

**Magyarországon született holstein fríz
donor tehenek hőstresszhez való
alkalmazkodása és embriótermelése**

PhD disszertáció tézisei

Írta:
Dr. Bényei Balázs

Témavezető:
Prof. Dr. Cseh Sándor

**Budapest
2004**

Szent István Egyetem
Állatorvos-tudományi Doktori Iskola

Témavezető és témabizottsági tagok:

.....
Prof. Dr. Cseh Sándor

Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika,
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

Prof. Dr. Solti László
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika,
Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar

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

Prepared in 8 exemplars. This is the exemplar.

Dr. Bényei Balázs

Tartalomjegyzék

1	Bevezető.....	5
2	Az akklimatizációs probléma feltárása	7
3	Az embriótermelés hatékonyságának fokozása	10
4	A szuperovulációs válaszreakció ismételhetősége és örökölhetősége	15
5	Endokrin vizsgálatok.....	16
5.1	Szuperovulációs hormonkezelés hatására jelentkező progeszteron vérkoncentráció és ciklusváltozások trópusi környezetben, holstein fríz tehenekben.....	16
5.2	A magas hőmérséklet hatása a metabolikus hormonok, ketonanyag és progeszteron vérkoncentrációjára és ezek befolyása a szuperovulációs eredményre	18
6	Összefoglalás	19
7	Új tudományos eredmények.....	22
8	Köszönetnyilvánítások.....	23
9	Publikációk jegyzéke	24
9.1	Cikkek	24
9.2	Poszterek	25
9.3	Absztraktok	27
9.4	Jegyzet.....	29

1 Bevezető

Munkámat Brazília félsivatagos részén, egy donor centrumban, szakértőként végeztem. A projekt egy államilag finanszírozott genetikai program része volt, államközi szerződés keretén belül a brazil CODEVASF és a magyar AGROINVEST cégek végrehajtásában. Kutatásaimat 1996. február és 2000. július között végeztem.

A genetikai munka hazánkból Brazíliába szállított előrehaladottan vemhes holstein fríz állományon alapult. Az állatok 11 órás repülőúttal érkeztek Brazíliába, majd további 9 órás közúti szállítás során jutottak el célállomásukra, Pernambuco állam Petrolina nevű városába. A szállítás alatt csak egy állat vetélt el.

A petrolinai klíma semiarid volt. A hőstressz csökkentése érdekében az istállókat cseréppel fedték és oldalaik nyitottak. Az üszöket 10-es létszámú kiscsoportokban tartották, egy állatra 15 m² férőhely jutott. A délutáni legmelegebb órákban a hőséget vízpermetezéssel enyhítették. Az aszfalt padozatra cukorgyári melléktermékkel, szecskára vágott és hidrolizált cukornáddal, almoztak. A tömegtakarmány termelés a telep szomszédságában levő öntözött szántóföldön folyt. Ahhoz, hogy folyamatosan zöld, tejes érésben betakarított, szecskázott kukorica álljon rendelkezésre, a növény vetését 18 naponként végezték. Az első osztályú lucernaszénát bálázták. A zöldtakarmány kiegészítésére elefántfüvet is termesztettek. Az abrakot a PURINA szállította. A fejőház Alfa-Laval gyártmányú, halszálkás, teljesen automatizált rendszerű volt.

Brazília semiarid éghajlatú területén a környezet hőmérséklet-ingadozása csekély volt. A kísérlet helyszínén az átlagos napi hőmérséklet $25,8 \pm 1,4$ °C volt, $34,4 \pm 1,6$ °C és $23,2 \pm 1,3$ °C közötti hőingadozással. A legmelegebb

hónapokban (szeptembertől januárig) az átlaghőmérséklet $27,3 \pm 1,1$ °C volt, $31,8 \pm 1,6$ °C (Temperature Humidity Index, THI érték 75) és $20,0 \pm 1,4$ °C közötti szélső értékekkel. Ezek az adatok nem tartalmazzák a legmelegebb napokat, amikor a napi maximum hőmérséklet meghaladta a 40 °C-ot és éjjel sem esett 33 °C alá. Az év hidegebb időszakában (február és augusztus között) az átlaghőmérséklet $24,8 \pm 1,4$ °C volt, $31,5 \pm 1,6$ °C (THI = 75) és $20,0 \pm 1,4$ °C volt. Az éves csapadék mennyisége 650 mm (100 és 900 mm szélső értékekkel), a levegő páratartalma 35-38% délután, 70-85% éjjel és a hajnali órákban volt. A megvilágított órák száma viszonylag állandó volt, ($12,0 \pm 0,5$ óra) mivel a város a 9° délkörön helyezkedik el.

A disszertáció 4 fő nagy témakört ölel fel:

- Akklimatizációs probléma feltárása
- Az embriótermelés intenzívé tétele
- A szuperovulációs válaszreakció mértékének és összes embrió szám egyedi ismételhetsége (R) és örökölhetősége (h^2)
- Endokrin vizsgálatok

2 Az akklimatizációs probléma feltárása

Megfigyeltem, hogy az állatok ellés után reprodukciós zavarokkal küszködtek, melyek cikluszavarokban, termékenyülési problémákban és alacsony embriótermelési mutatókban nyilvánultak meg.

