befolyással van a szezonális ivari működésű fajok nemi aktivitásra, a tejtermelésre is hat. Hosszú nappalos megvilágítás mellett nő a tejtermelés szarvasmarhában és kecskében is (Dahl 2000, Mabjeesh et al. 2007). Így felmerül annak lehetősége, hogy a juhokban ciklusindukciós céllal alkalmazott melatonin tartamkezelések csökkenthetik a tejhozamot fejtt állományokban.

Az ivari működés szezonálisitása hímelekben is megfigyelhető: évszaktól függően változik a kosok ivari viselkedése, a herék mérete, és a sperma minősége. Ahhoz, hogy a tenyésztés-szezonon kívül megfelelő szaporodásbiológiai eredményeket érjünk el, mindkét ivar kezelése szükséges. A tenyésztés-szezonon kívül alkalmazott melatonin implantátum kosokban is stimulálja a hipotalamusz-hipofízis-gonád tengelyt (Kennaway and Gilmore 1985, Lincoln and Ebling 1985, Bourla 1991, Chemineau et al., 1992) és egyben fokozza a koshatást (Rosa et al. 2000, Abecia et al. 2006a).

A vizsgált awassi juh egy zsírfarkú fajta, amely a Közel-Kelet száraz szubtrópusi övezetéből származik. Az Izraelben létrehozott Improved Awassi nyájakat egész éven át zárt istállóban tartják, és hormonkezelések alkalmazása révén különböző évszakokban folyamatosan elletik (Epstein, 1985). A bányákat 24 órán belül elválasztják és mesterségesen nevelik fel, az anyákat pedig naponta kétszer fejik. A juh fajta hazai körülmények között kiválóan alkalmas nagy tömegű árutej gazdaságos előállítására, vizsgálataink megkezdésekor a magyarországi juh árutej termelés több mint felét a vizsgált awassi állomány adta.

Ugyanakkor nem volt ismeretünk arról, hogy e fajta, illetve a hazai populáció egyedei képesek-e a szezonon kívüli ovulációra, az egész éven át ciklikus petefészek-működésre.

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során a hazai tejhasznosítású awassi populációban az ivari működés szezonális jellemzőit, és annak genetikai vonatkozásait, a melatonin receptor 1a (MT1) gén polimorfizmussal fennálló kapcsolatát kívántuk tanulmányozni. Emellett elemezni kívántunk egyes hormonális és nem-hormonális kezelések hatását a szezonális mértékére. A fenti kérdések megválaszolására az alábbi vizsgálatokat végeztük el:

1. A petefészek-működés ellés utáni ciklikussá válásának nyomon követése, az első ovuláció élettanilag lehetséges legkorábbi időpontjának, és az azt befolyásoló tényezőknek (az ellés évszaka, életkor, ellésszám, tejtermelés, metabolikus állapot, a nagy tejtermelés következtében esetlegesen előforduló: lipidmobilizáció, ketonémia) a meghatározása.
2. Az első vizsgálat eredményeiből kiindulva a második vizsgálat során az egyik beazonosított faktor (naphossz / világos órák száma) megváltoztatásának révén próbáltuk befolyásolni az ellés utáni első ovuláció idejét.
3. A tenyészszezonon kívül is ciklusos anyák arányának a meghatározása. Az acikliás és ciklikus petefészek-működésű anyák arányát befolyásoló tényezők (ellés évszaka, életkor, ellésszám, testtömeg, metabolikus állapot, tejtermelés, MT1 polimorfizmus) tisztázása.
4. Különböző ciklus-indukciós technikák hatékonyságának összehasonlítása eltérő évszakokban, különös tekintettel a melatonin kezelés és az úgynevezett Ov-Synch protokoll hatékonyságára.
5. A tenyészszezonon kívül alkalmazott hosszú hatású melatonin kezelés hatása mesterséges termékenyítésre használt awassi kosok spermatermelésére és a here endokrin működésére.
6. A fent leírt vizsgálatok eredményeire támaszkodva munkánkkal alapadatokat kívánunk szolgáltatni egy természetes, vagy természet-közeli módszereken alapuló szaporodásbiológiai technológia kialakításához.

SAJÁT VIZSGÁLATOK

1. és 2. kísérlet

Két egymást követő, egymásra épülő kísérletben vizsgáltuk a szezonális különbségeket a (i) petefészek működés ellés utáni ciklusossá válásában, (ii) a tejtermelésben, valamint (iii) az ellés körüli metabolikus állapot alakulásában bárányaikat nem szoptató awassi juhokban.

