

Doktori (Ph.D.) értekezés tézisei

**HAZAI SERTÉSFAJTÁK TELJES GENOM- ÉS
KOMPLEX ANDROLÓGIAI VIZSGÁLATA A
SZAPORODÁSBIOLOGIAI MUTATÓK
JAVÍTÁSA ÉRDEKÉBEN**

Balogh Eszter Erika

Témavezetők: Prof. Dr. Rátky József
egyetemi tanár, D.Sc.

Dr. Anton István
*tudományos tanácsadó, Ph.D.
c. egyetemi tanár*



DEBRECENI EGYETEM
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2020.

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A magyar állattenyésztés egyik legfontosabb ágazata a sertésenyésztés. A 2019 decemberi adatok alapján 2.634.400 sertés alkotja Magyarország sertésállományát (KSH, 2020a). A magyarországi egy főre jutó sertéshúsfogyasztás a legfrissebb KSH adatok szerint 2004 és 2018 között eltelt időszakra vonatkozóan folyamatos növekedést mutatott. 2004-ben 25,9 kg volt az egy főre jutó sertéshúsfogyasztás, amely 2018-ra 32,9 kg-ra nőtt (KSH, 2020b). A vizsgált több, mint egy évtized távlatából is látható, hogy a növekvő sertéshúsfogyasztás több sertés tartását, sertéshús előállítását teszi szükségessé, amely a termelés gazdaságosságát is befolyásolja. A jobb tenyésztési, termelési eredményekkel gazdaságosabb tenyésztés érhető el hosszú távon.

A hazánkban tenyésztésben lévő fajták számos pozitív gazdasági tulajdonsággal rendelkeznek, amely fajták közé tartoznak a magyar nagyfehér és magyar lapálysertésfajtáink is. Jó alkalmazkodó- és stressztűrő-képességgel, valamint jó termelési tulajdonságokkal rendelkeznek. Pozitív tulajdonságaikat már tenyésztésük kezdetén felismerték a szakemberek, ezáltal a magyar lapály sertést árutermelő keresztezésekben apai partnerként, a magyar nagyfehér húsertést anyai partnerként a mai napig alkalmazzák. Mindazonáltal az eredményesebb termelés elérése érdekében tenyésztett nyugat-európai hibridek az elmúlt évtizedekben jobb eredményeket értek el a magyar nagyfehér és a magyar lapálysertésfajtákhoz viszonyítva, ezzel kiszorítva e két fajtát az élvonalból.

Hazai fajtáink megóvását és versenyképességének növelését ezért nagyon fontos feladatnak tartjuk. Elsődlegesen szaporasági, szaporodásbiológiai tulajdonságokban maradnak el a keresztezett fajtáktól, emiatt tetemes gazdasági kár érheti a tenyésztőt.

A célzott genetikai vizsgálatok hosszú távú, következetes szelekciós munkával kombinálva hozzájárulhatnak hazai fajtáink szaporodásbiológiai, termelési paramétereinek, illetve versenyképességének javításához.

1. 1. Célkitűzés

Dolgozatom fő célkitűzései a következők voltak:

- a hímivarú egyedek (magyar nagyfehér és magyar lapály) andrológiai, spermatológiai vizsgálatainak elemzése:
 - motilitás (Sperm Class Analyzer – SCA, Microptic S. L., Spanyolország), ultrahang, (Tringa Linear VET, Esaote, Spanyolország), hőkamera (InfiRay IRAC200H, Yantai IRay Technology Co., Ltd., Kína), morfológia: Kovács-Foote féle festési eljárás az ejakulátum termékenyítésre való alkalmasságának, valamint a hím nemi szervek egészségi állapotának felmérésére
- a sertések (magyar nagyfehér, magyar lapály, danbred × duroc, duroc × pietrain) termékenyítőanyagának motilitásvizsgálatára szolgáló hordozható eszköz alkalmazhatóságának ellenőrzése
- a nőivarú (magyar nagyfehér) egyedeknél az alábbi szaporodásbiológiai mutatókkal kapcsoltságot mutató egy pontos nukleotid polimorfizmusok (SNP) feltárása:
 - fialások száma (NL)
 - fialási százalék (PL)
 - élve született malacok száma (NBA)
 - összesen született malacok száma (TNB)
 - holtan született malacok száma (NBD)
 - születéskori alomtömeg (LWA)
 - 21 napos átlagos alomtömeg (M21D)
 - két fialás között eltelt idő (IBL)
 - élve született malacok számának átlaga (MNBA)
 - holtan született malacok számának átlaga (MNBD)
 - összesen született malacok számának átlaga (MTNB)
 - felnevelési ráta (GR)

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2. 1. Genetikai vizsgálatok

2. 1. 1. Mintagyűjtés

Tizenegy törzstenyészet 300 egyedétől gyűjtöttem vérmintákat, amelyeket a DNS kivonásáig -20°C-on tároltam a NAIK-ÁTHK genetikai laboratóriumában. A minták kiválasztása a következő kritériumok alapján történt: jó és gyengébb szaporodásbiológiai tulajdonságokkal is rendelkező egyedektől származzanak; a minták az egész populációra vonatkozóan reprezentatívak legyenek; a kiválasztott egyedek között rokonsági kapcsolat ne álljon fenn.

2. 1. 2. SNP-k azonosítása microarray (DNS-chip) technológiával

A genotipizálást a Neogen Europe Ltd. (Skócia, Egyesült Királyság) végezte Illumina Porcine SNP 60K BeadChip (GeneSeek® Genomic Profiler™ High-Density) alkalmazásával, amely 61.177 SNP-t tartalmazott.

