



SZENT ISTVÁN EGYETEM

**VIZSGÁLATOK A SZAPORODÁSI CIKLUS PERZISZTENCIÁJÁNAK
HOSSZABBÍTÁSA CÉLJÁBÓL, BROJLER SZÜLŐPÁR-
ÁLLOMÁNYOKBAN**

Doktori értekezés tézisei

VÉGI BARBARA

Gödöllő

2013

A doktori iskola

Megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

Tudományága: Állattenyésztés-tudomány

Vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, az MTA levelező tagja
SZIE, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet
Takarmányozástani Tanszék

Témavezető: Dr. Barna Judit DVM
tudományos főmunkatárs, PhD
Haszonállat- génmegőrzési Központ
Genetikai és Szaporodásbiológiai Kutatócsoport

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, KITŰZÖTT CÉLOK

1.1. Bevezetés, a téma jelentősége

Az egyre növekvő baromfihús iránti igény maga után vonja a szülőpár állományok számának növelését, valamint termelésük fokozását. A genetikai munka célkitűzéseit elsődlegesen a piaci igények határozzák meg, ami a legfontosabb szelekciós szempontnak a kiváló húskihozatalt és a minél magasabb mellhús arányát tartja. A testsúlyra történő intenzív szelekció azonban, az egyes fajtáknál eltérő mértékben, de negatívan hatott a szaporodásbiológiai mutatókra (*Reddy és Sadjadi, 1990; Brillard, 2009*).

A különböző tartástechnológiák a hústípusú szülőpár állományok termelésben tartását 61-64 hetes életkorig ajánlják. Az elmúlt néhány évben a tojások termékenységének drasztikus romlása észlelhető, a terméketlen tojások aránya eléri a 15%-ot, így gazdaságtalanná válik az állományok fenntartása az ajánlott életkorig. Ez a probléma világszerte gondot okoz a szakembereknek (*McDaniel, 1986; Creel és mtsai., 1990; Walsh és Brake, 1997; Fragoso és mtsai., 2012*).

A tojások termékenységét a hímivar oldaláról az ondó minősége és a kakasok libidója, a nőivar részéről a tojás minősége, valamint a tojó spermiumbefogadó-képessége határozza meg. A technológiai előírások – a kakasok túlhízásának elkerülése és ezért a mozgásra való késztetés céljából – a termelési ciklus előrehaladtával csökkentik a kakaslétszámot, vagyis tágítják az ivararányt. Jóllehet, ez a technológiai előírás nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket, változatlanul érvényben van. A termelő cégek ezért - kényszermegoldásként - a termelési ciklus közepe táján (40-45. élethét) részlegesen, esetleg teljes mértékben lecserélik az – úgymond – „előregedett” kakasokat fiatalokra. Ez az intézkedés rendkívüli módon megnöveli az előállítási költségeket, feltehetőleg nagymértékű distresszt, és ezzel járó termeléseszkökenést okoz az állományban, ráadásul eredményessége - az eddigi tapasztalatok szerint - csak átmeneti, tehát megkérdőjelezhető.

A fentiek alapján tehát sürgető olyan kutatások végzése, amelyek megvizsgálják annak lehetőségét, hogy a termékenység perzisztenciája meghosszabbítható-e, vagyis az egy tojóra eső termékeny tojások száma növelhető-e a gazdaságos szintig, vagy a jelenlegi genetikai lehetőségek korlátozzák e lépéseket. Vizsgálataink során újszerű, az általánosan alkalmazott módszereknél informatívabb termékenységvizsgálati eljárásokat alkalmaztunk.

1. 2. Célkitűzéseink

- a) különböző, a szaporaságra ható, technológiai változtatások (ivararány, kakascserre) hatásának vizsgálata a termékenység perzisztenciájára;
- b) organikus szelén + E vitamin takarmány-adalékok hatásának vizsgálata mindkét ivari funkcióra;
- c) szintetikus GnRH előkezelések hatásának vizsgálata a hímek termékenyítőképességének (libidó, ondóminőség), valamint az állomány termékenységének fokozására,
- d) mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazásának hatása a termékenység perzisztenciájára a termelési ciklus második felében.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleteinket a jelenlegi Haszonállat-génmegőrzési Központ, korábban Kisállattenyésztési Kutatóintézet és Génmegőrzési Koordinációs Központ baromfi telepén végeztük Ross 308 húshibrid szülőpár állománnyal.

2.1. Különböző ivararányok és kakascserék hatásának vizsgálata

A kísérlet alapja az a feltételezés volt, hogy a termékenységi problémák alapvető oka a kevés spermium, illetve a spermiumhiány a női nemi utakban. Ennek felmérésére különböző ivararányokban állítottunk be csoportokat, így módunk volt a kakasok létszámának hatását megvizsgálni. A kakasok életkorának hatását pedig különböző életkorban és arányban fiatal kakasok betelepítésével (kakasfrissítés, spiking), a „ráunás” tényét pedig két csoport között a kakasok kicserélésével, valamint az ivararány szűkítésével teszteltük. A termelési ciklus során, a 27.-59. élethét között, a termékenységet lámpázással, valamint friss tojások vizsgálatával (*PSPA – Perivitelline Sperm Penetration Assay*) ellenőriztük. Meghatároztuk a „valódi” termékenységet (VT%), vagyis az „igen” korai embrió elhalások mértékét és nyomon követtük a keltetési adatokat. Etológiai megfigyelésekkel ellenőriztük, hogy a kakasok kora hogyan befolyásolja a párzások gyakoriságát.

2.2. Szerves Se és E-vitamin hatásának vizsgálata a hímivarban

Ebben a kísérletben egyedi ketrecekben helyeztünk el 20 db Ross 308 kakast. A kísérleti csoportba tartozó kakasok (10 db) takarmányához 0,3 mg/kg a szelént elsősorban szelenometionin formájában tartalmazó Sel-Plex[®]-et (*Alltech Ltd.*) és 200 mg/kg Lutavit E 50 S-t (*BASF*) adagoltunk, a kontroll csoportba tartozó állatok a takarmányban szokásos szerves szelént (0,2 mg/kg nátrium-szelenit) és 100 mg/kg E-vitamint kaptak. Az ondóvételre történő trenírozást követően hetente kétszer, *Burrows és Quinn (1935)* módszerét követve *dorso abdominális* masszázstechnikával ondómintát vettünk. A spermatermelést és a spermaminőséget heti egy alkalommal vizsgáltuk, az állatok 31. és 61. élethete között. Az ondó minősítéséhez a makroszkópos vizsgálaton túl mikroszkópos, egyfunkciós vizsgálatokat végeztünk. A szaporodási ciklus lezárásakor here mintákat gyűjtöttünk szövettani vizsgálatra.

2.3. Szerves Se és E-vitamin hatásának vizsgálata mindkét ivarban

Négy kísérleti csoportot alakítottunk ki 80 tojó/8 kakas létszámmal. Az ivararányt minden csoportban a technológiai előírásoknak megfelelően változtattuk, azaz csökkentettük a kakasok létszámát a 36., a 40. és a 44. életheteken. A kontroll csoport tehát a technológiai előírásoknak megfelelő kakaslétszámmal termelt, a szelént szerves formában és 0,2 mg/kg mennyiségben tartalmazó teljes értékű keveréktakarmánnyal takarmányozva. Ezen kívül 3 kísérleti csoportot alakítottunk ki, melyek közül az elsőben csak a kakasok, a másodikban csak a tojók, míg a harmadikban mindkét ivar takarmányához 0,3 mg/kg szelено-metionint tartalmazó Sel-Plex® (*Alltech Ltd.*) és 200 mg/kg Lutavit E 50 S (*BASF*) kiegészítést alkalmaztunk a 20. élethétől a termelés befejezéséig. A termelési paraméterek nyomon követése és a kakasmanipulációk során végzett vizsgálatok mellett, különböző életkorokban a petevezetők uterovaginális és infundibuláris szakaszából és a herékből szövettani mintákat gyűjtöttünk. A szerves szelén lehetséges stressz-védő szerepének ellenőrzésére szteroid analízist végeztünk bélsár és tojásszék mintákból.