Ebben a tanulmányban, az importált a telepen lévő és a teleptől nem messze tartott kontroll állatokat 1996-ban (63 db és 38 db) és 1997-ben (96 db és 45 db) szuperovuláltattam. Kísérleteimben a post-partum időszakot, petefészek méretbeli anomáliákat, szuperovulációs eredményeket és embrió minőséget vizsgáltam.

Az importált állomány átlagos tejtermelése 1996-ban 20,0 liter és 1997-ben 23,3 liter, míg a kontroll állatoké 22,1 liter.

A cikluszavarok és termékenységi problémák az importált állatoknál nagyon hosszú post-partum időszakot eredményeztek 1996-ban ($112,1 \pm 30,5$ nap) szemben a kontrolloknál tapasztalt $55,0 \pm 18,0$ nappal és $48,2 \pm 12,0$ és $42,6 \pm 10,7$ nappal az importált és kontroll állatoknál 1997-ben.

Az importált állatok petefészkei szignifikánsan kisebbek voltak 1996-ban a kontrolloknál és 1997-ben mindkét csoportnál. Az állatokat megfigyelt ivarzás után 2 ml i.m. applikált prosztaglandinnal szinkronizáltuk. A szuperovulációhoz a donorokat a ciklus 8-11 napjától számítva 4 napig, naponta 2 alkalommal adott FSHp készítménnyel kezeltük (150, 150, 75, 75, 50, 50 és 25, 25 NE-s adagokban). Az FSHp kezdetétől számított harmadik napon 3 ml prosztaglandint injekcióztunk délután és az állatokat másnap délelőtt majd 12 órával később is inszemináltuk.

Az importált állatok rosszabbul reagáltak a szuperovulációs kezelésre 1996-ban, mint kontroll társaik (sárgatestek száma $6,4 \pm 4,3$ db szemben $13,6 \pm 5,9$ db, $P < 0.05$), kevesebb élő embriót gyűjtöttünk (sárgatestek száma $1,2 \pm 0,9$ db szemben $4,4 \pm 2,1$ db, $P < 0.05$). A két csoport hasonló paraméterei nem tértek el a második évben egymástól.

Ezek az eredmények azt mutatják, hogy 1996-ban a donorok nem jól reagáltak a szuperovulációs kezelésre. Ezután az embriótermelési mutatók kedvezőbbek lettek és 1997. februárra a kimosott élő embriók átlaga elérte az elfogadható szintet, 5-nél több volt.

A kezdeti időszakban megfigyelt szaporodásbiológiai problémák és embriótermelési anomáliák sejtetik, hogy az állomány akklimatizációs zavarokkal küzdött. Bár a termékenységi mutatók 1996 őszre rendeződtek, az állomány szuperovulációs készsége csak később állt helyre, ami alapján feltételezem, hogy a teljes adaptációhoz másfél éves időszak szükséges.

Munkám alatt egy meteorológiai jelenség, az El Niño rengette meg a Dél-Amerikai földrészt, sivatagi éghajlatot hozva a semiarid vidékre. Munkámban a telepen számított THI értékek hideg, meleg és az El Niño időszak alatti szuperovulációs és embriótermelési adatait értékeltem. A három időszak alatti THI értékek szignifikánsan eltértek egymástól. Az El Niño időszak alatt mért hőmérséklet 6 °C -al meghaladta a 30 éves átlag nyári időszakot. A sárgatest és embriók számát logaritmikusan majd back transzformáltuk, Kolgomorov-Smirnoff tesztet használtunk a normál eloszlás vizsgálatára és a szignifikancia számításokat Lilliefors teszttel végeztük. A hideg időszakban számított THI $70,74 \pm 1,35$, az átlagos sárgatest szám $9,84 \pm 4,37$ volt. A meleg időszakban ezen mutatók $73,99 \pm 0,72$ és $9,70 \pm 4,49$ voltak. Amikor az El Niño időszakban a THI elérte a $79,74 \pm 4,01$ -et, a szuperovulációs válaszreakció szignifikánsan csökkent ($5,22 \pm$

2,53; $P < 0,01$). Az embriótermelés is ezt a tendenciát követte. A meleg, nem El Niño időszakban a kinyert embriók száma $5,87 \pm 2,98$, mely az El Niño jelenség alatt $4,21 \pm 2,05$ -re csökkent. Ismeretes, hogy a magasabb hőmérséklet alatt az embrió minősége is romlik. Az élő embriók aránya a hideg időszakban $59,2 \pm 37,4\%$, a meleghatás következtében $38,2 \pm 38,5\%$ -ra csökkent ($P < 0,01$).

Bár a petefészek szuperovulációs érzékenysége úgy tűnik, hogy adaptálódik a meleg környezethez, az El Niño időszak alatt tapasztalt erőteljesebb hőstressz negatívan hatott a képződő sárgatestek számára és az embriótermelési eredményekre is.