Vizsgálatainkat 1-11. laktációjú, szeptember-október (őszi) illetve február-március hónapban (tavaszi) 1-2 bányát ellett, bányáiktól az ellés után azonnal elválasztott, hosszabb időn át fejt awassi anyákban ($n_{\text{őszi}}=27$; $n_{\text{tavaszi}}=37$) végeztük. Az első ovuláció idejét az ellés utáni kb. 100. napig hetenként 3 alkalommal gyűjtött tejminták progeszteron (P4) koncentrációja alapján határoztuk meg. Az ellést megelőző héten, majd az ellést követő 1., 2., és 5. héten vérmintát gyűjtöttünk az állat energiaellátottságának mértékét tükröző egyes metabolitok [nem észterifikált zsírsav (NEFA), β OH-butirát (BHB)] és metabolikus hormonok [inzulin, inzulinszerű-növekedési faktor-I (IGF-I), thyroxin (T4)] meghatározására. Az őszi ellésű anyák váratlanul magas hányada (89%) már a 35. nap előtt ovulált, ezt követően pedig petefészekműködésük ciklikussá vált. A nem vemhesült egyedekben gyakori volt a sárgatest (CL) perzisztenciája (CLP; $n=5$), ill. a rövid tartamú CL-működés (sCL; $n=8$; közülük négyben mindkét rendellenesség előfordult). Ezzel szemben a tavaszi ellésűek közül csak 24% ovulált a 35. napot megelőzően. A ciklikussá vált PF-működésű egyedek CL fázisát viszonylag alacsony P4 szintek jellemezték, ill. a két CL fázis között eltelt idő hosszabb volt, mint az őszi időszakban megfigyelt. Ugyanakkor CLP, valamint sCL előfordulását egyetlen tavaszi ellésű állatban sem észleltük. A tavaszi ellésű anyák 61%-a a kísérlet végéig acikliás maradt. Az ellés körüli időszakban mért BHB, NEFA, T4, inzulin és IGF-I értékek a fajra jellemző élettani határok között maradtak, nem utaltak az energetikai egyensúly hiányára. Ugyanakkor az IGF-I és tiroxin szintek a tavaszi ellésű állatokban magasabbak voltak. A tavaszi ellésű állatok laktációja szignifikánsan hosszabb volt ($P=0,008$).

A második kísérletben a kiegészítő megvilágítás hatásait vizsgáltuk őszi ellésű anyákban. Az állatokat az üzemi technológiának megfelelően nyitott fészertárlókban helyeztük el. Néhány héttel a várható ellést megelőzően az állatokat két csoportra osztottuk. A kezelt és kontroll csoportot egymás melletti istállóban helyeztük el. A Fény csoportot ($n=23$) napnyugtától éjfélig mesterséges megvilágításnak tettük ki, így körülbelül 16 óra világos - 8 óra sötét váltakozott. A Kontroll csoport ($n=25$) nem részesült kezelésben (csak természetes megvilágítás).

A Fény csoportban az első ovuláció később következett be, a Kontrollhoz viszonyítva ($P=0,047$). A laktáció tendenciaszerűen hosszabb volt a Fény csoportban ($P=0,061$). A NEFA, BHB, inzulin, IGF-I és tiroxin szintekben nem volt különbség a 2 csoport között.

Következtetések

Hazai körülményei között az awassi populáció petefészek működése a mérsékelt övi fajtákéhoz hasonló módon szezonálissá válik. Az intenzív tejtermelés ellenére, - szemben a Holstein fríz tehénben tapasztaltnal – az ellés körüli metabolikus változások nem befolyásolják a petefészek működés ciklusossá válásának idejét. Úgy tűnik, hogy a genetikai adottságok mellett, azt elsősorban a fotoperiódusos jel határozza meg.

Őszi ellésű anyákban az első ovuláció nagyon korán, még a méh involúciójának befejeződése előtt bekövetkezhet, ami megnöveli az involúció bakteriális komplikációinak esélyét. Őszi ellésű anyákban a kiegészítő megvilágítás (kb. 16 óra világos) késlelteti az első ovuláció idejét, és így ez megfelelő eszköz lehet a túlságosan korai petesejt leválás elkerülésére. A kiegészítő megvilágítás révén ráadásul megelőzhető a korai elapasztás is. További vizsgálatok szükségesek azonban ahhoz, hogy a megvilágítás pontos idejét és fényerejét optimalizáljuk.

3. kísérlet

Munkánk során 395 awassi anyában vizsgáltuk a metabolikus állapot, a melatonin receptor 1a (MT1) gén polimorfizmus, valamint a nemi aktivitás szezonalitása közötti összefüggéseket. Tavaszai ellésű anyajuhoktól az ellést követő 10-12. hét között 7 nap különbséggel, 3 alkalommal gyűjtött tejmintákból progeszteron mérést végeztünk. Ha a 3 minta valamelyikében >4 nmol/L értéket találtunk, az állatot ciklusosnak tekintettük. Ugyanebben az időszakban meghatároztuk a plazma leptin és IGF-I szintjét, feljegyeztük az állatok testtömegét, pontosztuk a kondíciójukat és összegyűjtöttük az első 3 hónap befejeési adatait. Vizsgáltuk a MT1 receptor II-es exonjában a 606. és 612-es pozícióban azonosított két mutáció előfordulását RsaI és MnlI restriktív enzimekkel való emésztéssel (a restriktív hely meglétét: M és R, vagy hiányát: m és r betűkkel jelöltük).

Az M allél gyakorisága 0,55, az m allélé 0,45 volt; a genotípusok gyakoriságát tekintve az M/M homozigóták 0,36, az M/m állatok 0,38, az m/m homozigóták pedig 0,26 arányban fordultak elő. Az RsaI restriktív helyet vizsgálva az allél gyakoriságok R allélra 0,83-nak, r allélra 0,17-nek adódtak; az egyes genotípusok megoszlása az alábbi volt: R/R homozigóta

0,70, R/r 0,26, r/r homozigóta 0,04. A vizsgált populáció egyik RFLP helyre sem volt Hardy-Weinberg egyensúlyban.

A leptin és IGF-I szintek, valamint az aktuális tejtermelés szignifikánsan befolyásolta a tenyésztés-szezonon kívüli ivarzás előfordulását az ellést követő 10-12. héten. Legnagyobb arányban a magas leptin ($P < 0,0001$) és közepes IGF-I ($P < 0,0001$) szinttel bíró állatok között találtunk ciklusosakat. A tejtermelés és az évszak, valamint a tenyésztés-szezonon kívüli ciklusos petefészkek működés között negatív összefüggést találtunk ($P = 0,001$ a tejtermelés, $P = 0,048$ az évszak esetében).