2.4. Szintetikus GnRH előkészítés hatásának vizsgálata a hímivarban

A hímivarban a termelési ciklus második felében jelentkező spermaminőség-romlás mérséklésére, valamint a csökkent libidó emelésére szintetikus GnRH (*Ovurelin inj.; Reanal*) készítménnyel történő kezelést végeztünk a maturáció szenzitív szakaszában. 40 db ROSS 308 kakast 20 hetes korban egyedi fülkékbe helyeztünk, mesterséges megvilágításban. A GnRH kezelések időpontját nem az életkorhoz, hanem a külső ivarjelleg alakulása alapján határoztuk meg. A *GnRH1* csoportot 23 hetes korban, a *GnRH2* csoportot 25 hetes korban, míg a *GnRH3* csoportot 42 hetes korban kezeltük szintetikus GnRH analóggal 5 mg/kakas/nap dózisban, intramuscularis applikálással, egy héten át három alkalommal, másnaponta. Az ondóvételre történő trenírozást 26 hetes korban kezdtük meg, majd az ondóminősítést 28 hetes kortól. 28 és 32 hetes kor között hetente 2x, majd hetente 1x minősítettük az ondómintákat, de az ondóvétel folyamatosan heti 2 alkalommal történt. Az ondó minősítése során meghatároztuk a mennyiségét, a spermiumok koncentrációját, a spermiumok motilitását, az élő-ép sejtek, a morfológiailag rendellenes sejtek és az elhalt sejtek arányát.

2.5. Szintetikus GnRH előkészítés hatásának vizsgálata a termékenységre

Természetes pázás mellett is teszteltük az ivarérés különböző idejében adott szintetikus GnRH analóg hatását a termékenységre, illetve a szexuális viselkedésre. Három kísérleti csoportot

alakítottunk ki, melyekbe 80 tojó + 8 kakas tartozott. Az egyes kísérleti csoportokban 21, 23 és 25 hetes korban kezeltük a ROSS 308 kakasokat kétnaponta 3 alkalommal 5 mg szintetikus GnRH analóg/kakas/nap dózisban, intramuscularis applikálással. A vizsgálat során a termelési paraméterek rögzítése és a tojásvizsgálat (PSPA) mellett etológiai megfigyeléseket végeztünk.

2.6. Mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazásának vizsgálata

Annak a feltételezésnek az igazolására, miszerint a brojler szülőpárok terméketlenségi problémájának hátterében elsősorban a párzások csökkent száma, valamint a tojók fokozott spermiumürítése áll, mesterséges termékenyítés kiegészítő hatásának vizsgálatát is szükségesnek tartottuk. A termékenyítéseket attól az időponttól kezdtük, amikor az előzetes tojásvizsgálatok alapján csökkenni kezdett a spermium transzport a nőivarban. Ezzel célunk az volt, hogy a rátermékenyített csoportban a felgyorsult spermiumürülést extra spermiumadással próbáljuk kompenzálni. Ebbe a kísérletbe 60-as tojólétszámú csoportot vontunk be, a hozzájuk tartozó kakasokkal. A csoportot teljes mértékben a technológia ajánlása (takarmányadag, fény, kakaslétszám stb.) szerint termeltettük. A kiegészítő termékenyítéseket a tojók 45. élethétben kezdtük fiatal kakasok spermájával, hetente 1 alkalommal a kora délutáni órákban, mindig ugyanazon a napon. Az inszeminálási dózis a 45. és 55. hét között 200-300 millió spermium/tojó/hét volt, ezt követően 400-500 millió/tojó/hét-re emeltük az adagot. A csoport eredeti „öreg” kakasai ott maradtak az állományon, tehát valóban csak rásegítettünk a termékenyítésekkel.

Vizsgáltuk a termelési paramétereket, a termékenyítéssel járó stressz hatását, valamint a tojók petevezetőjében a spermiumpopuláció változását (PSPA).

3. EREDMÉNYEK

3.1. Különböző ivararányok és kakascserék hatásának vizsgálata

Ebben a kísérletben vizsgálatunk arra irányult, hogy az 50. élethét után jelentkező termékenység csökkenését, hogyan lehetne kiküszöbölni az ivararány, illetve „spiking” azaz kakascserés technikák alkalmazásával. A vizsgált időszakot három részre bontottuk (1. harmad: 27-37. élethét; 2. harmad: 38-48. élethét; 3. harmad: 49-59. élethét), hogy az egyes csoportokon belüli változásokat is nyomon tudjuk követni.

A legintenzívebb spermium transzportot és a legmagasabb termékenységi eredményeket a 31. és 40. élethetek között találtuk, így a csúcstermelés időszaka is erre az időszakra tehető. A termelés leszálló ágában a technológiai kontroll csoportban, a 100%-os kakascserés csoportban és azokban a csoportokban, ahol kicseréltük a kakasokat a csoportok között, szignifikánsan csökkent mind a penetrációs nyílások száma, mind a termékenységi eredmények. Azokban a csoportokban, ahol 50%-ban cseréltük le az öreg kakasokat fiatalra, illetve ahol növeltük a kakasok létszámát, ott növekedett a spermium transzport, de a termékenységi eredményekben ez csak átmeneti javulást eredményezett. A termelés utolsó harmadában a kontroll csoportban csak két csoporthoz képest (ahol kicseréltük a kakasokat a két csoport között) volt szignifikánsan intenzívebb a spermium transzport. A számunkra legérdekesebb periódusban, a 3. harmadban a lámpázási és a „valódi” termékenységgel kapcsolatban is hasonló tendencia mutatkozott.

A lámpázás során kiesett tojások további vizsgálata során az értékeléshez három kategóriába soroltuk a mintákat. A „valóban” terméketlen kategóriába soroltuk azokat a tojásokat, amelyekben egyáltalán nem tudtuk kimutatni embrionális sejtsztódást. A következő kategóriába a PI festéssel kimutatott embriók tartoztak, azok, melyek már a petevezetőben elhaltak. Az inkubáció első hetében történő embrióelhalások fenotípusait is meghatároztuk, azonban az egyes fenotípusok csekély számban fordultak elő és a csoportok között sem mutatkozott lényeges különbség, ezért jobbnak láttuk az értékelés során ezeket a fenotípusokat összevonni és együtt értékelni, mint a keltetés első hetében történt elhalásokat.

Az egyes csoportok kategóriánkénti eredményeit a kontroll csoporthoz viszonyítva elmondhatjuk, hogy a petevezetőben elhalt embriók aránya nem különbözött egymástól, míg azokban a csoportokban, ahol kicseréltük egymás között a kakasokat, szignifikánsan ($p \leq 0,05$) magasabb volt az első héten elhalt embriók aránya (8,16%; 7,95%) a kontroll csoporthoz (5,07%) képest. A számunkra legfontosabb termelési periódusban, azaz a 3. harmadban a kakascserés csoportokban, legnagyobb arányban az első héten elhalt embriókat tartalmazó tojások fordultak elő.

A kontroll csoporthoz viszonyítva a 100% kakascserés csoportban viszont szignifikánsan ($p \leq 0,05$) több embrió halt el a petevezetőben.

Az etológiai megfigyelések során az egy kakasra jutó párzások számát vizsgáltuk. A 44. élethéten, közvetlenül a kakascserét követően a legtöbb párzást az 50% kakascserés csoportba bekerült fiatal kakasok produkálták (13,3 párzás/kakas), amit feltehetően a csoportban maradt öreg kakasokkal történt rivalizálás indukált. A második legtöbb párzást a 100%-ban fiatal kakasra cserélt csoportban figyeltünk meg (8,6 párzás/kakas). A párzások tekintetében egy hét elteltével is a vegyes korosztályú kakascsoportból a fiatal kakasok voltak a legaktívabbak (15,3 párzás/kakas), azonban az öreg kakasok is intenzívebben pároztak (12 párzás/kakas). A 100% kakascserés csoport fiatal kakasainak is nőtt az előző héthez képest a libidója (14 párzás/kakas). Az 52. héten a legalacsonyabb számú párzást az 50%-os kakascserés csoport öreg kakasainál rögzítettünk (4,3 párzás/kakas), ami abból adódhatott, hogy az un. öreg kakasok kifáradtak a tyúkokért és a táplálékért folyó küzdelemben. A legnagyobb aktivitást azonban ennek a csoportnak a fiatal kakasai mutatták (9 párzás/kakas).