3 Az embriótermelés hatékonyságának fokozása

Kutatásaimban arra törekedtem, hogy a meglévő, kis létszámú donoroktól a lehető legtöbb embriót nyerjem, a költségek csökkentésével együtt.

Munkám első szakaszában az összes elérhető állatot szuperovuláltattam és teszteltem az elérhető hormon készítményeket. Ezzel egyrészt kiválogattam azokat az egyedeket, amelyekből várhatóan a legtöbb embriót tudtam termelni, másrészt, a legjobb hatású hormonkészítménnyel az embriótermelést standardizáltam. Három kísérletet hajtottam végre:

I. Ciklikusan ivarzó holstein fríz üszöket (19 db, 12 hónapnál idősebb és legalább 370 kg testtömegű) és tejelő holstein fríz teheneket (20 db) szuperovuláltattam FSHp készítménnyel, a ciklus 8-11 napjától. A kezelés 3. napján prosztaglandint applikáltam és 28 és 60 órával később mesterségesen termékenyítettem. Az embriókat az első termékenyítés utáni 7. napon nyertem ki és a Nemzetközi Embrió Átültető Társaság (IETS) kritériumai szerint értékeltem. Bár nem találtam különbséget üszők és tehenek között a több mint kettőt ovulált állatok tekintetében (16/19 és 14/20), az üszők nagyobb százalékban adtak embriót, mint a tehenek (14/19, 74% szemben 11/20, 55%). A sárgatestekre vetítve, az embrió kinyerési hatékonyság üszöknél 66% és 89% volt a teheneknél ($P < 0,05$). Az ovulációk számában és a kinyert összes embrió számban nem találtam szignifikáns különbséget üszők és tehenek között, azonban szignifikánsan több petesejtet illetve degenerált embriót nyertem ki tehenek esetében és több embriót mélyhűtöttem üszöktől ($P < 0,01$). Hőstressznek kitett üszők és tehenek közül a fiatal állatok tehát

jobb embriótermelők. Bár egyéb faktorokat nem értékeltem, az adatok megerősítik azt a feltevést, hogy magas környezeti hőmérséklet károsan hat a szuperovuláltatott tejelő donorok embrióminőségére. A hatás lehetséges magyarázata az, hogy az intenzív tejtermelés anabolikus folyamatai következtében termelődő hő miatt a tejelő tehenek képtelenek a testhőmérséklet megfelelő szabályozására.

II. Egy másik vizsgálat célja a tejtermelés különböző fázisainak hatása a tehenek embriótermelésére, hőstresszelt állapotban. Ehhez donor teheneket szuperovuláltattam a laktáció első (20 db, tejtermelési átlag: 22,5 kg), második (40, tejtermelési átlag: 28,3 kg), harmadik (25 db, tejtermelési átlag: 20,2 kg) szakaszában és szárazonállás alatt (121 db). A szuperovulációt FSHp-vel végeztem, a standard protokoll szerint. A sárgatestek száma szignifikánsan több volt a szárazonálló donor csoportnál, mint a tejelőknél. A kinyert élő embriók száma a szárazonállóknál tendenciózusan több volt, mint a tejelőknél, azonban a különbség nem volt szignifikáns, bár az élő embriók száma az első és második laktációs szakaszban levő teheneknél szignifikánsan kevesebb volt, mint a harmadik szakaszban levőké és szárazonállóké. Összesítve az adatokat megállapítható, hogy magas környezeti hőmérsékleten a holstein fríz donorok embriótermelésére hatással van a tejtermelés.

III. Két további kísérletben az alkalmazott hormon dózis és a két embriótermelési program közti időtartam hatását vizsgáltam a szuperovulációs válaszreakcióra és az embriótermelésre. A hormonkezelést a szokásos séma szerint, a megfigyelt ivarzástól számított 8-11 nap múlva kezdtem, 4 nap alatt, csökkenő dózisban. Az első kísérletben az állatok egyik csoportját az alkalmazott gyógyszer (Pluset, Serono, Olaszország) gyárilag ajánlott 1000 NE dózissal, a másik csoportot csökkentett, 600 NE dózissal szuperovuláltattam. A második kísérletben az embriókinyerés utáni első ivarzást

azonnal kihasználva kezdtem el a szuperovuláltatást, 600 NE FSHp injektálásával. A hormonkezelés 3. napján prosztoglandin injekcióval ivarzást váltottam ki, majd 48 és 60 órával később mesterségesen termékenyítettem. Az embriókat az első termékenyítéstől számított 7. napon nyertem ki. Az eredmények azt mutatják, hogy a szuperovulációs reakció és a kinyert embriók száma hasonló a javasolt és a csökkentett dózishoz. A redukált adag előnye, hogy kevesebb anovulációs cisztát tapintottam. A donor tehének átlagban $12,2 \pm 3,2$ nap múlva ivarzottak az embriómosáskor alkalmazott prosztoglandin kezelés után. Általában a második vagy harmadik ciklus után kezdjük az ismételt hormonális kezelést. Kísérletemben a szuperovulációt az első ivarzás után azonnal elkezdtem és azt találtam, hogy a sárgatestek és az embriók száma hasonló volt azokhoz az egyedekhez képest, amelyektől az embriókat a hagyományos módszerrel nyertem. A kísérletek eredménye azt bizonyítja, hogy holstein fríz donorok trópusi klímán csökkentett hormondózissal és nagyobb gyakorisággal eredményesen szuperovuláltathatók.