A genotípus hatása kevésbé volt kifejezett azokban az állatokban, melyek metabolikus állapota optimális volt, és amelyek között a legmagasabb volt a ciklusosak aránya. A genotípusnak nagyobb szerepe volt az alacsony IGF-I és magas leptin szintű csoportban. Ebben a csoportban az R/R genotípusú anyák nagyobb arányban mutattak ivari aktivitást ($P = 0,007$), valamint az M/M juhok között több volt a ciklusos ($P = 0,09$).

Következtetések

A vizsgált állományban a melatonin receptor 1a gén mind az RsaI, mind az MnlI restrikciós hasítási helynek megfelelően polimorf. Az irodalmi adatok szerint kedvező hatású R és M allélok nagy arányban fordulnak elő. A tenyésztés-szezonon kívüli ciklikusság jellemző módon azokban az idősebb anyákban jelentkezik, melyeknek megfelelő az energetikai státusza, melyet a metabolikus hormonok jól reprezentálnak. Ugyanakkor a nagy tejtermelés negatívan befolyásolja ezt a képességet. A vizsgált populációban a MT1 gén megfelelő alléljeinek előfordulása (R szignifikáns mértékben, M tendenciaszerűen) elősegíti a tenyésztés-szezonon kívüli ivari aktivitást a szuboptimális metabolikus státuszú (magas leptin, alacsony IGF-I szinttel jellemezhető) anyákban. Ugyanakkor, mivel ez a jótékony hatás a vizsgált állatoknak csak egy részében mutatható ki, a mutáció szelekciós markerként való használata nem javasolható.

4. kísérlet

Vizsgálatunkban három különböző, a tenyésztés-szezonon kívül alkalmazott ciklus indukciós/szinkronizációs protokoll hatékonyságát hasonlítottunk össze tejhasznú Awassi juhokban. Az első kísérletbe (a kísérlet 0. napja (d0) február 10.) 85 őszi ellésű anyát vontunk be. A 0., 7. és 13. napon gyűjtött tej illetve bélsárminták progeszteron – bélsár esetében gesztagén metabolit – tartalmának alapján meghatároztuk a tenyésztés-szezonon kívül ciklusos

állatok arányát. A Gest csoportot áprilisban gesztagén szivacs (56-70. nap) + 600NE eCG (70. nap) kombinációval kezeltük. A Mel+Gest csoportot a 0. napi melatonin (Melovin®, CEVA, Libourne, France) implantátum beültetését követő 56. napon a Gest csoporthoz hasonló szinkronizációs kezelésben részesítettük. A Mel+GPG csoportot a melatonin beültetését (0. nap) követően GnRH (63. nap) – PGF2 α (70. nap) – GnRH (72. nap) protokoll szerint szinkronizáltuk. Az állatokat 12 órás különbséggel kétszer inszemináltuk (fix-idejű AI), majd 14 nappal később háremben fedeztettük. A 45-99. nap között követtük az állatok egyedi progeszteron görbét. A 99. és 133. napon meghatároztuk a plazma vemhesség-specifikus glükoprotein (pregnancy associated glucoprotein, PAG) szintjét. A fogamzás idejét az ellési adatok alapján határoztuk meg. A 46. naptól a fix idejű AI-t követő 28. napig gyűjtött vérmintákból IGF-I és tiroxin szinteket mértünk. A második kísérlet során a teljes protokollt megismételtük 115 tavaszi ellésű anyával (0. nap június 22.).

A progeszteron értékek alapján februárban az állatok 39%-a mutatott ciklusos petefészekműködést, de mindössze 6% maradt ciklusos április végére. A kezelési csoportok között nem volt e tekintetben különbség. A ciklusindukciót / szinkronizációt követően a gesztagén tartamkezelésben részesült állatok szignifikánsan magasabb arányban ovuláltak, mint a melatonin kezelés után Ovsynch protokoll szerint szinkronizált társaik (Gest: 96%, Mel+Gest: 95% vs Mel+GPG: 45%; P=0.040). Ez arra enged következtetni, hogy a februári melatonin kezelés túl korai volt, még nem tudta áttörni a fotorefrakter fázist, így nem volt képes ciklust indukálni. A fix idejű inszeminálás során a Gest és Mel+Gest csoport 14%-a, ezzel szemben a Mel+GPG állatok mindössze 3% vemhesült. Adott tenyész-szezonban kosoktól vemhesült a Gest csoport 10%-a, a Mel+Gest csoport 5%-a, a Mel+GPG csoport 3%-a (NS). Az állatok 31-43% azonban csak nyár elején-ősszel, a következő tenyész-szezon kezdetén fogamzott, míg 38-62% százalékuk egyáltalán nem vemhesült, több mint 220 napon át üres maradt. Az alacsony vemhesülési arányt nagy valószínűség szerint az is befolyásolta, hogy a kezelt állatok között magas (54%) volt a toklyók aránya.

Júniusban az állatok 4%-ának petefészek működése volt ciklusos (NS). A 45-56. nap között azonban a melatonin kezelésben részesült állatok esetében ez az arány a kontrollhoz viszonyítva már emelkedő tendenciát mutatott (19% Gest vs 44% Mel+Gest, 47% Mel+GPG; P=0.109). A szinkronizációs kezelésből ovuláló állatok aránya a Gest és Mel+Gest csoportban 100% volt szemben a Mel+GPG anyák 88%-ával (NS). Az inszeminálás eredményeképpen ugyanakkor mindössze 24% (Gest), 22% (Mel+Gest), és 5% (Mel+GPG) vemhesült (P=0,104). Az állatok 65%-a vemhesült az adott tenyész-szezonban kosoktól (NS). Az anyák 8-27%-a több mint 150 napig üres maradt (NS).