A vizsgálathoz szükséges adatok a Magyar Fajtatiszta Sertést Tenyésztők Egyesületének (MFSE) szaporodásbiológiai és tenyésztési tulajdonságok adatait tartalmazó adatbázisából származnak.

2. 2. Genotipizált adatok értékelése

A genotipizálás során a 95% feletti sikeres tipizálási aránnyal rendelkező SNP-ket vettem figyelembe (call rate > 95%), az ezen érték alatti polimorfizmusokat, a duplikált mintákat (Identity By Descent, IBD > 0,95), az egy allélos lókuszokat, valamint a 0,05-ös MAF-val rendelkező lókuszokat kizártam az adatállományból. Az adattisztítást követően az adatbázis 290 állatot és 56.592 SNP-t foglalt magába. A vizsgálatba vont szaporodásbiológiai paraméterekkel kapcsoltságot mutató lókuszok feltárásához és az adatok szűréséhez multi-lókusz vegyes modellt alkalmaztam. A fenotípusos értékek maradtak, mint folyamatos változók. A genomiális inflációs tényezőt (λ) a χ^2 statisztika eloszlásának középértéke és a megfelelő χ^2 eloszlás mediánjának hányadosaként írtam le (ARMITAGE, 1955). A populáció szerkezeti korrekciójához genomiális rokonsági mátrixot használtam, multi-lókusz vegyes modellben (SEGURA és mtsai, 2012).

Az adatformázásokhoz, a statisztikai elemzésekhez és az adatszűrésekhez SVS szoftvert (GoldenHelix, USA) használtam. A kromoszómákon elhelyezkedő, szaporodásbiológiai

tulajdonságokkal kapcsoltságot mutató SNP-eket Manhattan távolságmátrix alkalmazásával ábrázoltam.

2. 3. Andrológiai, spermatológiai vizsgálatok

A magyarországi törzstenyészetek közül négy törzstenyészet összesen huszonegy kanjától gyűjtöttem vér- és spermamintát. A spermavételnél gloved-hand (BASURTO-KUBA és EVANS 1981; ALTHOUSE és mtsai, 2015) módszert alkalmaztunk. A spermavétel közben ultrahang (Tringa Linear VET, Esaote, Spanyolország), illetve termográfias felvételeket (InfiRay IRAC200H, Yantai IRay Technology Co., Ltd., Kína) készítettem a here morfológiai állapotának felmérése és a here hőszabályozásának vizsgálata céljából. Az ultrahangos felvételek kiértékelését GIMP (GNU Image Manipulation Program, 2.10.10) pixelgrafikus képszerkesztő programmal, a termográfias felvételek elemzését pedig FLIR hőkamerás képkiértékelő programmal végeztem el.

1. táblázat

A törzstenyészetekben begyűjtött minták és az elvégzett vizsgálatok száma

		törzstenyészetek			
		A	B	C	összes
vérminták (n)	MNF	3	3	-	11
	ML	4	1		
ejakulátum (n)	MNF	3	3	3	16
	ML	4	1	2	
ultrahangos vizsgálat	MNF	3	-	5	12
	ML	4			
CASA	MNF	3	3	3	16
	ML	4	1	2	
termográfias vizsgálat	MNF	3	-	5	12
	ML	4			

MNF (magyar nagyfehér) ML (magyar lapály)

Az 1. táblázatban a begyűjtött fajtánkénti vér- és spermaminták, valamint az elvégzett vizsgálatok láthatók. Egyes törzstenyészetek esetében nem volt lehetőségem minden vizsgálatot elvégezni (vérvétel, ultrahang, hőkamera – üresen hagyott négyzetek). Előzetesen vizsgálatokat végeztem egyéb sertésfajtákon a vizsgálati technikák begyakorlása érdekében.

2. 4. Motilitás és morfológiai vizsgálatok

A laboratóriumi vizsgálatokat Herceghalmon, a Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet (NAIK, ÁTHK) szaporodásbiológiai laboratóriumában végeztem. Az ejakulátumokat a mintavételt követően 16°C-on tárolva az intézetbe szállítottam. A spermiumok állapotát a Kovács-Foote féle festési eljárással (KOVÁCS és FOOTE, 1992) készített keneteken értékeltem ki. Ez a módszer megmutatja az élő és elhalt spermiumokat, az akroszóma állapotát és a sejtek rendellenességeit. A festési eljárás során az élő és elhalt spermiumok festésére Chicago sky blue 6B (CSB) oldatot (Sigma-Aldrich C8679, Sigma Aldrich Corporation, St. Louis, MO, United States), a minta fixálásához 0,2%-os neutrálvöröst (Sigma Aldrich N-7005, Sigma Aldrich Corporation, St. Louis, MO, United States) és formaldehidet tartalmazó (37%-os formaldehid oldat) 1N HCL oldatot, az akroszóma festésre 7,5%-os Giemsa törzsoldatot (Sigma G S500, Sigma Aldrich Corporation, St. Louis, MO, United States) használtam. A friss spermát festést megelőzően pufferolt NaCl oldattal (0,06% K_2HPO_4 anhidrát és 0,825% NaCl) és formalinos citráttal (2,9% Na_3 -citrát és 0,1% formalin) hígítottam.