Kutatásaim eredményét felhasználva a következők szerint folytattam az embriótermelést: az üszöket is bevontam az embriótermelésbe, az ún. üsző-előhasznosítással az embrió készletet növeltem ezzel; az embriókat nem termelő illetve kevés embriókat adó donorokat inszemináltam, a jó illetve kiváló embriótermelő donorokat szárazra állítottam, csökkentettem az alkalmazott hormon mennyiségét és a két szuperovulációs program közti időt.

Meg kell említeni, hogy az intenzívvé tett embriótermelésnek a következő hátrányai jelentkeztek:

A kísérletben az ismételt szuperovuláció ivari ciklusra gyakorolt hatását vizsgáltam. A donorokat 650 NE FSHp-vel kezeltem. Az embriókat nem adó (1. csoport, 21,8%) vagy rosszul szuperovuláltatható donorokat (2. csoport, 23,1%) $2,1 \pm 0,9$ és $3,5 \pm 1,6$ alkalommal hormonkezeltem. Azokat a

donorokat, melyek 3-5 embriót adtak (3. csoport, 28,2%) $5,5 \pm 3,0$ –szor és a 4. csoportba tartozó egyedeket (12,8%, 6-9 embrió/alkalom) $5,8 \pm 3,0$ -szor szuperovuláltattam. A legkiválóbb donorokat, melyek 10-nél több embriót adtak (5. csoport), $7,8 \pm 4,6$ alkalommal hormonkezelttem. A 3., 4., és 5. csoportokat a laktáció 180 ± 10 napján elapasztottam. A 3. és 4. csoportba tartozó állatokat 6 esetben szuperovuláltattam illetve korábban kivontam a további embriótermelési programból, amikor 52,5% illetve 38,0%-nál cikluszavarok jelentkeztek (petefészek cisztásodás) vagy nimfomániások lettek (18,2% illetve 20%). A kiváló embriótermelő állatokat (5. csoport) addig szuperovuláltattam, amíg lehetett és ezen állatok 60%-a lett acikliás vagy 40%-a lett nimfomániás. A ciklus zavarok/nimfomania tekintetében 3. és 4. csoportban levő állatok esetében nem találtam szignifikáns különbséget, mialatt a 4. és 5. csoportnál szignifikánsan több állat mutatta ezeket az elváltozásokat. Ebben a kísérletben, a 3. – 5. donor csoportot szárazra állítottam és egymást követően szuperovuláltattam azért, hogy maximálisan kihasználjam embriótermelési kapacitásukat. Azt találtam, hogy ha a holstein fríz fajtát hőstressz hatása alatt szuperovuláltatjuk, az ismételt hormonális kezelés határa a ciklus zavarok illetve a nimfomania megjelenése, még ha csökkentett hormondózist alkalmazunk.

A megtermelt embriókat folyékony nitrogénben tároljuk, melyben életképességüket évekig megőrzik. Az embriómélyhűtés eredményeinek javítására új médiumot teszteltem. Korábbi irodalmi utalások szerint az zwitterion-alapú (ZBS) embrió médiumok hatékonyabbak az IVF szarvasmarha embriók manipulálására és tárolására, mint a hagyományos foszfát-bázisú (PBS) oldatok. Kísérleteimben, az előbbieken már említett protokoll szerint donorokat szuperovuláltattam és embrió kinyerést végeztem egyrészt ZBS (20 donor) másrészt PBS öblítő médiummal, a hetedik napon.

A további procedúrákat minden esetben konzekvensen az öblítéshez használt médiummal folytattam. Nem volt eltérés a mosott donorok és embriót adott donorok arányában (85,3% és 82,9%), a kinyert összes embrió számban ($8,4 \pm 6,8$ és $7,8 \pm 6,3$) vagy a számolt sárgatestek és kimosott embriók arányában (73,0% és 76,4%) összehasonlítva a ZBS és PBS tartalmú médiumokat. Nem találtam különbséget a kimosott élő embriók számában sem ($4,7 \pm 2,8$ és $4,2 \pm 3,4$). Az első- (20 db és 18 db) és másodosztályú (23 db és 21 db) embriókat részben frissen beültettük, részben mélyhűtöttük (1. osztályú 23 db és 28 db, másodosztályú 19 db és 24 db) ZBS és PBS médiumban, 1,5 mólos etilénlikol krioprotektív anyaggal. A különböző minőségű frissen beültetett embriók vemhességi eredménye hasonló volt a ZBS illetve PBS közegben hűtötteknél (1. osztályú, 60,0% és 55,6%, 2. osztályú, 34,8% és 28,6%). Szignifikáns különbséget találtunk azonban a mélyhűtött embriók ültetési eredményénél, az első osztályúaknál 56,5%-os és 39,2%-os vemhességet kaptunk, míg a 2. osztályúaknál 26,2% és 16,7% ($P < 0,05$). Az eredmények alapján megállapítható, hogy tropikus környezetben a zwitterion tartalmú médiumok eredményesebben használhatók az embriók mélyhűtésére, mint a hagyományos foszfát puffer alapúak.