A vemhesülés idejét túlélési görbével vizsgálva sem az őszi, sem a tavaszi ellésű állatokban nem találtunk eltérést az egyes csoportok között (Őszi ellésű $P=0,361$; Tavaszi ellésű $P=0,131$).

A melatonin-kezelés vártnál lényegesen gyengébb eredményessége láttán felmerült annak a gyanúja, hogy a készítmény adott gyártási szériája hatástalan, vagy az Awassi fajtában az alkalmazott dózis nagysága elégtelen bármiféle biológiai hatás kiváltására. Ennek ellenőrzésére a rendelkezésre álló, a 46. naptól a fix idejű AI-t követő 28. napig (52 napon keresztül) hetente két alkalommal gyűjtött, eredendően csak a P4 mérésére szolgáló vérplazma-mintákból meghatároztuk a korábbi vizsgálatainkból jól ismertén szezonális különbségeket mutató T4 és IGF-I koncentrációját. A toklyók IGF-I szintjei a vártnak megfelelően alakultak, az egyes csoportokban mindvégig magasabbak voltak, mint a szárazon álló anyáké ($P<0,095$). Ez az összefüggés még kifejezettebb volt a melatonin kezelésben részesült állatok esetében ($P<0,008$). A melatonin kezelést követő 6-10. héten a kezelt állatok esetében minden korcsoportban alacsonyabb IGF-I szintek voltak megfigyelhetőek, mint az azonos korú kezeletlen társaikban ($P=0,005-0,100$). A mintagyűjtési periódus végére ezek a különbségek kiegyenlítődték. A plazma T4 szintjét ugyanakkor nem befolyásolta sem a melatonin kezelés, sem pedig az állatok kora (az eredményeket nem részletezzük).

Következtetések

Eredményeink arra utalnak, hogy hazai körülmények között az Awassi populáció ivari működése kifejezetten szezonális. A februárban beültetett lassú kioldódású melatonin implantátum nem volt képes ciklust indukálni, míg júniusban alkalmazva jótékony hatása volt. A melatonin kezelés hatására ugyanakkor csökkent a plazma IGF-I szintje, ami laktáló állatokban negatívan befolyásolhatja a tejtermelést. A GPG protokoll és azt követő fix idejű inszeminálás csak abban az esetben válthatja ki a hosszú tartamú gesztagén kezelést, ha a természetes tenyész-szezonhoz közeli időben alkalmazzuk.

5. kísérlet

Február 23-án (0. nap) lassú kioldódású melatonin implantátumot ültettünk be awassi kosok ($n=8$) bőre alá. A Kontroll csoport ($n=8$) nem részesült kezelésben. Mindkét csoportban vizsgáltuk a spermatológiai mutatókat (sűrűség, összmotilitás, gyors és lassú előrehaladó mozgás, morfológia), valamint a GnRH-indukált tesztoszteron választ és az alap IGF-I szintet a 0., 47. és 71. napon. A kezelt és kontroll csoport spermatológiai mutatóiban nem találtunk

különbséget. Ugyanakkor a melatoninnal kezelt csoportban az alap tesztoszteron szint a kezelés 47. és 71 napján szignifikánsan magasabb volt, mint a kontroll csoportban ($P < 0,05$), a GnRH-indukált tesztoszteron válasz pedig megtartott maradt. A plazma IGF-I szintjét a kezelés nem befolyásolta.

Következtetések

Awassi kosokban a lassú kioldódású melatonin implantátum februárban kedvezően befolyásolta a here endokrin működését, de ez a jótékony hatás a seprmainőségben nem tükröződött. A plazma IGF-I szintjét a melatonin kezelés nem befolyásolta. További vizsgálatok szükségesek a endokrin és exokrin mutatók között talált ellentmondó eredmények tisztázására, valamint a melatonin kezelés és a növekedési hormon – IGF-I tengely működése közötti összefüggés elemzésére kiskérődzőkben.

ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

Munkánk során az alábbi új tudományos eredményeket állapítottuk meg:

1. Bárányaikat nem szoptató, őszi ellésű awassi anyákban az ellést követő első ovuláció nagyon korán (az állatok 89%-ban a PP 35. nap előtt), még a méh involúciójának lezajlását megelőzően bekövetkezik, ami megnöveli az involúció bakteriális szövödményinek esélyét. A kórosan rövid- és kórosan hosszú sárgatest fázisok gyakoriak (szabálytalan ciklus az állatok 33%-ban fordult elő), és az őszi ellésű állatok jelentős része (az összes állat 41%-a, a szabálytalan sárgatest fázist mutató anyák 100%-a) nem vemhesül a természetes fedeztetést követően.
2. Az őszi ellésű anyákkal szemben a tavaszi ellésű juhok petefészek működése később indul újra az ellés után (mindössze az állatok 29%-a ovulál a 35. nap előtt), és a szabálytalan sárgatest fázisok ritkák (vizsgálatainkban nem fordultak elő).
3. Őszi ellésű anyákban az első ovuláció ideje mesterséges kiegészítő megvilágítás révén (napi 16 óra világos / 8 óra sötét) késleltethető, így az alkalmas technológiai eszköz lehet a nem kívánatos korai ovuláció elkerülésére. Emellett a hosszú nappalos megvilágítás megakadályozza az őszi ellésű állatok korai elapasztását is.
4. A vizsgált awassi nyájban a melatonin receptor 1a gén (MT1) mind az RsaI, mind az MnlI restrikciós hasítási helyeknek megfelelően polimorf, és az R és M allélok nagy arányban fordulnak elő (R esetében 0,83; M esetében 0,55 prevalencia).
5. A kedvező allélok (R szignifikáns, M tendencia szinten) segíti a petefészek működés ciklusossá válását a tenyészszezonon kívül azokban az állatokban melyek megfelelő energia raktárak mellett magas tejtermelésre képesek (szuboptimális metabolikus állapot, mely alacsony plazma IGF-I és magas plazma leptin szintekkel jellemezhető). Ugyanakkor a polimorfizmusok szelekciós markerként való alkalmazása nem javasolható, mert szignifikáns hatás csak az állatok egy alcsoportjában és csak az RsaI RFLP helynek megfelelően volt tapasztalható.
6. Melatonin kezelést tejelő anyákon alkalmazva felmerül annak veszélye, hogy az IGF-I szint csökkentésén keresztül a tejtermelés csökkenhet, és a laktáció lerövidül. A melatonin kezelés a plazma IGF-I szintjét kosokban nem befolyásolta.