3.2. Ondóvizsgálatok eredményei

A 0,3 mg/kg Sel-Plex[®] (*Alltech Ltd.*) és 200 mg/kg Lutavit E 50 S (*BASF*) hatását vizsgáltuk a hímivarban. Az értékelés során, úgy mint az előzőekben, itt is három részre osztottuk a vizsgált periódust, azért hogy megállapíthassuk azt is, hogy az ondó minősége csökken-e olyan mértékben a termelési ciklus előrehaladtával, mely indokolná a termékenység visszaesését.

A kontroll csoportban nem tapasztaltuk az ondó minőségének olyan mértékű romlását, mely indokolná a termékenység nagymértékű csökkenését a termelési ciklus előrehaladtával. A szeleno-metionin és E-vitamin kiegészítéssel mégis javítani tudtunk a spermaminőségi paramétereken, hiszen a kiegészítés szignifikánsan javította a spermiumok motilitását ($p \leq 0,01$), a sejt-koncentrációt ($p \leq 0,05$), valamint az élő, ép spermiumok arányát ($p \leq 0,01$). Ezzel párhuzamosan alacsonyabb arányban voltak rendellenes és elhalt sejtek a mintákban a kontroll kakasok adataihoz képest. Az sem elhanyagolható eredmény, hogy a szeleno-metionin és az E-vitamin hatására csökkent a másodlagos rendellenességek aránya a mintákban, amely azt mutatja, hogy javult az spermiumok ellenálló képessége a környezeti hatásokkal szemben.

A szövettani eredmények alapján elmondható, hogy a szeleno-metionin és az E-vitamin pozitív hatással volt a here szövettani paramétereire és ezzel a spermiumképzésre, ami alátámasztja a spermatológiai vizsgálat eredményeit.

3.3. Szerves Se és E-vitamin hatásának vizsgálata mindkét ivarban

A nátrium-szelenitet és E-vitamint kisebb mennyiségben tartalmazó takarmányt fogyasztó kontroll csoport jó termékenységi eredményeket mutatott, jóllehet a ciklus végén a valódi és lámpázási termékenység értékei távolodtak egymástól, azaz a korai embrióelhalás mértéke kissé nőtt. Abban a csoportban, ahol csak a tojók kaptak szeleno-metionin és E-vitamin kiegészítést, a spermiumtranszport a ciklus egész tartamában viszonylag magas szinten volt, ezzel együtt a termékenységi értékek is. A másik csoportban csak a kakasok takarmányát egészítettük ki szeleno-metioninnal és E-vitaminnal, de annak ellenére, hogy az előző kísérletben szignifikáns javulást mutattunk ki a spermaminőségben a kezelt kakasoknál, a csoportvizsgálatban ez nem fejeződött ki. Sőt, minden általunk vizsgált paraméter ebben a csoportban volt a legrosszabb, pedig a termelés során (46. élethéten) lecseréltük a kakasokat, a csoport teljesítményén így sem tudtunk javítani. Abban az esetben, amikor mindkét ivar szeleno-metioninnal és E-vitaminnal kiegészített takarmányt fogyasztott, a membránon található penetrációs nyílások mennyisége a termelés 3. harmadában itt is szignifikánsan csökkent ($p \leq 0,01$). Ebben a csoportban is jó termékenységi eredményeket kaptunk, azonban azok változása a termelés során egybeesik a spermium transzport változásaival. A csoportokat összehasonlítva megállapítható volt, hogy a termelés kezdetén a kontroll csoportban volt a legintenzívebb a spermium transzport, majd ez a különbség a termelés csúcs időszakában, illetve leszálló ágában kiegyenlítődött, kivéve azt a csoportot, melyben csak a kakasok fogyasztottak szeleno-metionint tartalmazó takarmányt. A kétféle termékenységgel kapcsolatban elmondható, hogy az a termelés kezdetén szignifikánsan magasabb volt a kontroll ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$) csoportban a Se + E-vitamin tojó és Se + E-vitamin kakas csoportokhoz képest, azonban ez a különbség a Se + E-vitamin tojó csoport esetében kiegyenlítődött. Bár a tojók bizonyos szinten reagáltak a szerves szelén és az E-vitamin kiegészítésre (kontroll csoport jobb teljesítményének kompenzálása), azonban a termékenységben szignifikáns javulást ezzel együtt sem tudtunk igazolni.

A lámpázás során kiesett tojások további vizsgálata során megállapítottuk, hogy azoknak a tojásoknak a mennyisége, melyek valóban nem tartalmaztak embriót, a termelés során minden csoportban növekvő tendenciát mutat. A petevezetőben történt elhalások csak nagyon csekély százalékban fordultak elő a termelési ciklus egésze alatt és mennyiségük sem változott lényegesen. A keltetés első hetében elhalt embriók arányáról azonban megállapítható volt, hogy az csak a kontroll csoportban növekedett szignifikánsan ($p \leq 0,05$) a termelés utolsó harmadában. Hasonlóan tehát a termékenységi adatokhoz, a szeleno-metioninnak bizonyos pozitív hatását ki lehet emelni a termelési ciklus végén megnövekvő korai embrióelhalások tekintetében.

A tojásszikben mért kortikoszteron koncentráció értékek alapján elmondható, hogy a kortikoszteron-emelkedéssel párhuzamosan nő az elhalt embriót tartalmazó tojások aránya is, azonban a ciklus 3. harmadában a kontroll csoporthoz viszonyítva bizonyos mértékben csökkent az embrió mortalitás annak ellenére, hogy a szikben magas glükokortikoid szint volt mérhető. Feltételezésünk szerint a szikbe is bejutott Se és E-vitamin pozitív hatással lehet az embriógeneszre, így a ciklus végén a Se kiegészítés csökkenti az embrióelhalás arányát, mintegy ellensúlyozva a stresszhormon káros hatásait. A szik tesztoszteron-tartalma a ciklus 3. harmadában a legmagasabb, itt az emelkedett tesztoszteron szintnek stresszvédő szerepe lehet, ugyanis a magasabb androgén tartalom kismértékben ellensúlyozni képes a kortikoszteron hatását.

3.4. Szintetikus GnRH előkészítés hatásának vizsgálata a hímivarban

A spermológiai vizsgálataink szerint a maturáció kezdetén végzett szintetikus GnRH analóg kezelés szignifikáns mértékben növelte a spermium-koncentrációt ($p \leq 0,01$), valamint a spermiumok motilitását ($p \leq 0,05$), tehát összességében jobb spermaminőséget eredményezett, a későbbi kezelések ellenben ezt a hatást már nem idézték elő. Az egyedi kakasvizsgálatoknál tehát beigazolódott, hogy a szintetikus GnRH analógok alkalmazása az adott koncentrációban és gyakorisággal, a maturáció kezdeti időszakában (hústípusú szülőpárok esetén általában 21-23 hetes életkorban) képes befolyásolni a sperma minőségét, ami magasabb spermium-koncentrációban és jobb spermium-motilitásban nyilvánult meg. Ha a maturáció későbbi időpontjában, vagy ivarérett korban alkalmazzuk a beavatkozást, ez a pozitív hatás nem, vagy csak csekélyebb mértékben érvényesül. Az emelkedett kortikoszteronszintnek a spermiogenezisre kifejtett esetleges negatív hatásával magyarázhatjuk, hogy a minden szempontból legjobb csoportban (*GnRH kezelés a 21. élethéten*) a spermium-rendellenességek összességében és azon belül az elsődleges, herei eredetű spermium-rendellenességek magasabb arányban jelentkeztek.