4 A szuperovulációs válaszreakció ismételhetősége és örökölhetősége

Az ovuláció szám és kinyert embrió mennyiség ismételhetőségének és örökölhetőségének meghatározásához holstein fríz teheneket (28 egyed) és lányaikat (28 egyed) szuperovuláltattam (összes szuperovuláció száma: 235 db). A donorokat az általam kifejlesztett módszerrel, FSHp (Pluset, Serono, Olaszország) hormonnal szuperovuláltattam és az embrió kinyerést a 7. napon végeztem. Az analízishez a sárgatestek és a kinyert összes embrió számát, valamint ezek log-transzformált értékeit használtuk fel. A genetikai paramétereket VCE4 szoftverrel számoltuk. Az örökölhetőségi számításokhoz a szuperovulációs programok számát, mint véletlen effektust használtuk, míg az ismételhetőségi kalkulációhoz az állandó környezetet illesztettünk. A számítások eredményeképpen az, örökölhetőség $h^2 = 0,234$ és az ismételhetőség $R = 0,386$. A szaporodásbiológia terén mindkét érték közepesnek tekinthető.

5 Endokrin vizsgálatok

5.1 Szuperovulációs hormonkezelés hatására jelentkező progeszteron vérkoncentráció és ciklusváltozások trópusi környezetben, holstein fríz teheneiben

Progeszteron vérkoncentráció és ivari ciklus változásait vizsgáltam 20 szuperovuláltatott donor tehenen, minimum 70 napig tartó vérvételi sorozattal. A szuperovulációs protokoll megegyezett az általam kifejlesztettel. A vérvételek az embriókinyeréskor és az azt követő időszakban hetente kétszer voltak. A mintavételi sorozatot a második megfigyelt ivarzáskor vagy cikluszavarok esetén az első ivarzáskor fejeztem be. A kísérletbe vont állatok progeszteron szintjei nem tértek el egymástól az embriókinyeréskor ($39,0 \pm 27,1$ nmol/l), első ($12,0 \pm 6,0$ nmol/l) vagy második ($10,7 \pm 2,2$ nmol/l) ivarzáskor. Szignifikáns összefüggést találtam a progeszteron vér titer változás és a sárgatestek száma között ($P < 0,0001$). Az embriókinyerést követően a donoroknál különböző időtartam után állt vissza a normál ciklus.

I. csoportba tartoznak azon tehenek, amelyek $2,2 \pm 0,8$ nappal később,

II. csoportba azok, melyek $11,0 \pm 1,9$ nappal később,

III. csoportba tartozó állatok hosszú acikliás periódus után $28,8 \pm 2,2$ nap eltelté után ivarzottak, IV. csoportba azok a donorok kerültek, amelyek igen hosszú ideig nem ivarzottak vagy cisztás petefészek elváltozást találtam.

Az adatok elemzéséből megállapítottam, hogy az embrió kinyerésekor mért progeszteron koncentráció alapján nem lehet a későbbi ciklusig eltelt időre vagy az esetlegesen fellépő későbbi zavarokra következtetni.

A további elemzéskor az a végső következtetés vonható le, hogy trópusi környezetben szuperovuláltatott holstein fríz donorok nagy hányada szenvedhet ciklus zavarokban. Mindez rámutat arra az eddig már bizonyított tényre, hogy intenzíven tejelő szarvasmarha donorok igen érzékenyek a hőstresszre.

5.2 A magas hőmérséklet hatása a metabolikus hormonok, ketonanyag és progeszteron vérkoncentrációjára és ezek befolyása a szuperovulációs eredményre

Ebben a kísérletben a metabolikus hormonok (inzulin, leptin, inzulin-szerű növekedési hormon – I, tiroxin és trijódtrionin), progeszteron és béta-hidroxi-butirát vérkoncentráció értékeit elemeztem és a szuperovulációs eredményre való hatását vizsgáltam trópusi környezetben. Az elemzésnél figyelembe vettem még a testtömeget, tápláltsági állapotot és a laktációs stádiumot is. A kísérletben a donor telep állatait a korábban ismertetett módon szuperovuláltattam és az embrió kinyerését a 7. napon végeztem. A sárgatestek és kinyert embriók számát feljegyeztem és későbbi analízis céljából vért vettem. Minden vizsgált vérkoncentráció az élettani értéken belül volt, így hiperketonémia sem fordult elő. A szuperovulációs válaszreakció alapján három csoportba osztottam az állatokat (sikertelen [CL száma = 0-2], sikeresen [CL száma = 3-11] és jól [CL száma = 12-től] szuperovuláltatható donorok) és a hormonszinteket a csoportok szerint értékeltem. Úgy tűnik, hogy az inzulin-szerű növekedési hormon–I közvetlenül befolyásolja a kialakuló sárgatest mennyiségét és a progeszteron koncentráció változása szignifikánsan követi a sárgatestek számát. Bár a leptin koncentráció növekedett a sárgatestek számával, és relatíve jól korrelál a tápláltsági állapottal, kevésbé korrelál az inzulinnal és az inzulin-szerű növekedési hormon – I-el. Eszerint a leptin szerepe a szuperovulációs válaszreakció szabályozásában hasonlóan a többi metabolikus hormonhoz, nem bizonyított.