AZ ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK GYAKORLATI ALKALMAZÁSA A JUHTENYÉSZTÉSBEN

A fent leírt vizsgálatok tapasztalatait az irodalmi adatokkal egybevetve az awassi fajtára alapozott intenzív tejtermelő juhászatok számára kidolgoztunk egy szaporodásbiológiai technológiát („know-how”). Az alábbiakban ennek a komplex rendszernek egyes részleteit ismertetem, a dolgozatban megszületett új tudományos eredmények alkalmazására vonatkozó javaslatokat *dólt félkövér* betűtípussal kiemelve:

- 1) *A tejtermelés folyamatosságának a biztosítása céljából (a) egy, az őszi (természetes) tenyészidőszakban (szeptember - október) vemhesülő, tél végi - tavaszi ellésű, valamint (b) egy, áprilisban, indukált ciklusból vemhesülő, szeptemberi ellésű állományrész kialakítása, elkülönített elhelyezése és folyamatos fenntartása szükséges.*
- 2) A (természetes) őszi tenyészidőszakban vemhesítendő, tél végi - tavaszi ellésű állományrész (vemhesítési idény: kb. szept. 1. és okt. 25. között → vemhességvizsgálat: dec. 5. és 20. között):
 - Az állományrész (i) az adott év tavaszán ellett anyákból, illetve (ii) az előző év őszen, vagy az adott évi tél végi - tavaszi ellési időszak kezdetén született (≥7 hónapos életkorú), jó tápláltsági állapotú toklyókból könnyen kialakítható.
 - *Augusztus végén (a toklyókban inkább szeptember első felében) a petefészkek működése spontán módon is ciklikussá válik.* A tenyészszezon kezdetét jelző első tüszőrepedés mielőbbi bekövetkezése az alábbi takarmányozási és zootechnikai módszerekkel segíthető: flushing, koshatás.
 - Az első ovuláció hormonális kezelésekkkel (augusztus második felében végzett gesztagén + eCG kezeléssel, vagy a nyári napforduló idején elkezdett *slow release formájú melatonin kezeléssel*) *hatékonyan indukálható* ugyan, e módszerek állományszintű alkalmazása azonban nem szükségszerű, emellett költséges is.
 - Az állományszinten ajánlható szaporítási módszer a háremszerű fedeztetés; friss spermás mesterséges termékenyítés inkább csak a genetikailag legértékesebb egyedek esetében indokolt.
 - Üzemszervezési okokból a vemhesítési szezont a szeptember 1. és október 25. közötti időszakra célszerű korlátozni.
 - Előzetes ciklusszinkronizáció csak az inszeminálandó egyedekben szükséges. *Ajánlható módszere a gesztagén + eCG kezelés. Amennyiben a fogyasztói elvárá-*

sok megkívánják, az ökonómiai szempontok pedig lehetővé teszik, szeptember közepétől a mesterséges termékenyítésre kerülő állatok ciklusa GnRH + PGF2 α + GnRH kombinációval is szinkronizálható.

- A vemhesülés esélyének a növelése céljából megfontolandó az állományrész szeptember elején még laktáló anyáinak az elapasztása.
 - Vemhességvizsgálat: dec. 5. és 20. között, transzabdominális ultrahang-echográfia módszerével (2.5, 3.0 vagy 3.5 MHz-en üzemelő szektor fejjel ellátott B módú készülékkel). A módszer segítségével biztonsággal elkülöníthetők a vemhesült és az üresen maradt egyedek, és jó közelítéssel becsülhető a magzatok száma is.
 - Fontos figyelmeztetés: A módszer biztonságos alkalmazhatóságának előfeltétele, hogy az őszi vemhesítési időszak kb. 45-50 nappal a vemhességvizsgálat előtt, azaz október 25-ével befejeződjön.
 - A vemhesült egyedek ellése kb. február 1. - március 31. között várható; az anyák következő vemhesítésére az előbbieken ismertetett módon, szeptember 1. - október 25. között kerül sor.
- 3) A áprilisban (indukált ciklusból) vemhesülő, szeptemberi ellésű állományrész (vemhesítés: kb. április 1. és 30. között → vemhességvizsgálat: 45-50 nappal később, azaz május 15. és június 20. között):
- Az állományrész (i) az előző év őszen ellett anyákból, (ii) az előző évi tél végi - tavaszi ellési időszakban született (kb. 12 hónapos életkorú) toklyókból, illetve (iii) a decemberi vemhességvizsgálat alkalmával üresnek bizonyult egyedekből alakítható ki.