3.5. Szintetikus GnRH előkészítés hatásának vizsgálata a termékenységre

Az előző kísérlet eredményei azt mutatták, hogy a szintetikus GnRH hatására egyes spermológiai mutatók javultak, ennek ellenére mind a spermiumok mennyisége, mind a termékenységi értékek szignifikánsan ($p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$) csökkentek a termelés végére. A csoportok eredményeinek összehasonlítása során megállapítható volt, hogy a termelés indulásakor a kontroll csoport mutatta a legmagasabb értékeket. A második harmadban nem volt szignifikáns különbség a spermium transzportban a kontroll csoporthoz képest. Sőt, a 23. élethéten kezelt csoportban csökkent a legkevesbé a görbe alatti terület értéke (0,12%). A termelés utolsó szakaszában azonban

csak a 21. élethéten kezelt csoport által termelt tojásokban meghatározott penetrációs nyílások száma nem maradt el szignifikánsan a kontroll csoporthoz képest. Mindkét termékenységgel kapcsolatban elmondható, hogy míg a termelés első harmadában nem volt lényeges különbség a csoportok között, addig a 3. harmadban szignifikánsan jobbnak bizonyultak a kontroll csoportban ($p \leq 0,01$).

Az embrionális elhalások vizsgálata alapján megállapítható volt, hogy a petevezetőben elhalt embriók csak nagyon kis arányban (0,05-0,19%) fordultak elő és az nem változott lényegesen a termelés során. Az inkubáció első hetében elhalt embriók aránya a 3. harmadban szignifikánsan ($p \leq 0,05$) növekedett a kontroll csoportban, míg a többi csoportban is növekvő tendenciát mutat, de ez a különbség nem volt szignifikáns. A termelés kezdetén az embrió elhalások fordultak elő legnagyobb arányban, az egyes csoportokban, a termelés végére viszont az abszolút terméketlen tojások aránya növekedett meg nagymértékben. A kezelt csoportok eredményeit összevetve a kontroll csoport eredményeivel megállapítható, hogy az embriót nem tartalmazó tojások aránya a kritikus 3. harmadban a kontroll csoportban szignifikánsan ($p \leq 0,01$) alacsonyabb volt.

Az ismertetett eredmények alapján elmondhatjuk, hogy a GnRH kezeléseknek ebben a kísérletben – különösen a maturáció későbbi időpontjaiban (23. és 25. élethéten) alkalmazott kezelések esetében – nem volt pozitív hatásuk a termékenység perzisztenciájának növelésében. Az 50. élethétől minden csoportban drasztikusan csökkent a spermium mennyiség a tojásokban és ezzel párhuzamosan csökkentek a termékenységi értékek is. A legjobb eredményt a GnRH-val kezelt csoportok közül a 21 hetes korban kezelt kakasok csoportja adta, de ezzel sem értünk el szignifikáns mértékű javulást a kontroll csoporthoz képest.

Az etológiai megfigyelések eredményei azt mutatják, hogy az általunk vizsgált időszakokban a legintenzívebb párzást a még fiatal állatok esetében rögzítettünk. A termelés utolsó szakaszában azonban újra növekszik a párzási kedv, ez azonban a termékenységben nem, vagy már csak nagyon későn jelentkezik. A GnRH kezelések közül 21. élethéten alkalmazott korai GnRH kezelés bizonyult a leghatékonyabbnak, ami azonban, amint az az előző eredmények alapján is látható, nem realizálódott a termelési paraméterek emelkedésében.

3.6. Mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazásának vizsgálata

Ebben a kísérletben célunk volt, hogy, mesterséges rátermékenyítéssel a felgyorsult spermiumürülést extra spermiumadással próbáljuk meg kompenzálni.

A kísérleti csoportban már a termelés 1. harmadában is nagyon alacsony volt a spermiumtranszport és ebből adódóan a termékenységi eredmények is. A kontroll csoporttal ellentétben a spermium transzport és a termékenység az 1. harmadhoz képest nem csökkent tovább

a 2. harmadban, a 3. harmadban azonban a rátermékenyítések ellenére is szignifikánsan ($p \leq 0,01$) romlott. A kezdeti alacsony spermiumtranszportból következően a kontroll csoport a termelés kezdetén szignifikánsan ($p \leq 0,01$) felülmúlta a rátermékenyítéses csoport termelési eredményeit. A termelés középső harmadában azonban a kísérleti csoportban nem hogy nem csökkent a spermium transzport, hanem még növekedett is, így itt nem találtunk lényeges különbséget a két csoport között. Ez azonban a termékenységi eredményekben nem mutatkozott meg, mert azok tekintetében a kontroll csoport jobbnak ($p \leq 0,05$) bizonyult. A termelés utolsó harmadában pedig a termékenységi eredmények jóval alul maradnak a kontroll csoporthoz képest.

A korai embrióelhalások és a „valóban” terméketlen tojások vizsgálatát követően azt tapasztaltuk, hogy az embriót egyáltalán nem tartalmazó tojások mennyiségének alakulása egybeesik a membrán vizsgálatok és a termékenységi eredményekkel. Míg a kontroll csoportban a termelés kezdetén az embrió elhalások fordultak elő nagyobb arányban, a kísérleti csoportban a terméketlen tojások voltak jelen a legnagyobb mennyiségben. A termelés második harmadában, valamelyest csökkent a terméketlen tojások mennyisége, illetve a petevezetőben elhalt embriók aránya is. A termelési periódus utolsó harmadában mindkét csoportban szignifikánsan nőtt mind a terméketlen tojások, mind a keltetés első hetében elhalt embriók mennyisége ($p \leq 0,05$). A két csoportot összehasonlítva azonban az is látszik, hogy az embrió elhalások között nem volt szignifikáns különbség (9,15% vs. 9,63%), míg a mesterséges termékenyítéses csoportban a valóban üres tojások mennyisége közel kétszerese ($p \leq 0,01$) volt (8,54% vs. 15,29%). Számunkra is meglepő módon a mesterséges termékenyítések nem eredményeztek javulást sem a termékenységet, sem a spermiumok transzportját illetően, annak ellenére, hogy hetente 300-500 millió extra spermiumot juttattunk a tojók petevezetőjébe.

A mesterséges termékenyítéssel járó beavatkozások által okozott stresszhatás vizsgálatának céljából minden termékenyítést követően bélsármintákat gyűjtöttünk, majd meghatároztuk a kortikoszteron-szteroid hormon-tartalmakat. Emellett a termékenyítést követő 2. napon friss tojásszik-mintákból meghatároztuk a szteroid koncentráció-változásokat. Az első rátermékenyítést követő kortikoszteron-emelkedés jelentkezett ($p \leq 0,05$) mind a bélsár, mind a tojásszik mintákban. Az emelkedett kortikoszteron értékek a 48., illetve 49. életheteket követően csökkentek, ám az így is kissé emelkedet stresszhormon szint a 49. élethétől csökkenő tendenciát mutatott, majd egy alacsonyabb szintre állt, de időnként voltak kiugrások, jelezvén, hogy a stressz folyamatos és az idősebb állatok nehezebben alkalmazkodnak hozzá.

4. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

5.1. Különböző ivararányok és kakascserék hatásainak elemzése

A Ross 308 szülőpár állományoknál a gyakorlatban általánosan használt módszer a kakasfrissítés, az ún. „spiking” a termékenység növelésének céljából, annak ellenére, hogy a technológiai ajánlásban csak a kakasok létszámának csökkentése szerepel. Korábbi vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a termelők által alkalmazott 17-25 %-os, a termelés 42-44. hetében végzett kakasfrissítések nem eredményezték az állomány termékenységének javulását (*Végi és mtsai., 2007*).