6 Összefoglalás

Munkám egy részében mérsékelt éghajlatról semiarid klímára szállított Holstein Fríz donorok akklimatizációs problémáival foglalkoztam. Megállapítottam, hogy a drasztikus éghajlatváltozás jelentős zavarokat okozott a szaporodásbiológiai funkciók területén, ami hónapokig tartó acikliás periódusban és másfél évig tartó szuperovulációs válaszképtelenségben nyilvánult meg.

Szárazon álló tehenek és üszök embriótermelési eredményeit tejelő tehenek hasonló adataival összevettem és arra a következtetésre jutottam, hogy a tejelők embriótermelő képessége meleg környezetben rosszabb, mint a tejet nem termelőké. Ennek oka az, hogy az intenzív tejtermelés során a szervezet jelentős mennyiségű hőt termel és emiatt a szarvasmarha hőleadása gátolt. Ez a testhőmérséklet növeléséhez vezet, ami pedig az embrió normális fejlődését akadályozza.

Kísérleteim során az irodalomban leírt megfigyelést, mely szerint a meleg környezetben tartott donorok szuperovulációs válaszkészsége a mérsékelt hőmérsékletben hormonkezelt állatokéval szemben nem csökken, megerősítettem. Arra azonban még kevés irodalmi adat áll rendelkezésre, hogy extrém magas hőmérsékletnek kitett donor állatok embriótermelése miképpen változik. Munkám során az El Niño jelenség hőstresszelő hatását végigkövettem és azt tapasztaltam, hogy az embrió minőség romlása mellett a szuperovulációs válaszkészség is változott.

A legjobb embrió donorok szárazra állításával, a szuperovulációhoz használt hormon kiválasztásával valamint gyárilag ajánlott dózísának 60%-ra való redukálásával és a két szuperovulációs program közti idő csökkentésével a donor

központ embriótermelését intenzívvé tettem. Kísérleteimmel feltártam, hogy a szuperovulációs hormonkezelések ismételhetőségének gátja a cikluszavarok jelentkezése, mely nimfomániában és két ivarzás közti idő meghosszabbodásában mutatkozik.

A donor telepen az egyes tehének ismételt embriótermelésbe vétele lehetőséget adott a szuperovulációs válaszreakció ismételhetőségének (R) kiszámítására. Erre egyrészt a fellelhető irodalom kevés, másrészt csak kisszámú egyedek adatait értékelték. Dolgozatomban ezt a hiányt pótolva meghatároztam az R értéket. Munkám során anya/leány párokat is szuperovuláltattam nagyobb számban, ami lehetőséget adott a hormonális válaszreakció és az embriótermelő képesség öröklődhetőségének (h^2) megállapítására. Ez az irodalomban eddig nem publikált adat. A tartási/takarmányozási és a meteorológiai környezet állandósága miatt mindkét számításnál a környezeti faktorok alacsonyak voltak.

Hosszantartó vérvételi sorozatot végeztem a donor tehének embriónyerés utáni progeszteron szint nyomon követésére. Megállapítottam, hogy az embriómosási időpontban mért P4 értékből nem következethetünk a későbbiekben megfigyelt ciklus rendellenességekre. A szuperovuláltatott donorok mintegy 50%-a ciklus zavarokat mutatott (petefészek cisztásodás és hosszú ideig tartó anösztrusz) és csak a maradéknál figyelhettünk meg normális ciklust vagy rövid ideig tartó anösztruszt.

Embriónyeréskor vett vérből egyes metabolikus hormonok, P4 és ketonanyag (BHB) meghatározását is végeztem. Arra a megállapításokra jutottam, hogy

- a trópusi környezet nem befolyásolja a vizsgált hormon paramétereiket;
- a szuperovulációs kezelésre reagáló egyedeket szignifikánsan magasabb leptin és IGF-I szintek jellemezték,

mint az arra nem reagáló egyedeket. Nem volt ugyanakkor lényeges különbség a homeostatikus reguláció egyes hormonjainak (inzulin, T4, T3) a koncentrációjában, és nem különböztek egymástól lényegesen a kezelésre 3-15 ill. 15 fölötti számú CL kialakulásával reagáló állatok értékei sem;

- A leptin koncentrációja jól korrelált a tápláltsági állapottal, ill. valamivel kisebb mértékben az inzulin és az IGF-I szintjével. Nem mutatott viszont összefüggést a CL-ek számával és a mosáskori P4 szintekkel. Ez arról tanúskodik, hogy a szuperovulációs kezelésre nem reagáló egyedek szignifikánsan alacsonyabb leptin szintje csupán az illető egyedek rosszabb tápláltsági állapotát tükrözik, a leptin közvetlen szerepe a szuperovulációs válaszkészség metabolikus alapjainak a szabályozásában valószínűtlen;

- viszonylag szoros pozitív korreláció állt fenn az IGF-I szintje és a CL-ek száma, továbbá a mosáskori P4 szint között, ami az STH-IGF-I tengely működése és a szuperovulációs válaszkészség közötti kapcsolatot erősíti meg.