Fontos figyelmeztetés: ***Ellehetetleníti a technológiát, ha az állományrész kialakítását túlnyomó részben a decemberben üresen maradt anyákra, fiatal (<10-11 hónapos életkorú) toklyókra, vagy rossz tápláltsági állapotú egyedekre alapozzuk.***
 - ***Áprilisban az anyák jelentős részének, és a toklyók szinte mindegyikének a petefészek-működése acikliás lesz.*** Ezért az ovuláció hormonális kezelésekkkel (március utolsó napjaiban vagy április elején végzett 12-14 napos gesztagén tartamkezelés, a gesztagénforrás eltávolításakor: 500-600 NE eCG) történő indukciója szükséges. Az ovuláció szinkronizáltan, a gesztagénforrás eltávolítása után kb. 48-65

órával várható. *Ha az állat a tüszőrepedés nyomán nem vemhesül, további egy-két ovuláció várható, majd a petefészkek működése rendszerint ismét acikliás lesz.*

- A ciklusindukció hatékonysága az alábbi takarmányozási és zootechnikai módszerek kiegészítő alkalmazásával fokozható: flushing, koshatás
 - Az állomány szinten ajánlható szaporítási módszer: helyben termelt friss, hígított spermával végzett mesterséges termékenyítés (a spermadepozíció helye: cervikális – cerviko-vaginalis; ideje: a gesztagénforrás eltávolítását követő 48-50. és 58-60. órában); ezt követően kb. 24-28 napon át tartó szabad pároztatás az anyák közé bocsátott kosokkal (kösönként max. 20-25 anya), vagy háremszerű fedeztetés.
 - *A gesztagénmegvonás után 26-30 nappal a kosokat az anyák közül ki kell venni.*
 - Vemhességvizsgálat: a fedeztetés befejezését követő 45-50. napon (módszer: ugyanaz, mint decemberben).
 - A vemhesült egyedek ellése szeptember-októberben között várható.
 - *Az őszi ellésű anyákban (részben az évszakkal, részben pedig a bárány korai elválasztásából következően) az első ovuláció hamar, nagyon gyakran még az involúció befejeződése előtt bekövetkezik, ami feltételezhetően emeli az involúció szubklinikai jellegű elváltozásainak a gyakoriságát. Emellett a laktáció is rövidebb; a korán újravemhesült anya szinte mindig elapaszt. Mindezek megelőzésére – azaz a laktáció hosszának a fokozására, és egyszersmind az ellés utáni első ovuláció késleltetésére – az alábbiak javasolhatók:*
 - *Az anyáknak a kosoktól történő szigorúan elkülönített, a feromon-hatást is kizáró elhelyezése.*
 - *Szeptember legelső napjaitól (tehát már a vemhesség utolsó napjaitól) kezdődően: pótlólagos fénykiegészítéssel a világos (V) és sötét (S) napszakok arányának a V16:S8-ra történő beállítása.*
 - Az anyák következő vemhesítésére az előbbieken ismertetett módon a következő év áprilisában kerül sor. A ciklusindukciót megelőzően célszerű az esetleg még laktáló anyákat elapasztani.
- 4) *A jövőben az MT1 gén RsaI polimorfizmusának meghatározása és a szaporodásbiológiai teljesítmény nyomonkövetése nagyobb számú anyán további információval szolgálhat az állatok fotoperiódus iránti érzékenységről. Bár az R allél kedvező hatását csak az állatok egy bizonyos, - a kívánatostól elmaradó metabolikus*

állapottal jellemezhető - csoportján tudtuk igazolni, a vizsgálatok nagyobb állatszámra való kiterjesztése esetleg igazolhatja a mutáció genetikai markerként való alkalmazhatóságát. A kisebb mértékű szezonális révén nőhet az egész évben ciklikus petefészkek-működésre képes egyedek állományon belüli aránya, amelyeknek a tavaszi vemhesítése hormonkezelések nélkül, csupán pótlólagos energiakiégésítés és koshatás (feromon-expozíció) révén is elérhető.

AZ ÉRTEKEZÉS ALAPJÁUL SZOLGÁLÓ TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYEK

Teljes szövegű tudományos közlemények, angol nyelven

1. **Faigl V.**, Keresztes M., Kulcsár M., Nagy S., Keresztes Zs., Amiridis, S., Solti L., Huszenicza Gy., Cseh S.: Testicular function and semen characteristics of Awassi rams treated with melatonin out of the breeding season. *Acta Vet. Hung.*, 2009. 57: 531-540. (IF: 0.642)
2. **Faigl V.**, Keresztes M., Márton A., Fébel H., Kulcsár M., Nagy S., Cseh S., Solti L., Huszenicza Gy.: Effect of season and photoperiod on the time of first postpartum ovulation in Awassi ewes. *Acta Vet Hung.*, 2011. 59(4): 497-510. (utolsó ismert IF: 1.264)
3. **Faigl V.**, Keresztes M., Reiczigel J., Kulcsár M., Dankó Novotni G., Chilliard Y., Jávor A., Cseh S., Huszenicza Gy., Árnási M.: Relationship between seasonality of reproduction, metabolic status and MT1 receptor gene polymorphism in Awassi sheep. [Submitted for publication to *Theriogenology*]
4. Cseh S., **Faigl V.**, Amiridis, G.: Semen processing and artificial insemination as part of health management of small ruminants. A review. *Anim Rep Sci.*, 2012. 130(3-4): 187-92. (utolsó ismert IF: 1.721)
5. Radoslava, V., Kostecká, Z., **Faigl, V.**, Marton, A., Keresztes M., Árnási M., Kulcsár, M., Dankó G., Svantner R., Nagy, S., Csátori G., Cseh S., Solti, L., Huszenicza Gy., Maracek, I.: Recent progress in endocrine, nutritional and genetic aspects of ovine reproduction. *Folia Veterinara (Kosice)*, 2006. 50: 157-166. (IF: 0.000)
6. Radoslava, V., Kostecka, Z., **Faigl, V.**, Marton, A., Keresztes, M., Novotni-Danko, G., Csátori, G., Nagy, S., Árnási, M., Kulcsár, M., Cseh, S., Huszenicza, Gy., Svantner, R., Maracek, I., Recent progress in the physiology and biotechnical control of reproduction in dairy ewes. *Slovensky Veterinarsky Casopis (Kosice)* 2006. 31:(5) 309-314. (IF: 0.000)