Munkánk során sikeresen alkalmaztuk a termékenység monitorozásában a *Staines és mtsai., (1998)* által kidolgozott módszert, mely a spermiumok petesejtbe történő penetrációja során, a belső membránon keletkezett nyílások (IPVL holes) mennyiségének vizsgálatán alapul. Az eredmények alapján, mint arról több szerző is beszámolt korábban (*Bramwell és mtsai., 1996; Hazary és mtsai., 2000; Wishart és mtsai., 2004*), a spermium transzport a 30-40. élethét között éri el maximumát, majd ezt követően csökken. A csökkenés hátterében az állhat, hogy a spermiumok az életkor előre haladásával gyorsabban ürülnek a spermiumtároló tubulusokból (*Brillard, 2009*), vagy csökken a spermiumok tárolásának képessége, amint azt szövettani vizsgálatainkkal is alátámasztottuk (*Yoshimura és mtsai., 2008; Barna és mtsai., 2009*).

A termelés utolsó, kritikus harmadában csupán két esetben, az 50%-os kakascseré és a kakasok számának növelése, esetén értük el a tojásban található spermiumok számának növekedését. Az 50%-os kakascseré esetében ez azzal magyarázható, hogy az etológiai megfigyelések alapján ebben a csoportban volt legmagasabb a párzások száma, a fiatal kakasok jelenléte az öreg kakasokat is több párzásra serkentette. A termékenység azonban nem növekedett a növekvő spermium transzport ellenére sem. A kakaslétszám növelése szintén pozitív hatással volt a spermiumtranszportra, ami logikusnak tűnik, de a tenyésztők a tojók kímélése és a kakasok agressziójának csökkentése miatt ezt a gyakorlatot elvetik. Saját vizsgálatunkban nem tapasztaltuk az agresszió fokozódását és a tojók „lestrapálását” sem. A termékenység viszont nem növekedett szignifikánsan a kontrollhoz képest, így ezt a módszert sem javasolhatjuk a gyakorlatnak, jóllehet, olcsóbb megoldás lenne, mint a fiatal kakasok felnevelése. A kakasok számának szinten tartása esetén nem változott a tojásban a penetrációs nyílások száma és a termékenység sem változott a technológiai kontroll csoporthoz képest. Abban a csoportban, ahol 100%-ban kicseréltük a kakasokat fiatalokra, a termelés indulásakor a legintenzívebb spermium transzportot figyeltük meg, ami a létszámcsökkentés ellenére is intenzívnek mutatkozott. A termelési ciklus középtáján 100%-ban kicserélt fiatal kakasok ellenére sem tudtuk a 2. és 3. harmadban magas szinten tartani a

spermiumszámot a tojásban, így a termékenység is csökkent. A termelés 3. harmadában a 100%-os és az 50%-os kakascseré esetén nagyobb arányban fordultak elő embrió elhalások, mint a terméketlen tojások. Ebből az eredményből arra következtettünk, hogy hiába van több spermium a női nemi utakban a termelés második felében, ez nem tud kellőképpen realizálódni a kelési eredményekben. Következésképp a termékenységi problémákért sokkal inkább a nőivar tehető felelőssé, mint a hímivar, amire korábbi vizsgálatokban már mások is utaltak. Az első ilyen vizsgálatokhoz tartozott *Pierson és mtsai (1988)* munkája, akik Hubbard genotípusban kimutatta, hogy 85 hetes korban több spermiumtároló tubulusban mutatható ki spermium, illetve kevesebb az olyan tároló tubulus, amely nem alkalmas a spermiumok tárolására, mint 125 hetes életkorban. Ezt követően az is megállapítást nyert, hogy az életkor előrehaladtával a termékeny periódus hosszának rövidülését nem a spermiumtároló tubulusok tároló kapacitásának csökkenése, hanem sokkal inkább a spermiumok felgyorsult ürülése okozza (*Brillard, 1993*). Ezzel ellentétben *Gumulka és Kapkowska (2005)* vizsgálataik alapján azt a következtetést vonták le, hogy a tyúkok korosodásával kevesebb spermium képes raktározódni a petevezetőben és ez a lehetséges oka a termékenység csökkenésének. *Bramwell és mtsai (1996)* Arbor Acres húshibriddel folytatott kísérletük során fiatal tyúkokat öreg kakasokkal termékenyítve több IPVL hole-t találtak a tojásokban, mint amikor öreg tyúkokat, fiatal kakasokkal, illetve azonos mennyiségű spermiummal termékenyítettek. Ebből következően már ekkor kérdésessé vált a kakascserék szükségessége. (*Pierson és mtsai., 1988; Brillard, 1993; Bramwell és mtsai., 1996; Gumulka és Kapkowska, 2005*).

Javaslatok a kakasfrissítéssel kapcsolatban

Amennyiben egy telep mindenképpen ragaszkodik a kakasfrissítés gyakorlatához, akkor a frissítés időpontjáról, illetve arányáról istállónként érdemes dönten. Az eredmények alapján azonban láthattuk, hogy a magasabb spermium transzport nem biztos, hogy a kelési mutatókban is realizálódik. Az általunk is használt tojás szikmembrán vizsgálatokkal, a spermiumok által képzett penetrációs nyílások számának mérésével kb. 6-8 héttel előre jelezhető a lámpázási termékenység csökkenése. Friss tojások ismételt vizsgálatával meghatározható, hogy mikorra várható a lámpázási termékenység csökkenése. Vizsgálataink eredményei alapján az is ismert, hogy a fiatal kakasok állományba helyezését követően kb. 3 héttel jelentkezik a spermiumtranszport növekedése, ennyi idő kell a fiatal kakasok beilleszkedésére, megerősödésére és az új háremek kialakulására. Ezek alapján tehát pontosan meghatározható a kakasfrissítések időpontja. Tapasztalataink szerint egy átlagos termelésű állományban a spermium mennyisége a tojásban a 40. élethétől kezd csökkenni, tehát kb. a 48. héten lehet számítani a lámpázási termékenység csökkenésére. Így ha a 46. héten frissítünk – minimum 30% - fiatal kakassal -, akkor az 51. héttől számíthatunk növekvő spermium

mennyiségre és ezzel a lámpázási termékenység csökkenését valamennyire lassíthatjuk. Viszont, ha ki akarunk tartani a 60. hétig 80-85% fölötti keléssel, akkor jobb, ha csak az 50. héten frissítünk fiatal kakasokkal. Ennek igazolására azonban szükséges lenne további teszteléseket végezni, mivel munkánk során minden variációt nem volt lehetőségünk megvizsgálni.

Eredményeink alapján levonható az a következtetés, hogy a gyakorlatban alkalmazott 15-25%-os frissítéseknek, melyeket mindig a 44. hét előtt végeznek, semmilyen haszna nincsen. Egyértelmű, hogy nem érdemes a 48. hét előtt frissíteni egy átlagos állományban.

5.2 A hímivarra irányuló vizsgálatok eredményeinek elemzése

A teljes termelési ciklus során heti gyakorisággal végzett kontroll ondóvizsgálatok alapján megállapítottuk, hogy a ROSS 308 hibrid esetében a spermiumok koncentrációja a 40-45 élethetek között, míg az élő, ép morfológiájú sejtek aránya a 42-47 élethetek között nagymértékben csökkent. Ez a csökkenés azonban csak átmeneti volt és az 50. élethetet követően újra magasabb értékeket detektáltunk. Ettől eltérnek *Fragoso és mtsai (2012)* eredményei, akik Cobb 500 hibriddel végzett kísérleteik során azt találták, hogy a spermium produkció a 36. élethétig növekszik, majd ezt követően folyamatosan csökken. *Gumulka és mtsai (2005)* által végzett kísérletben az ejakulátum mennyisége és a spermium koncentráció mintegy 15,7 %-kal csökkent az életkor előrehaladtával, Arbor Acres húshibridnél. Korábbi saját vizsgálateink is igazolták, hogy a genetikailag eltérő fajták, illetve hibridek ondótermelő képessége és ondójuk minősége eltérhet egymástól, valamint annak befolyásolhatósága is különbözhet (*Végi és mtsai., 2007*). Eredményeink azonban a ROSS 308 hibridnél azt mutatják, hogy a termelés utolsó harmadában nem csökkent az ondó mennyisége, sőt csekély mértékben még növekedett is, továbbá a spermiumkoncentráció is csak átlagosan 8,4%-kal csökkent. Ennek alapján nem állítható az ondó minőségének oly mértékű romlása, mely indokolná a termékenység nagymértékű csökkenését a termelési ciklus előrehaladtával.