A spermiumok motilitásvizsgálatát mozgáselemző programmal (CASA, AndroVision, Minitüb, Németország) a minták intézetbe történő szállítását követően azonnal megkezdtem. A motilitásvizsgálatokhoz szükséges koncentrációhoz (60×10^6 spermium/ml) a mintákat tovább hígítottam Beltsville Thawing Solution (BTS) hígítóval (PURSEL és JOHNSON, 1975) 1:15 (v/v) arányban. A program 10 területről videó felvételeket készít, azokat elemzi és összegyűjti az adatokat. A sejteket három kategóriába soroltam (nem motilis: a spermiumok nem mozognak, nem progresszív mozgás: a sperma egyhelyben mozog, progresszív mozgás: a sperma előrehaladó mozgást végez). A mozgás típusainak elemzéséhez a CASA használati útmutatójában a sertésre vonatkozó beállítási paramétereket alkalmaztam: nem mozgó: AOC (average orientation change) $< 2,5$; TM%: AOC $> 2,5$ és DSL (distance straight line) $< 4,5 \mu\text{m/s}$; PM%: AOC $> 2,5$ és DSL $> 4,5 \mu\text{m/s}$ (HORVÁTH, 2015).

2. 3. Hordozható motilitásvizsgáló eszköz alkalmazhatóságának ellenőrzése

Négy tenyészetből nyolc kan (két magyar lapály, két magyar nagyfehér, két duroc × pietrain, két danbred × duroc) összesen 581 ejakulátumát gyűjtöttem be. A frissen begyűjtött ejakulátumokat Beltsville Thawing Solution (BTS) (PURSEL és JOHNSON, 1975) hígítóval hígítottam, majd a 16°C-on tárolva szállítottam a NAIK-ÁTHK szaporodásbiológiai laboratóriumába. A vizsgálatba vont 581 ejakulátumot a motilitásvizsgálatokhoz szükséges koncentrációnak (50×10^6 spermium/ml) megfelelően hígítottam, ezt követően asztali CASA szoftverrel (Sperm Class Analyzer – SCA, Microptic S. L., Barcelona, Spanyolország) és mobil CASA (Ongo) készülékkel egyaránt (Ongo Sperm Test®, Microfluidlabs, Budapest, Hungary) vizsgálatot végeztem koncentráció, motilitás és progresszív motilitás tekintetében.

A vizsgálati módszer az asztali és a hordozható CASA-val végzett vizsgálatoknál mind az 581 ejakulátum esetében azonos volt. A spermiumok osztályozása BUSS és mtsai (2019) javaslata szerint történt: immotilis spermiumok: átlagos irányváltoztatásuk $<8 \mu\text{m}$; folyamatos haladó mozgást végző spermiumok: körkörös mozgás $\geq 10 \mu\text{m/s}$, egyenes vonalú mozgás $\geq 6 \mu\text{m}$ és a sejtek motilitási sugara $\geq 15 \mu\text{m}$.

A minták vizsgálatához Ongo tárgylemezt alkalmaztam. A felhígított mintákból $10 \mu\text{l}$ mennyiséget pipettáztam a cellákba. A vizsgált területeket jelöltem a lemezen, a két eszközzel pedig azonos hőmérsékleten (37°C) vizsgáltam. Mindkét vizsgáló rendszer alkalmazását különböző paraméterek beállítása előzte meg, mint például állatfaj, fókuszálás, hígító típusa.

A statisztikai elemzést Bland-Altman módszerrel végeztem (BLAND és ALTMAN, 1986). A módszer lehetővé teszi az asztali és a hordozható CASA mérési technikái közötti átlagkülönbségek leírását és ábrázolását: a koncentráció, a motilitás, a progresszív motilitás összehasonlíthatók. A módszerek közötti $\pm 20\%$ -os eltérés elfogadhatónak tekinthető a klinikai andrológiai vizsgálatokban. Ezt az összehasonlítási módszert vették figyelembe MORTIMER és mtsai (2015) arany standard spermaelemzési módszerként, ahol kiszámították a felső és alsó 95%-os megegyezési határértékeket.

3. EREDMÉNYEK

3. 1. SNP-k azonosítása

A genetikai vizsgálat során a minél szorosabb kapcsoltságot mutató SNP-k azonosítását tűztém ki célul.

A 12 vizsgált szaporodásbiológiai paraméter (fialások száma, fialási százalék, élve született malacok száma, összesen született malacok száma, holtan született malacok száma, születéskori alomtömeg, 21 napos átlagos alomtömeg, két fialás között eltelt idő, élve született malacok számának átlaga, holtan született malacok számának átlaga, összesen született malacok számának átlaga, felnevelési ráta) közül, az alábbiakban részletesen bemutatott 5 tulajdonság esetében találtam olyan SNP-ket, amelyekkel szoros kapcsoltságot mutatnak. Az azonosított SNP-k közelében lévő gének az Ensembl *Sus scrofa* 11.1 adatbázisából származnak.

3. 1. 1. Összesen született malacok száma

Vizsgálatom során az összesen született malacok számával (TNB) kapcsolatban a vizsgált 290 magyar nagyfehér koca esetében három SNP-t azonosítottam, amelyek az 1., 6. és 13. kromoszómán találhatók (2. táblázat, 1. ábra).