Teljes szövegű tudományos közlemények, magyar nyelven

7. **Faigl V.**, Marton A., Keresztes M., Novotniné Dankó G., Csátori G., Antal J., Nagy S., Árnási M., Kulcsár M., Cseh S., Huszenicza Gy.: Az anyajuhok szaporodási teljesítményének növelésével összefüggő egyes újabb élettani kérdések és ezek technológiai vonatkozásai. Irodalmi áttekintés. *Magy. Áo. Lapja*, 2005. 127: 586-593. (IF: 0.114)
8. **Faigl V.**, Keresztes M., Márton A., Schneider Z., Korvin L., Nagy S., Novotniné D. G., Árnási M., Jávor A., Cseh S., Huszenicza Gy.: Melatonin-, ill. fénykiegészítés alapú ciklusindukciós technikák kiskérődzőkben. Élettani vonatkozások és gyakorlati alkalmazás. Irodalmi áttekintés. *Magy. Áo. Lapja*, 2007. 129. 219-230. (IF: 0.104)
9. **Faigl V.**, Keresztes M., Árnási M., Kulcsár M., Balogh O., Nagy S., Szenci O., Cseh S., Huszenicza Gy.: Melatonin alapú ciklusindukciós technikák tejelő Awassi juhokban. *Magy. Áo. Lapja*, 2012. 134: pp. 24-29. (utolsó ismert IF: 0.3)

Tudományos konferenciákon bemutatott poszter vagy szóbeli közlés:

10. **Faigl V.**, Keresztes M., Kulcsár M., Márton A., Nagy S., Cseh S., Huszenicza Gy.: Effect of melatonin treatment on plasma IGF-I and thyroxin level, and endocrin function of testicles in Awassi sheep. Magyar Buiatrikus Társaság XVIII. Nemzetközi Kongresszusa, Siófok, 2007. okt. 10-13, oral presentation
11. Cseh S., **Faigl V.**, Keresztes M., Kulcsár M., Nagy S., Amiridis G., Solti L., Huszenicza Gy.: Testicular function and semen characteristics of rams treated with melatonin out of the breeding season. 11th Annual conference of the European Society of Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Celle, Germany. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2007. 42. 71. oral presentation
12. **Faigl V.**, Keresztes M., Kulcsár M., Márton A., Nagy S., Dankó G., Magyar K., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.: Postpartum resumption of cyclic ovarian function on non-suckling dairy (Awassi) ewes lambled in different seasons. 11th Annual conference of the European Society of Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Celle, Germany. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2007. 42. 140. poster presentation
13. Árnási M., **Faigl V.**, Keresztes M., Kulcsár M., Reicziegel J., Jávör A., Cseh S., Huszenicza Gy.: Effect of MT1 gene polymorphism and some metabolic factors on out-of-season ovarian cyclicity in dairy Awassi sheep. 12th Annual conference of the European Society of Domestic Animal Reproduction (ESDAR), Utrecht, Netherland. Abstract. *Reprod. Dom. Anim.*, 2008. Vol: 43(5): 87. poster presentation
14. **Faigl V.**, Keresztes M., Árnási M., Kulcsár M., Nagy S., Cseh S., Huszenicza Gy. Melatonin-based induction of cyclicity in intensive dairy (Awassi) flocks. International Congress on Animal Reproduction, Budapest (Hungary) 13-17 July 2008. *Reprod. Dom. Anim.*, Vol. 43. Suppl 3. page 74. Poster presentation
15. **Faigl V.**, Árnási M., Keresztes M., Kulcsár M., Reicziegel J., Jávör A., Cseh S., Huszenicza Gy.: Seasonality of reproduction and MT1 receptor gene polymorphism in Awassi sheep. International Congress on Animal Reproduction, Budapest (Hungary) 13-17 July 2008. (*Reprod. Dom. Anim.*, 2008. Vol. 43. Suppl 3, page 11). Oral presentation
16. **Faigl V.**, Keresztes M., Márton A., Fébel H., Kulcsár M., Cseh S., Solti L., Huszenicza Gy.: Effect of season and photoperiod on the time of first postpartum ovulation in awassi ewes. World Buiatric Congress, Budapest (Hungary) 6-11 July 2008, *Magy. Áo. Lapja*. Vol. 130. Suppl. II. (Oral and poster abstracts), page 134. Poster presentation
17. **Faigl V.**, Keresztes M., Márton A., Kulcsár M., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.: Intenzív tejhasznosítású Awassi anyajuhok egyes szaporodási jellemzői a Kárpát-medence éghajlati és takarmányozási körülményei között / Reproductive characteristics of Awassi ewes kept in intensive dairy flocks in the Carpathian basin. 15. Szaporodásbiológiai Találkozó, Eger, 2009. április 17-18.