7 Új tudományos eredmények

- A kímaváltozás következtében fellépő akklimatizációs problémák feltárása holstein fríz donoroknál
- A trópusi környezetben levő donor központban levő tehenek embriótermelésének optimalizálása.
- A trópusi környezetben szuperovuláltatott holstein fríz donorok cikluszavarainak feltárása.
- Az extrém magas klíma alatt (El-Niño jelenség) szuperovuláltatott holstein fríz tehenek petefészkek-reakciójának és embrió termelésének meghatározása.
- Trópusi környezetben szuperovuláltatott donor tehenek embrió kinyeréstől számított hosszú ideig való progeszteron profil és ciklus változás leírása.
- Meleg klímán szuperovuláltatott donor tehenek metabolikus hormonkoncentráció vizsgálata és azok hatása a szuperovulációs válaszreakcióra.
- Holstein fríz donorok szuperovulációs válaszreakciójának és embriótermelésének ismételtetősége és örökölhetősége.

8 Köszönetnyilvánítások

Köszönetemet fejezem ki a témavezetőmnek a magas színvonalú szakmai vezetésért

Prof. Dr. Cseh Sándornak,

témabizottsági tagjaimnak

Prof. Dr. Solti Lászlónak és
Prof. Dr. Huszenizca Gyulának.

Együttműködő munkatársaimnak

Celso Walter Costa Barros

Heraldo Marcos Cruviel

Dr. Gáspárdy András

Az AGROINVEST vezetőségének, hogy részt vehettem a munkában

Varga Zsuzsanna

Balla Antal

Feleségemnek és gyerekeimnek

9 Publikációk jegyzéke

9.1 Cikk

- Bényei B, Barros CWC, 1998. Embryo production in a donor cattle herd transferred from temperate to arid tropical climate. *Hung. Vet. Journal.* 120:600-604.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. The pear cactus as a possibility for the animal breeding of semiarid climates. *Takarmányozás és Állattenyésztés. (Animal Breeding and Nutrition)* 48:475-480.
- Bényei B, Barros CWC, 2000. Efeito da superovulação sobre o desempenho de bovinos doadores de embrião importados de clima temperado para clima tropical nos dois primeiros anos de adaptação (Effect of superovulation on performance of bovine embryo donors imported from temperate zone to tropical climate during the first two years of adaptation). *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Brazilian Archives of Veterinary and Animal Sciences).* 52:366-371.
- Bényei B, Barros CWC, 2000. Physiological variations of reproduction parameters of imported Holstein-Friesian cows from Hungary to Northeast region of Brazil. (Variações fisiológicas de parâmetros reprodutivos em vacas Raça Holandesa importadas da Hungria para o Nordeste Brasileiro.) *Brazilian Journal of the Veterinary Research and Animal Science* vol.37 n.3. São Paulo.
- Bényei B, Gáspárdy A, Barros CWC, 2001. Changes in embryo production results and ovarian recrudescence during the acclimatisation to the semiarid tropics of embryo

- donor Holstein-Friesian cows raised in a temperate climate. *Anim Repr Sci* 68:57-68.
- Bényei B, Gáspárdy A, Cseh S, 2003. Effect of the El Nino phenomenon on the ovarian responsiveness and embryo production of donor cows. *Acta Vet Hu* 51:209-218.
- Bényei B, Gáspárdy A, Komlósi I, Pécsi A, 2004. Repeatability and heritability of ovulation number and embryos in dam-daughters pairs in superovulated Holstein-Friesian cows. *Reproduction in Domestic Animals* 39:99-102.
- Bényei B, Kulcsár M, Gáspárdy A, 2004. Progesterone profiles and estrus cycle changes following superovulatory treatment on Holstein-Friesian dairy cows in tropical environment. *Acta Vet. Hu*. Accepted for publication

9.2 Poszterek

- Bényei B, 1997. Superovulation response of the Holstein-Friesian cattle - born and grown up in mid-Europe - in tropical environment. 13th Conference of the European Embryo Transfer Association (A.E.T.E., Association Européenne de Transfert Embryonnaire). Lyon, France.
- Bényei B, 1997. Hungarian indigenous breeds in the Research Institute of the University of Veterinary Sciences, Üllő, Dóra-farm. Day of the Hungarians. Petrolina, Brazil.
- Bényei B, 1997. Embryo Transfer: One modern technique to improve the production of the milk. Day of the Hungarians. Petrolina, Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1997. Partnership to develop of the intensive milk production (IMPM) in the North-East of Brazil. 12nd Annual conference of the Brazilian Embryo Transfer Society. (SBTE, Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões). Foz de Iguaço-PR. Brazil.