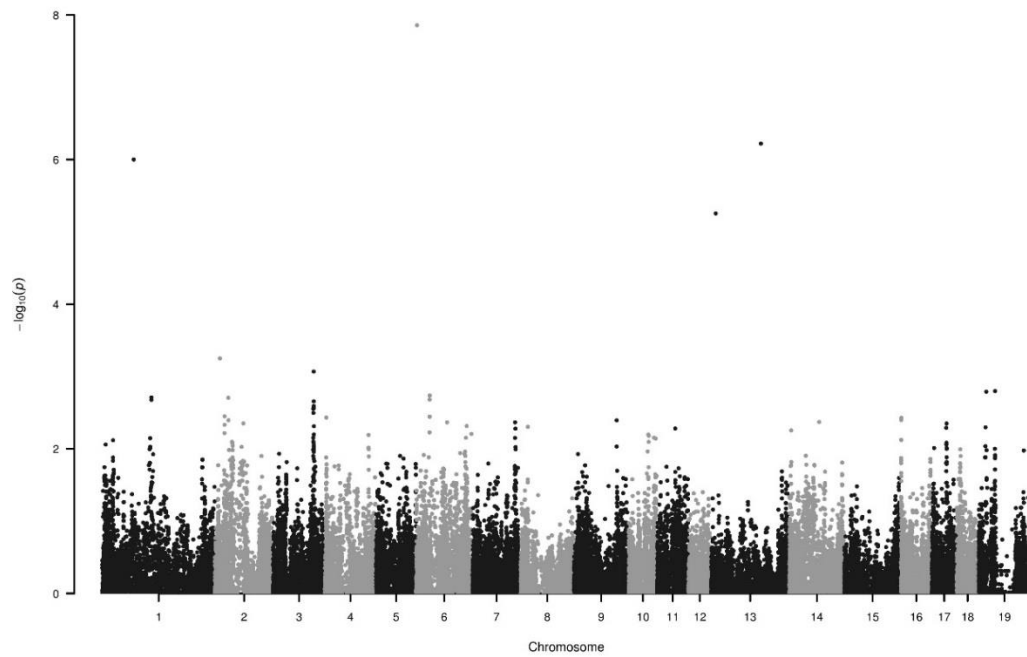
2. táblázat

**Az összesen született malacok számával (TNB) kapcsoltságot mutató lókuszok,
genomiális elhelyezkedésük és a szomszédos gének**

marker ss azonosító	kromoszóma: pozíció	$-\log_{10}P$	markerhez közeli gén(ek)	MAF	FDR
rs80878088	1:88143914	6,00	<i>RFPL4B</i> , <i>MARCKS</i> ,	0,298	0,016
s336610321	6:2594634	7,86	<i>FBXO31</i> <i>FOXL1</i> , <i>MTHFSD</i>	0,299	6,88e-4
rs326153933	13:139009753	6,22	<i>FGF12</i>	0,364	0,015

MAF (minor allele frequency, minor allélgyakoriság); FDR (false discovery rate, téves felderítési arány)

1. ábra: Manhattan távolságmátrix az összesen született malacok számával (TNB) kapcsoltságot mutató polimorfizmusokról (SNP)



Az 1., 6., 13. kromoszómán lévő lókuszoknál a $\log_{10}P \geq 6$ értékek mutatják a legszorosabb kapcsolatot a vizsgált szaporodásbiológiai tulajdonsággal, az összesen született malacok számával. A vízszintes tengelyen a 19-es szám az X kromoszómát jelzi.

3. 1. 2. Születéskori alomtömeg

A születéskori alomtömeggel kapcsolatban a vizsgált 290 magyar nagyfehér koca esetében hét lókuszt azonosítottam, amelyek az 5., 6., 14., 16., 17. X. kromoszómán (SSC) helyezkednek el (3. táblázat, 2. ábra).

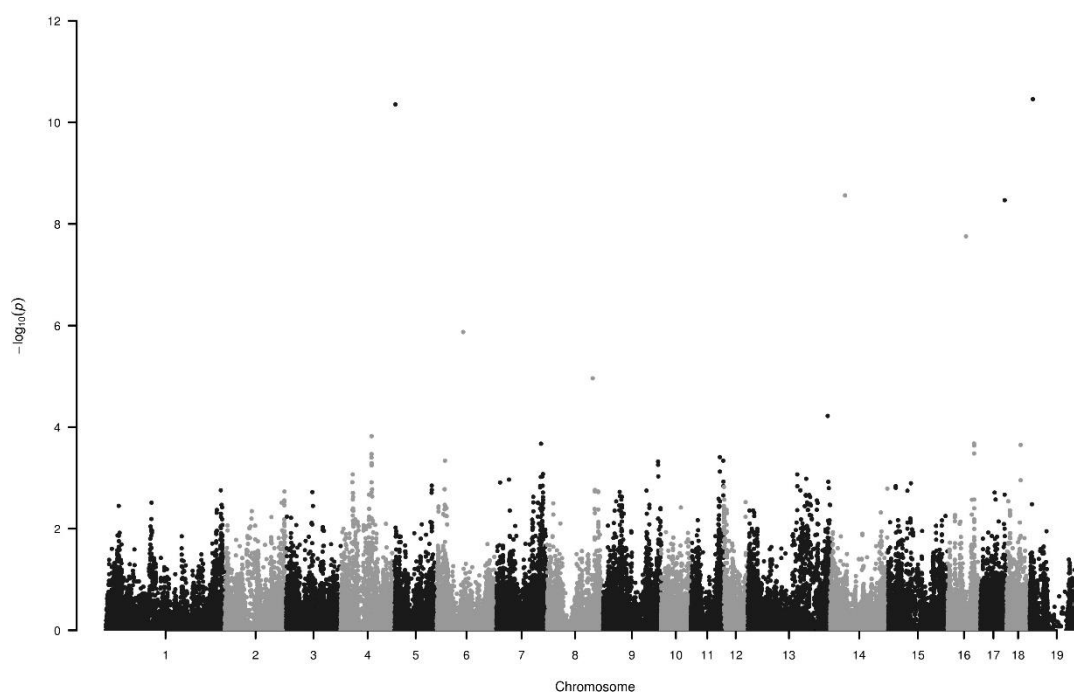
3. táblázat

A születéskori alomtömeggel (LWA) kapcsolttságot mutató lókuszek, genomiális elhelyezkedésük és a szomszédos gének