Számos vizsgálat igazolta, hogy a szelén hiánya esetén csökken a spermiumok motilitása és növekszik az abnormális sejtek aránya (*Wu és mtsai. 1979; Surai és mtsai., 2006; Sanches-Gutierrez és mtsai., 2008*). Hosszantartó hiánya károsan hat a spermium koncentrációra és a termékenyítőképességre (*Edens és Sefton 2009*). *Edens (2002)* a Hubbard hibridnél kimutatta, hogy a szelén hatására növekedett az élő, ép sejtek mennyisége és egyes morfológiai rendellenességek aránya is csökkent. Saját kísérletünkben a szeleno-metionin E-vitaminnal együtt alkalmazva képes volt a ROSS 308 kakasok spermaminőségét a termelési ciklus teljes hosszában a kezdeti magas szinten tartani, ellentétben a Hubbard kakasokkal, ahol az eredetileg is jó minőségű sperma paramétereit már nem javította a szerves Se és E vitamin kiegészítés (*Végi és mtsai., 2007*). A szeleno-metionin és E-vitamin kiegészítés hatására a kontroll mintákhoz képest szignifikánsan

javult a motilitás, a koncentráció és az élő, ép sejtek aránya. A másodlagos rendellenességek mennyisége csökkent, azaz ellenállóbbá váltak a spermiumok a külső behatásokkal szemben. A szövettani vizsgálatok eredményei alátámasztották a spermio genesis intenzitásának növekedését is.

A szintetikus GnRH analógok közös tulajdonsága a nagy receptorkötődési affinitásuk, amely a nem szintetikuspeptidnél hosszabb hatást eredményez és így a gonadotrop hormonok erőteljesebb felszabadításával és emiatt magatartás-élettani hatásukkal alkalmasak a szaporodási hipofunkciók kezelésére (*Myamoto és mtsai, 1983; Skarin és mtsai., 1984*). Korábbi irodalmi adatok szerint GnRH implantátum beültetésével törpepapagájban is növelni lehetett a szexuális aktivitást és a termékenységet (*Costantini, 2009*). *Alavi és mtsai. (2012)* kecségében a spermiumok motilitását tudták növelni GnRH kezeléssel. Emlős fajokban eltérő eredményeket hozott a GnRH kezelés: *Kawakami és mtsai. (2012)* kutyában terápiás céllal alkalmazták a GnRH-t, melynek hatására növekedett a spermiumkoncentráció és a motilitás. *Boyle és mtsai. (1991)* azonban pónilóban a GnRH kezelés hatására nem találtak szignifikáns különbséget sem a spermaminőségben, sem a libidóban. Eddig a hústípusú házityúk hibridekben nem vizsgálták, hogy a GnRH kezelés milyen hatással van a sperma minőségére és ezen keresztül a termékenységi mutatókra, valamint a szexuális viselkedésre. Megállapítottuk, hogy a GnRH kezeléssel akkor lehetett pozitív hatást elérni a spermamutatókra, ha azt az ivarérettség egy adott, kezdeti fázisában, egy szűk periódusban végezzük el, melynek meghatározása alapos körültekintést igényel, de a külső ivari morfológiai jegyek alapján megítélhető. Ez hústípusú szülőpárok esetén többnyire a 21-23. élethét között van. Természetesen a maturáció beindulásának időpontját a felnevelési és az azt követő tartási, takarmányozási körülmények erősen befolyásolhatják. Az egyedi kakasvizsgálatoknál beigazolódott, hogy a szintetikus GnRH analóg alkalmazása az adott koncentrációban és gyakorisággal, a maturáció kezdeti időszakában képes befolyásolni a sperma minőségét, ami magasabb spermium-koncentrációban és jobb spermium-motilitásban nyilvánult meg. Ha a maturáció későbbi időpontjában, vagy az ivarérett korban alkalmazzuk a beavatkozást, ez a pozitív hatás nem, vagy csak csekélyebb mértékben érvényesül. A hormonális beavatkozás következtében emelkedett kortikoszteronszintnek a spermio genesisre kifejtett negatív hatásával magyarázhatjuk, hogy a minden szempontból legjobban produkáló csoportban (*GnRH1*) a spermium-rendellenességek összességében és azon belül az elsődleges, herei eredetű spermium-rendellenességek magasabb arányban jelentkeztek.

Javaslatok a hímivar teljesítményének javítására

A szerves szelén (szeleno-metionin) és E-vitamin kiegészítést az adott koncentrációban indokoltan tartjuk mind a felnevelési, mind a termelési időszakban, mert vitathatatlan a jótékony hatása a spermiogenezisre. Amennyiben van érdeklődés a gyakorlat részéről, érdemes lenne nagy létszámú állományon tesztelni a GnRH alkalmazását a kakasokon és kedvező tapasztalatok esetén megfontolni alkalmazását a kakasfrissítések kiváltására.

5.3. A nőivarra irányuló vizsgálatok eredményeinek elemzése

Az eddigi kutatások eredményei szerint a szerves szelén és az E-vitamin kiegészítés nem csak a termékenységet növeli, hanem annak hosszát is (*Agate és mtsai., 2000; Breque és mtsai., 2003; Surai és mtsai., 2006*). Az is megállapítást nyert, hogy a tojásban a szelén nagy része szeleno-metionin formájában van jelen és az embrió azt szerves szelénből nem tudja előállítani (*Surai és mtsai., 2006*). Ebből is következik a szelén jelentősége a takarmányban, kiemelve, hogy hatékonyan csak a szerves formában épül be a tojásba. *Renema (2004)* munkája során Ross 508 hibridnél azt az eredményt kapta, hogy a 22. élethétől alkalmazott szerves szelén kiegészítést követően a tojástermelés a 49 és 58. élethetek között mintegy 8%-kal magasabb volt a kontroll csoporthoz képest. Azt is megállapította, hogy növekedett az IPVL-hole mennyisége, azaz a spermiumszám a tojásban, míg a késői embrióelhalások a csúcstermelést követően csökkentek a szelén csoportban.

Eredményeink alapján a 20. élethétől alkalmazott szerves szelén és E-vitamin kiegészítés hatására nem javult a tojástermelés, sem a termékenység és nem volt több spermium a tojásban. Pozitív hatása abban nyilvánult meg, hogy a termelés utolsó harmadából származó tojásoknál az inkubáció első hetében elhalt embriók aránya szignifikánsan alacsonyabb és a termékeny tojásokra vetített kelési % szignifikánsan magasabb volt a kezelt csoportban. Bár nem szignifikáns mértékben, de a termelés utolsó harmadában mintegy 3%-kal alacsonyabb volt a ki nem kelt tojások mennyisége. Ismert, hogy az elhalt embriókat tartalmazó tojásszikben megemelkedett kortikoszteron koncentrációt lehet mérni, ami gátolja az embriófejlődést (*Biczó, és mtsai., 2004; Janczak és mtsai., 2006; Ferencziné Szőke, 2008*). Ez munkánk során is beigazolódott, azonban ezt az embriókárosító hatást bizonyos mértékig kompenzálni tudta a tojás nagyobb szeleno-metionin tartalma. Azt már korábban kimutatták, hogy a tojókkal etetett szerves szelén nem csak a tojásban jelenik meg, hanem az kimutatható a kikelt napos állatok szöveteiben is és az ilyen állományokban alacsonyabbak voltak az elhullási eredmények a csak szerves szelént tartalmazó takarmányt fogyasztó kontroll állatokhoz képest (*Surai és Fisini, 2012*). Várhatóan ezen állományok a későbbiekben is magasabb teljesítményre képesek.