18. **Faigl V.**, Árnysai M., Kerestes M., Kulcsár M., Reiczigel J., Jávör A., Cseh S., Huszenicza Gy.: seasonality of reproduction and MT1 receptor gene polymorphism in awassi sheep. International Symposium on Sustainable Improvement of Animal Production and Health (organized by the International Atomic Energy Agency; Vienna, Austria; 8-11 June 2009). Poster presentation

Akadémiai beszámolók:

19. **Faigl V.**, Árnysai M., Kulcsár M., Nagy S., Gáspárdy A., Reiczigel J., Dankó G., Kerestes M., Márton A., Csatári G., Magyar K., Jávör A., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.: A laktáció első tíz hetében ciklikussá vált petefészkek-működésű állatok arányát befolyásoló tényezők intenzív tejhasznosítású, tavaszi ellésű awassi anyajuhokban. Akad. besz. 2006.
20. **Faigl V.**, Kerestes M., Kulcsár M., Horváth Á., Nagy S., Márton A., Dankó G., Magyar K., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.: A petefészkek-működés ellés utáni ciklikussá válása bérányaikat nem szoptató tejhasznú (Awassi) juhokban. Akad. besz. 2007.
21. **Faigl V.**, Kerestes M., Kulcsár M., Várnai Zs., Nagy S., Márton A., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.: A melatonin kezelés hatása a plazma IGF-I és thyroxin (T4) szintjére awassi juhban. Akad. besz. 2007.
22. **Faigl V.**, Árnysai M., Kerestes M., Kulcsár M., Reiczigel J., Jávör A., Cseh S., Huszenicza Gy.: A MT1 gén polimorfizmus és az ivari működés szezonálisának összefüggése awassi juhban. Akad. besz. 2009.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Mindenekelőtt egykori tanáromnak, mentoromnak, témevezetőmnek *Prof. Dr. Huszenicza Gyulának* szeretnék köszönetet mondani, aki nélkül ez a dolgozat nem jöhetett volna létre, és aki fantasztikus lehetőségeket adva megnyitotta előttem a tudományos világ kapuit. Hiányzik utánozhatatlanul lendületes és szakszerű irányítása, motiváló törődése, és lenyűgöző személyisége. A dolgozat írása közben volt szerencsém megtapasztalni örökségének erejét; a hátrahagyott egykori kollégák és tanítványok egész csapatát, akik szakmai és emberi értelemben is ugyanúgy gondolkodnak, egy nyelvet beszélnek, és mindenben támogatják egymást határokon innen és túl. Köszönet szeretnék mondani *Dr. Kulcsár Margitnak* a kísérletekben és a laboratóriumi munkában nyújtott szakmai segítségért, és külön köszönet illeti, amiért a fent leírt csapatot második családjaként kezeli.

Szeretném megköszönni kollégámnak és barátomnak *Dr. Keresztes Mónikának* folyamatos segítségét, aki a munka minden fázisában jelen volt, éjjel-nappal, az istállóban, a laboratóriumban, vagy a számítógép előtt egyaránt. Az együtt elfogyasztott jelentős mennyiségű kávé és a közösen átélt utazások és kalandok emlékét a legjobb helyen őrööm. Köszönöm a kísérletes munka során nyújtott segítségét *Márton Alíz*nak, és szakdolgozatos hallgatóimnak, *Horváth Ágnesnek*, *Várnay Zsuzsannának*, *Dakó Zoltánnak* és *Guro Moira Omanak*. Köszönettel tartozom *Nagy Sándornak* és *Mezei Mihálynak* a telepi munkák megszervezéséért és a mintagyűjtésben nyújtott segítségükért, valamint hálás köszönet az *Awassi Rt.* minden dolgozójának az évek során nyújtott segítő hozzájárulásukért.

Ez a dolgozat soha nem születhetett volna meg az Állatorvos-tudományi Kar munkatársai nélkül, akiknek ezúton is szeretnék köszönetet mondani: *Prof. Dr. Solti László* és *Prof. Dr. Cseh Sándor* tanszékvezetőknek, *Prof. Dr. Cseh Sándornak*, amiért megtanított az asszisztált reprodukciós technikák gyakorlati alkalmazására és segített eredményeink publikálásában. *Prof. Dr. Szenci Ottónak* a PAG elemzések elvégzésében, *Prof. Dr. Reiczigel Jenőnek*, a statisztikai értékelésekben nyújtott segítségéért. A nagyszámú minta feldolgozása lehetetlen lett volna laboratóriumi asszisztenseink *Vonáné Nagy Alice*, *Bakosné Batta Aranka* és *Ódor Lászlóné Zita* szakszerű és elhivatott munkája nélkül.

Az itt bemutatott munkák metabolikus eredményeinek értékelésében *Dr. Fébel Hedvig* volt mindvégig segítségünkre. A melatonin receptor génnel kapcsolatos következtetések nem születhettek volna meg *Dr. Árnysai Mariann* hatékony és lelkes hozzájárulása nélkül. Szeretnék külön köszönetet mondani barátaimnak: *Dr. Balogh Orsolyának* folyamatos támogatásáért és *Dr. Psáder Rolandnak*, aki szakmai szárnybontogatásaim kezdeti lépéseitől jelen volt, és aki az idők folyamán mindennapi életem állandó, szórakoztató és gondolatokkal teli társává, barátommá vált.

Köszönet illeti *Professor W. Ronald Butlert* a Cornell Egyetem Állattudományi Karának munkatársát, aki volt olyan kedves és talált időt számomra egy különösen hasznos vita lefolytatására bizonyos metabolikus hormonokkal kapcsolatos eredmények értelmezéséről.

A dolgozat a Jedlik Ányos Program: NKFP 4 / 016 / 2005 támogatásával készült.

Végül, de nem utolsósorban szeretném megköszönni *családom* folyamatos, szerető segítségét és támogatását, akik nélkül sohasem tudtam volna elérni céljaimat.

Budapest, 2012. május 20.

Dr. Faigl Vera
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Budapest