marker ss azonosító	kromoszóma:pozíció	$-\log_{10}P$	markerhez közeli gén(ek)	MAF	FDR
rs81382693	5:1912703	10,35	<i>ARHGAP8</i> , <i>PRR5</i>	0,425	1,10e-06
rs340060083	6:70048043	5,87	<i>PADI2</i> , <i>PADI1</i>	0,397	9,49e-03
rs345681434	14:39399038	8,56	<i>MED13L</i> , <i>TBX3</i>	0,115	4,53e-05
rs81459332	16:48711236	7,76	<i>ERBB2IP</i>	0,155	1,74e-04
rs80882327	17: 57391800	8,47	<i>BMP7</i>	0,492	4,22e-05
rs81473286	X:8718698	10,46	<i>AMELX</i> , <i>ARHGAP6</i>	0,446	1,73e-06
rs319594780	X:135147279	7,72	<i>SLITRK</i> klaszter	0,348	1,59e-04

MAF (minor allele frequency, minor allélgyakoriság); FDR (false discovery rate, téves felderítési arány)

2. ábra: Manhattan távolságmátrix a születéskori alomtömeggel (LWA) kapcsoltságot mutató polimorfizmusokról (SNP)



Az 5., 6., 14., 16., 17., X kromoszómán lévő lókuszoknál a $-\log_{10}P > 5$ értékek mutatják a legszorosabb kapcsolatot a vizsgált szaporodásbiológiai tulajdonsággal, a születéskori alomtömeggel. A vízszintes tengelyen a 19-es szám az X kromoszómát jelzi.

3. 1. 3. Holtan született malacok száma

A vizsgált 290 magyar nagyfehér koca esetében hét lókuszt azonosítottam, amelyek kapcsolatban állnak a holtan született malacok számával. Ezek a lókuszok az 5., 6., 13., 14., 15., 16., 18. kromoszómán találhatók (4. táblázat, 3. ábra).

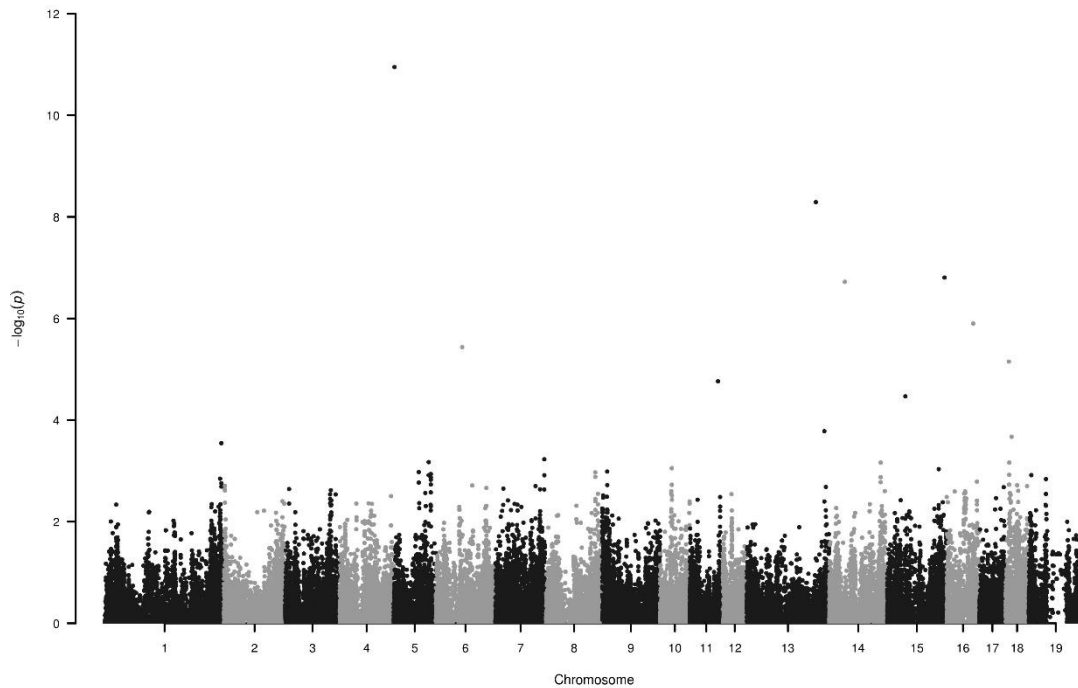
4. táblázat

Holtan született malacok számával (NBD) kapcsoltságot mutató lókuszok, genomiális elhelyezkedésük és a szomszédos gének

marker ss azonosító	kromoszóma:pozíció	$-\log_{10}P$	markerhez közeli gén(ek)	MAF	FDR
rs81382693	5:1912703	10,95	<i>ARHGAP8</i>	0,425	5,56e-07
rs340060083	6:70048043	5,43	<i>PADI2, PADI1</i>	0,397	3,03e-02
rs80893810	13:183254699	8,29	<i>CADM2, LIPI SNORA70</i>	0,335	1,27e-04
rs80845657	14:41396206	6,72	<i>RPL6, TBX3</i>	0,095	2,35e-03
rs329723588	15:152057161	6,81	<i>SCLY</i>	0,090	2,58e-03
rs338594773	16:70502947	5,90	<i>EBF1</i>	0,365	1,24e-02
rs333328959	18:8927486	5,15	<i>BRAF, MKRN1, PPAR</i>	0,069	4,99e-02