A spermiumtároló tubulusok differenciálódását és felépítését az ivarézés alatt, már részletesen tanulmányozták (*Bakst, 1992; Holm és mtsai., 2002*). Az is bizonyított, hogy a tojók spermiumtároló képessége függ azok életkorától (*Bakst és mtsai., 1994*). Tudomásunk szerint eddig nem állt rendelkezésre olyan eredmény, mely a spermiumtároló tubulusok szerkezeti változását vizsgálta az életkor előrehaladtával. Saját kutatásaink igazolták, hogy a petevezető morfológiája a termelési ciklus során jelentős változásokon megy keresztül, melynek a vizsgálataink szempontjából lényeges része, hogy a spermiumraktározó tubulusok a ciklus 54-60. hetében kitérülnek, lazább szerkezetűek lesznek és sokukban nagyobb mennyiségű szekrétum halmozódik fel. Ez arra utalhat, hogy a tojók korosodásával nem csak a spermium-ürülés gyorsul fel a tubulusokból, mely irodalmi adatokból már ismert (*Brillard, 1993*), hanem azok befogadó- és tárolóképessége is csökken. Ez lehet az egyik magyarázat arra, hogy hiába növeljük a ciklus végén a spermiumszámot, azoknak csak kis hányada képes tárolódni a petevezető raktározó csövecskéibe.

A GnRH kezelés hímivarra gyakorolt pozitív hatását csoportos, termelési kísérletben is vizsgáltuk. A 21. élethéten végzett kezelés hatására a csoport gyengébb spermiumtranszportja fokozódott ugyan, de ez a termékenységi eredményekben nem mutatkozott meg. Feltételezésem szerint ennek oka, hogy a kakasok „ivari minőségének” javítása önmagában nem elegendő a termékenység növeléséhez, a tojó szerepe fontosabbnak tűnik. A GnRH kezelés hatása a párzások számának növekedésére sem állítható egyértelműen, mert nem minden megfigyelt időpontban jelentkezett magasabb párzási kedv. A kontroll csoportban a 44. élethéten volt a legalacsonyabb a párzások száma, míg a kezelt csoportban ez a mélypont nem jelentkezett, tehát a GnRH kezelés ezen a szinten mégis éreztette pozitív hatását. Ez a különbség a következő heti spermiumtranszportban meg is mutatkozott, ami a termékenységben 2%-os javulást eredményezett, de csak átmenetileg és a termelési ciklus utolsó harmadában nem realizálódott magasabb termékenységi eredményekben.

A termelési ciklus előrehaladtával a spermiumtároló tubulusok ürülése felgyorsul (*Brillard, 1993*), amiből arra következtetünk, hogy a termékenység fenntartásához több spermiumra van szükség. Ezért feltételeztük, hogy a mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazásával fokozható a raktározó tubulusokban tárolódó spermiumok mennyisége, így biztosítva a tojások termékenységét. Jóllehet, *McCartney és Brown (1976)* a legmagasabb termékenységi eredményeket akkor kapta, amikor a természetes párzást mesterséges termékenyítéssel kombinálta, a mi kísérletünkben a mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazása azonban nem váltotta be a hozzá fűzött reményeket. A spermiumszámot nem hogy növelni nem tudtuk, hanem az radikálisan csökkent és ezzel párhuzamosan romlottak a termékenységi eredmények is. A hormonvizsgálatok során megállapítottuk, hogy ez a munkafolyamat igazolható stresszt okozott az állatokban. Azt már korábban bizonyították, hogy a tojót ért stresszhatás következtében megemelkedik a tojásszík

kortikoszteron tartalma, ami magasabb embriómortalitást idéz elő (*Biczó, és mtsai., 2004; Janczak és mtsai, 2006; Ferencziné Szőke, 2008*). Saját vizsgálatunkban összességében nem csak az embrió mortalitás növekedett meg, hanem azoknak a tojásoknak az aránya is, amelyek egyáltalán nem tartalmaztak embriót. *Koohpar és mtsai. (2010)* összehasonlítva a természetes párzást a mesterséges termékenyítéssel, nem kaptak magasabb termékenységi és kelési eredményeket, amit hivatkozott szerzők is a termékenyítés során fellépő stresszhatásnak tulajdonítottak. Feltételezhető az is, hogy a magas kortikoszteron szint befolyással van a spermiumok tároló tubulusokba való berakódására, illetve kiáramlására. Természetesen e feltételezés bizonyításához újabb megerősítő vizsgálatok szükségesek. Azt is célszerű lenne tovább vizsgálni, hogy a szerves szelén feltételezett stressz védő funkciója által képes-e kompenzálni a káros hatásokat.

Javaslatok a nőivar teljesítményének javítására

Minden eredményünk arra utal, hogy a csökkent szexuális funkciókat sokkal könnyebb befolyásolni a hímivarban különböző módszerekkel (szerves szelén és E vitamin, GnRH kezelések), és sokkal könnyebb is azokat vizsgálni. Vizsgálataink eredményei szerint azonban ezek önmagukban nem elegendőek a termékenység szignifikáns javításához.

A szerves szelén és E-vitamin kiegészítést a hímivarhoz hasonlóan javasoljuk nem csak a szülőpár állományok termelési időszakában, hanem már a felnevelési alatt is.

Egyértelműen bebizonyosodott, hogy hústípusú szülőpároknál a mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazásának – elsősorban az ennek során fellépő elkerülhetetlen stressz hatások miatt – számos negatív vonzata van. A heti egy alkalommal végzett beavatkozáshoz – tojók elrekesztése, összeszedése, kloaka kifordítása, inszeminálás – nem tudtak hozzászokni a madarak, így annak alkalmazása nem javasolt.

A csoportvizsgálatokban a GnRH korábbi spermatológiai vizsgálatoknál tapasztalt pozitív hatása nem érvényesült. A kísérletet nagyobb állományon ugyan nem volt módunk megismételni, de nem zárható ki annak lehetősége, hogy ez a beavatkozás segíthet a termékenység perzisztenciájának növelésében.

Az összes elvégzett vizsgálatunk arra utal, hogy a termelési ciklus utolsó harmadában bekövetkező termékenységcsökkenésért döntően a nőivar szaporodás-élettani funkciónak gyengülése a felelős. Ennek befolyásolása takarmányozási, hormonális vagy spermatológiai beavatkozásokkal nem megvalósítható. Véleményünk szerint a szaporaság perzisztenciájának növelésére a nőivar oldaláról a genetikai szelekciós munka esetleg megoldást jelenthet, amely a

spermium tárolásért felelős tubulusok számának, tárolókapacitásának, befogadóképességének növelésére irányul.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Az ivararánnyal történő manipulációk, a kakasfrissítések és a mesterséges termékenyítés kiegészítő alkalmazása nem, vagy csak átmenetileg eredményeztek a termékenységben szignifikáns javulást a termelés kritikus periódusában. Következésképpen nem tudtam igazolni, hogy a drága és munkaigényes kakascseréknek pozitív hatása lenne a termékenységi eredményekre.
2. Elsőként végeztem el a ROSS 308 kakasok ondóminősítését egy teljes termelési ciklus alatt, folyamatos heti vizsgálatokkal. Megállapítottam, hogy az ondó minőségének romlása a termelés utolsó szakaszában nem indokolja a termékenység oly mértékű visszaesését, ami szükségessé tenné akár a kakasok, akár a teljes állomány cseréjét.
3. Igazoltam, hogy a hímivarban a szeleno-metionin és az E-vitamin nem csak a spermiumok motilitását, illetve koncentrációját javította szignifikánsan, hanem csökkentette a másodlagos rendellenességek arányát is. Ennek ellenére a szerves szelén és E-vitamin kiegészítés nem eredményezett lényeges javulást a termékenységben, azonban annak embrióvédő hatását kimutattam a szelén tojásszíkbe való beépülése révén, ami összefüggésbe hozható a szteroid hormon koncentrációkkal is.
4. Megállapítottam, hogy az életkor előrehaladtával a petevezető spermiumtároló tubulusaiban kifejezett szöveti változások következnek be, amelyek alátámasztják a spermiumtárolás kapacitásának korral járó csökkenését.
5. Az ivarérés kezdetén végzett szintetikus GnRH analóg kezelés (5 mg/kakas/nap) a hímivarban pozitívan hatott spermaminőségre, de ennek nem volt hatása a termékenység perzisztenciájára.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Impakt faktorral rendelkező folyóiratban megjelent idegen nyelvű közlemények:

B. Végi, É. Váradi, Zs. Szőke and J. Barna (2013) Effect of sex ratios, spiking and extra artificial insemination on the breeding efficiency of broiler breeders. *Acta Vet Hung* 61 (3) DOI: 10.1556/AVet.2013.016. *In press.*

Lektorált folyóiratban megjelent magyar nyelvű közlemények:

1. **Végi B.**, Varga Á., Szőke Zs., Lennert L., Barna J.: (2005) A termékenység előrejelzése új *in vitro* technika alapján. *Állattenyésztés és Takarmányozás* 54. (3): 208-215.
2. Szőke, Zs., **Végi, B.**, Varga, Á., Lennert, L., Péczely, P. és Barna, J. (2006) Tyúk mesterséges termékenyítésről, másképp. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 55 (5) 483-491.
3. Váradi É., Szőke Zs., **Végi B.**, Péczely P., Barna J. (2008) A kakascseré mint stresszor endokrinológiai elemzése hústípusú szülőpárállományban. *AWETH* 4 (2) (Különszám): 381-390.
4. **Végi, B.**, Váradi, É., Szabó, Zs., Szőke, Zs., Kőrösiné Molnár, A., Barna, J. (2008) A hőkezelés, illetve hőstressz hatása hímivarú baromfifélék spermatológiai mutatóira. *AWETH* 4 (2) 401-408.
5. **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs., Barna, J. (2008) Szerves szelén és E-vitamin kiegészítés hatása hústípusú szülőpárok spermatológiai mutatóira. *AWETH* 4 (2) pp. 391-400.
6. **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs., Péczely, P. és Barna, J. (2009) Szteroid hormonváltozások és egyes spermatológiai mutatók összefüggéseinek vizsgálata hústípusú szülőpár kakasoknál. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 131. 489-493.

Lektorált, idegen nyelvű könyvrészlet:

Szőke, Zs., **Végi, B.**, Varga, Á., Lennert, L., Péczely, P. and Barna, J. (2006) Effects of artificial insemination as a handling stress on egg weight, yolk corticosterone content and embryonic mortality (Pilot study) In: *New insights into fundamental physiology and perinatal adaptation of domestic fowl*. (Ed.s: S Yahaw and B. Tzscheentke). Nottingham University Press. Nottingham. pp. 189-197.

Referált folyóiratban megjelent magyar nyelvű közlemények:

Barna, J., **Végi, B.**, Varga, Á., Szőke, Zs., Lennert, L., Török, T., és Kovács, T. (2005) Termékenységi problémák és előrejelzésüknek új vizsgálati módja brojler szülőpár állományoknál. *Baromfiágazat* 5.(1) 24-31.

Nemzetközi konferencia-kiadványban teljes terjedelemben megjelent közlemények

1. Barna, J., **Végi, B.**, Váradi, É., Szőke, Zs., Liptói, K. (2007) Analysis of fertility in broiler breeder flocks. 5th Vietnamese-Hungarian Conference and MGE NEFE Major Conference, pp. 75-81. Can Tho, Vietnam. 12-16 Aug, 2007.
2. **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs. and Barna, J. (2008) Spiking or not? XXIII World's Poultry Congress. Brisbane, Australia. 30 June- 4 July 2008. *World's Poultry Science Journal* Vol. 64. Suppl. 2. p. 389.

Nemzetközi konferencia absztraktok

1. Zs. Szőke, **B. Végi.**, Á. Varga, K. Liptói, E. Várkonyi, L. Lennert, P. Péczely and J. Barna (2005) Effects of Artificial Insemination - as a Handling Stress - on the Egg Weight, the Yolk Corticosterone Content and the Embryonic Mortality (Pilot study). The 2nd Combined Workshop of Fundamental Physiology of the European Working Group of Physiology and Perinatal Development in Poultry, September 23 – 25, Berlin 49.p.
3. **Végi, B.**, Váradi, É., Szőke, Zs., Liptói, K. and Barna, J. (2007) Analysis of fertility in broiler breeder flocks – male side approaches. 29th poultry Science Symposium, WPSA UK Branch, Edinburgh 23-25 July, 2007.
4. **Végi, B.**, Váradi, É., Szőke, Zs. And Barna, J. (2007) Comparative study on the effect of organic selenium and vitamine E on sperm characteristics in two lines of broiler breeder males. XIX International Symposium Polish Branch WPSA. „Science for poultry practice – poultry practice for science” Olsztyn, Poland. 10th – 12th September 2007
5. **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs. and Barna, J. (2008) Changes in sperm quality of broiler breeder males supplemented with organic selenium. 16. International Congress on Animal Reproduction. Budapest, Hungary. 13-17 July 2008
6. Barna, J., **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs. and Péczely, P. (2009) Studies related to fertility in broiler breeders. XXI International Poultry Symposium PB WPSA. Wrocław – Szklarska Poreba, Poland. 7-9 sept 2009.

Hazai konferencián megjelent közlemények

1. **Végi, B.**, Varga, Á., Szőke, Zs., Lennert, L., Barna, J.: A termékenység előrejelzése új *in vitro* technika alapján hústípusú szülőpár-állományokban. Előadás, 11. Szaporodásbiológiai Találkozó, Dobogókő, 2004.
2. Barna, J., Varga, Á., **Végi, B.**, Szőke, Zs. és Lennert, L. (2005) Spermium-pete interakció vizsgálatának módszerei madártojásokban. Proc. "Vadállatok szaporodásbiológiája, állatkerti tenyésztési programok" konferencia, Budapest, 2005. Márc. 18-20. pp. 53-55.
3. **Végi B.**, Varga Á., Szőke Zs., Lennert L., Barna J. (2005) A spermium transzport nyomkövetése broiler szülőpár-állományoknál XI. Ifjúsági Tudományos Fórum, Keszthely, (216) CD
4. Szőke, Zs, **Végi, B.**, Varga, Á., Lennert, L, Péczely P., Barna J (2005) Tyúk mesterséges termékenyítésről, másképp 12. Szaporodásbiológiai Találkozó, Hajdúszoboszló, 2005. 11. 04-05.
5. **Végi, B.**, Váradi, É., Szőke, Zs., Barna, J. (2007) Szerves szelén és E vitamin kiegészítés hatásának vizsgálata két hústípusú kakasvonalon. 14. Szaporodásbiológiai Találkozó, Keszthely, 2007. október 5-6.
6. Váradi, É., Szőke, Zs., Péczely, P., **Végi, B.**, Barna, J. (2007) A kakascsere okozta stressz hatásának endokrinológiai elemzése fekális szteroid-analízissel hústípusú szülőpárállományban. 14. Szaporodásbiológiai Találkozó, Keszthely, 2007. október 5-6.
7. **Végi, B.**, Váradi, É., Ferencziné Szőke, Zs., Péczely, P. és Barna, J. (2009) Szteroid hormonváltozások és egyes spermatológiai mutatók összefüggéseinek vizsgálata hústípusú szülőpár kakasoknál. 15. Szaporodásbiológiai Találkozó, Eger, 2009. április 17-18. p. 15.
8. Barna, J., **Végi, B.**, Váradi, É., Szőke, Zs. és Péczely, P.(2009) Termékenységi problémák hússzülőpár állományokban. XVII. Derzsy Napok, Balatonalmádi, 2009. június 4-5. kiadványa.