- Bényei B, Barros CWC, 1997. Acclimatization problems of the imported Holstein-Friesian herd in Brazil. 12nd Annual conference of the Brazilian Embryo Transfer Society. (SBTE, Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões). Foz de Iguaçu-PR. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. Superovulatory Response of Continuously Heat Stressed Heifers and Cows in Brazil. 25th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Quebec City, Canada.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. Superovulação de vacas Holandesas com dosagem reduzida de FSHp. (Superovulation with reduced dose of FSHp) 14th Annual conference of the Brazilian Embryo Transfer Society. (SBTE, Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões), Campus de Jordão-SP. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. O efeito do fenômeno El Niño no desempenho de doadoras de embriões bovinos no nordeste brasileiro (The effect of the phenomena El Niño on the result of cattle embryo donors in the northeastern Brazil) 14th Annual conference of the Brazilian Embryo Transfer Society. (SBTE, Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões), Campus de Jordão-SP. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. Lactação na produção in vivo de embriões bovinos. (Lactation on the production of the bovine In Vivo embryos) 14th Annual conference of the Brazilian Embryo Transfer Society. (SBTE, Sociedade Brasileira de Transferência de Embriões), Campus de Jordão-SP. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 2000. Embryo production of heat-stressed donor cows at different lactation stages. 26th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Hague, The Netherlands.
- Barros CWC, Bényei B, 2000. Comparison between zwitterionic and phosphate buffer-based bovine embryo

handling solutions for embryo storage and transfer in a tropical environment. 26th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, Hague, The Netherlands.

Bényei B, Barros CWC, 2001. The effects of FSH dose and frequency of embryo collection on superovulatory response in lactating Holstein cows. 27th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, USA.

Bényei B, Barros CWC, 2001. Nymphomania and irregular cycle are the limits to repeated bovine superovulation programs. 27th Annual Conference of the International Embryo Transfer Society, USA.

Bényei B, Dayan A, Cunha HB, Paula ML, 2002. Studies on the Effect of Age of Corpus Luteum to the Results of a Commercial OPU Program in Brazil. Annual Conference of the European Society for Domestic Animal Reproduction. Parma, Italy.

9.3 Absztraktok

Bényei B, Barros CWC, 1997. Partnership to develop of the intensive milk production (IMPM) in the North-East of Brazil. Arquivo de Faculdade Veterinario UFRGS, Porto Alegre, suppl., 25:186-187. Brazil.

Bényei B, Barros CWC, 1997. Acclimatization problems of the imported Holstein-Friesian herd in Brazil. Arquivo de Faculdade Veterinario UFRGS, Porto Alegre, suppl., 25:188-189. Brazil.

Bényei B, 1997. Superovulation reponse of Holstein-Friesian cattle - born and grown up in Mid-Europe - in tropical environment. 13th Conference of the European Embryo Transfer Association (A.E.T.E., Association Européenne de Transfert Embryonnaire). Lyon, p.76. France.

- Bényei B, Fári M, Barros CWC, Solti L, 1999. Superovulatory response of continuously heat stressed heifers and cows in Brazil. *Theriogenology*. 51:260.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. Superovulação de vacas Holandesas com dosagem reduzida de FSHp. (Superovulation with reduced dose of FSHp) *Arquivo de Faculdade Veterinário UFRGS, Porto Alegre, suppl.*, 27:214. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. O efeito do fenômeno El Niño no desempenho de doadoras de embriões bovinos no Nordeste Brasileiro (The effect of the phenomena El Niño on the result of cattle embryo donors in the northeastern Brazil) *Arquivo de Faculdade Veterinário UFRGS, Porto Alegre, suppl.*, 27:213. Brazil.
- Bényei B, Barros CWC, 1999. Lactação na produção in vivo de embriões bovinos. (Lactation on the production of the bovine In Vivo embryos) *Arquivo de Faculdade Veterinário UFRGS, Porto Alegre, suppl.*, 27:215. Brazil.
- Barros CWC, Bényei B, 2000. Comparison between zwitterionic and phosphate buffer-based bovine embryo handling solutions for embryo storage and transfer in a tropical environment. *Theriogenology*. 53:308.
- Bényei B, Barros CWC, 2000. Embryo production of heat-stressed donor cows at different lactation stages. *Theriogenology*. 53:492.
- Bényei B, Barros CWC, 2001. The effects of FSH dose and frequency of embryo collection on superovulatory response in lactating Holstein cows. *Theriogenology*. 55:512.
- Bényei B, Barros CWC, 2001. Nymphomania and irregular cycle are the limits to repeated bovine superovulation programs. *Theriogenology*. 55:356.
- Bényei B, Dayan A, Cunha HB, Paula ML, 2002. Studies on the Effect of Age of Corpus Luteum to the Results of a

Commercial OPU Program in Brazil. ESDAR Poster Abstracts. *Reproduction in Domestic Animals*. 37:225.

9.4 Jegyzet

Bényei B, 1997. Produção e Transferência de embriões, (Production and Transfer of the Embryos). Handbook for the refresher courses of the CODEVASF (Apostilha para os cursos de pós graduação de CODEVASF).