MAF (minor allele frequency, minor allélgyakoriság); FDR (false discovery rate, téves felderítési arány)

3. ábra: Manhattan távolságmátrix a holtan született malacok számával (NBD) kapcsoltságot mutató polimorfizmusokról (SNP)



Az 5., 6., 13., 14., 15., 16., 18. kromoszómán lévő lókuszoknál a $-\log_{10}P > 5$ értékek mutatják a legszorosabb kapcsolatot a vizsgált szaporodásbiológiai tulajdonsággal, a holtan született malacok számával. A vízszintes tengelyen a 19-es szám az X kromoszómát jelzi.

3. 1. 4. 21 napos átlagos alomtömeg

A vizsgált 290 magyar nagyfehér koca esetében az 1. kromoszómán azonosítottam egy lókuszt, amely kapcsolságot mutat a 21 napos átlagos alomtömeggel (5. táblázat, 4. ábra).

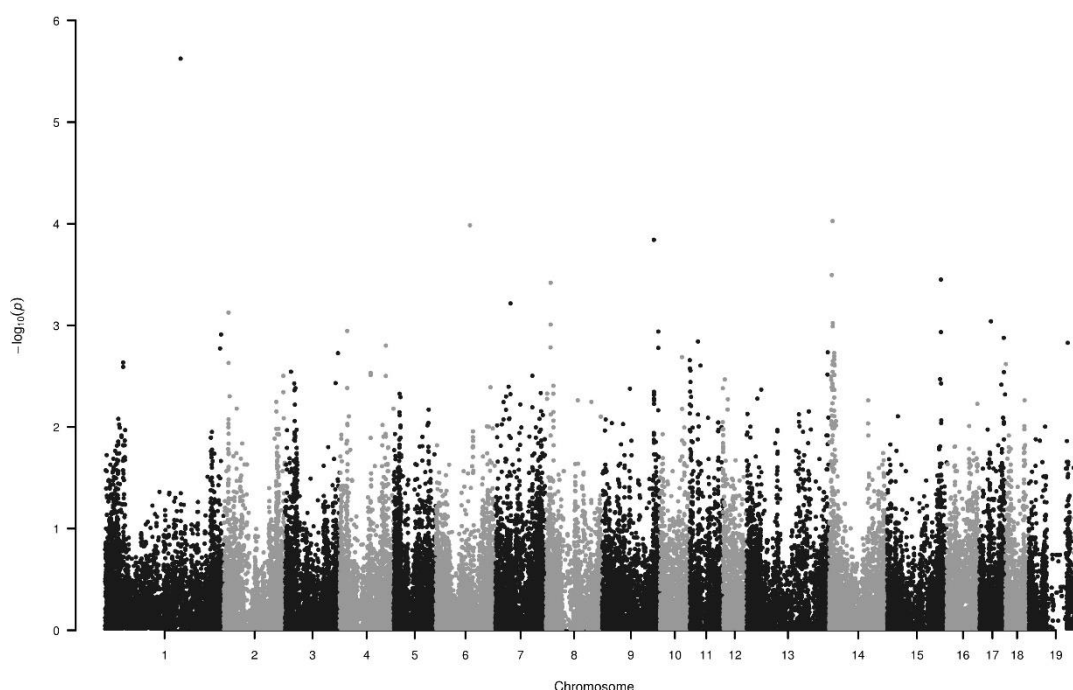
5. táblázat

A 21 napos átlagos alomtömeg (M21D) alakulásával kapcsolságot mutató lókuszt, genomiális elhelyezkedése és a szomszédos gének

marker ss azonosító	kromoszóma:pozíció	$-\log_{10}P$	markerhez közeli gén(ek)	MAF	FDR
rs699316219	1:200350940	5,62	ARF6, ABHD12B	0,461	0,117

MAF (minor allele frequency, minor allélgyakoriság); FDR (false discovery rate, téves felderítési arány)

4. ábra: Manhattan távolságmátrix a 21 napos átlagos alomtömeggel (M21D) kapcsolságot mutató polimorfizmusról (SNP)



Az 1. kromoszómán lévő lókusznál a $-\log_{10}P > 5$ érték mutatja a legszorosabb kapcsolatot a vizsgált szaporodásbiológiai tulajdonsággal, a 21 napos átlagos alomtömeggel. A vízszintes tengelyen a 19-es szám az X kromoszómát jelzi.

3. 1. 5. Két fialás között eltelt idő

Egy nagy hatású SNP-t azonosítottam a 8. kromoszómán a vizsgált 290 magyar nagyfehér koca esetében a két fialás között eltelt idővel (IBL) kapcsolatban (6. táblázat, 5. ábra).

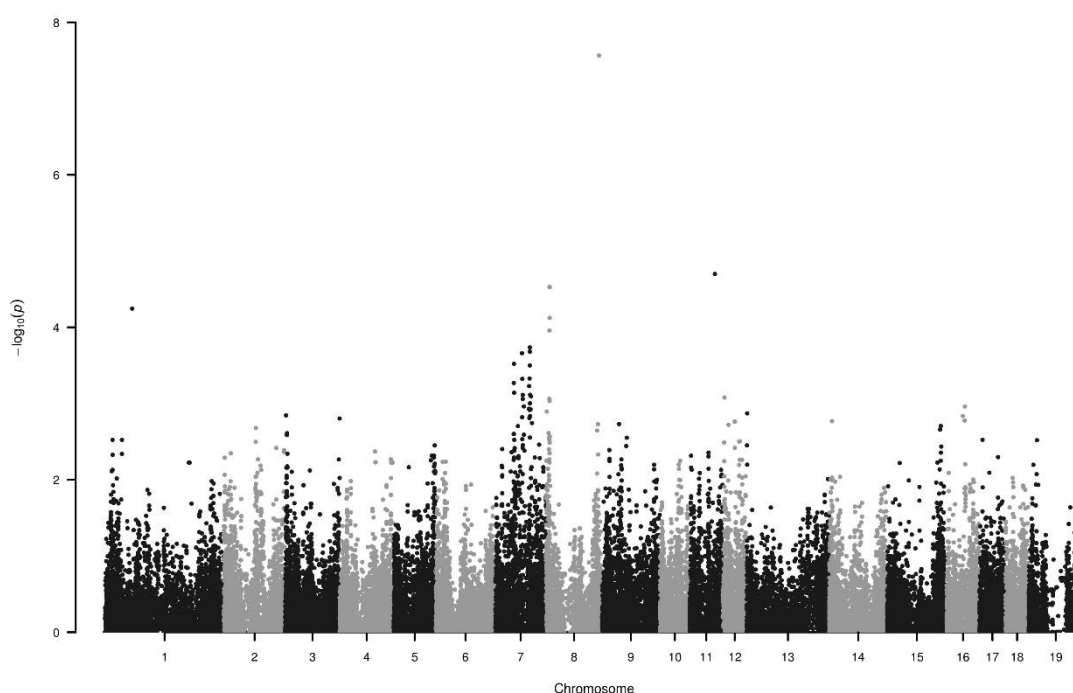
6. táblázat

A két fialás között eltelt idő (IBL) alakulásával kapcsoltságot mutató lókuszt, genomiális elhelyezkedése és a szomszédos gének

marker ss azonosító	kromoszóma:pozíció	$-\log_{10}P$	markerhez közeli gén(ek)	MAF	FDR
rs81301813	8:140274549	7,56	<i>PKD2</i> , <i>SPP1</i> , <i>MAPK10</i>	0,001	1,35e-03

MAF (minor allele frequency, minor allélgyakoriság); FDR (false discovery rate, téves felderítési arány)

5. ábra: Manhattan távolságmátrix a két fialás között eltelt idővel (IBL) kapcsoltságot mutató polimorfizmusról (SNP)



A 8. kromoszómán lévő lókusznál a $-\log_{10}P > 5$ érték mutatja a legszorosabb kapcsolatot a vizsgált szaporodásbiológiai tulajdonsággal, a két fialás között eltelt idővel. A vízszintes tengelyen a 19-es szám az X kromoszómát jelzi.

3. 2. Andrológiai és spermatológiai vizsgálatok értékelése

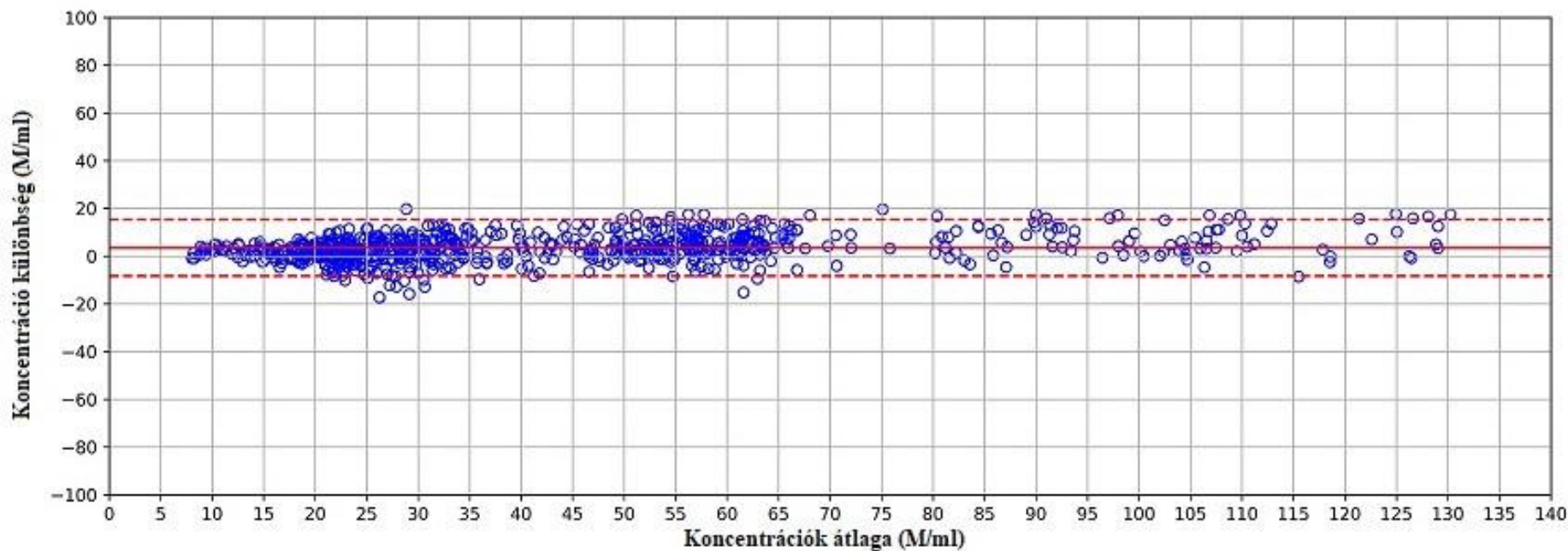
Az ultrahangos-, a termográfiás vizsgálat és a Kovács-Foote festési eljárás alkalmazásával az ejakulátum termékenyítésre való alkalmasságának, valamint a hím nemi szervek egészségi állapotának felmérését tűztem ki célul. A funkcionális vizsgálattal (CASA), valamint a here szöveti felépítésnek és a sejtek épségének ellenőrzésével törekedtem a minél szélesebb körű precíz, megbízható metodika alkalmazására. Az eredményekre alapozva, az ismertetett metodika és a validált eszköz alkalmazásával, a későbbiekben a nőivarhoz hasonlóan a hímivar esetében is lehetőség nyílik molekuláris genetikai vizsgálatok elvégzésére.

A hímivarú egyedek heréinek szöveti ultrahangos, hőkamerás vizsgálatát, valamint a szaporítóanyag motilitásvizsgálatát (CASA) követően nem tapasztaltam komoly rendellenességeket. Élő és elhalt (Kovács-Foote féle festési eljárás) spermiumok egyaránt előfordultak, de extrém rendellenességekkel nem találkoztam.

3. 3. Hordozható motilitásvizsgáló eszköz alkalmazhatóságának ellenőrzése

A két eszköz összehasonlító vizsgálatát követően összesen 1162 mérést kaptam (581 adatpár). A két eszköz eredményeinek összehasonlítását Bland-Altman statisztikai módszerrel végeztem el a koncentráció, motilitás és progresszív motilitás tekintetében (6., 7., és 8. ábra). A koncentráció, motilitás és progresszív motilitás átlagkülönbségei a kiszámított 95%-os megegyezés határértékeken ($d \pm 2SD$) belül mozogtak, a két módszer nagy hasonlóságot mutatott.

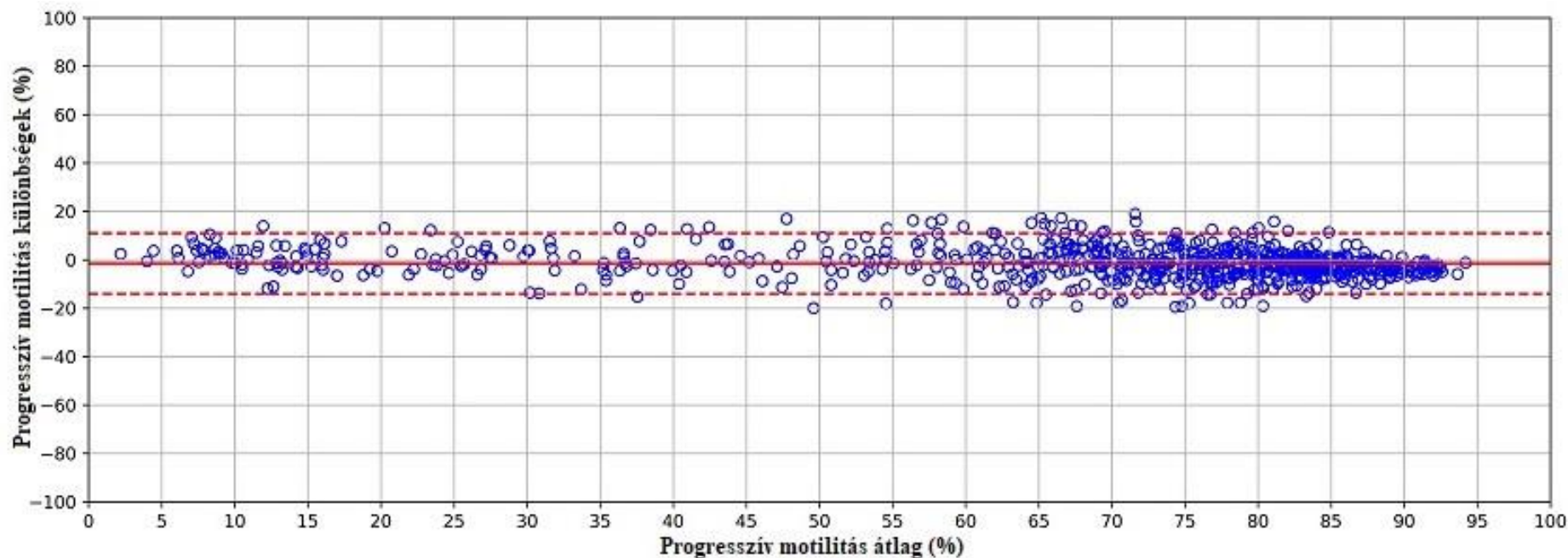
6. ábra: Az asztali (Microptic) CASA-val és az Ongo Sperm Analyzer-rel végzett koncentráció (M/ml) vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása Bland-Altman módszerrel



Piros vonal (koncentráció átlagkülönbségek): -3,85 M/ml. Szaggatott piros vonalak 95%-os megegyezési határok (két mérés átlaga $\pm 2SD$) – alsó: -8,28 és felső: 15,41. Az X tengely mutatja a két eszköz méréseinek átlagát (M/ml), az Y tengely pedig az átlag párok közötti különbséget (M/ml).

A koncentráció tekintetében a Bland-Altman ábra elfogadható egyezőséget mutatott az Ongo és a Microptic CASA között.

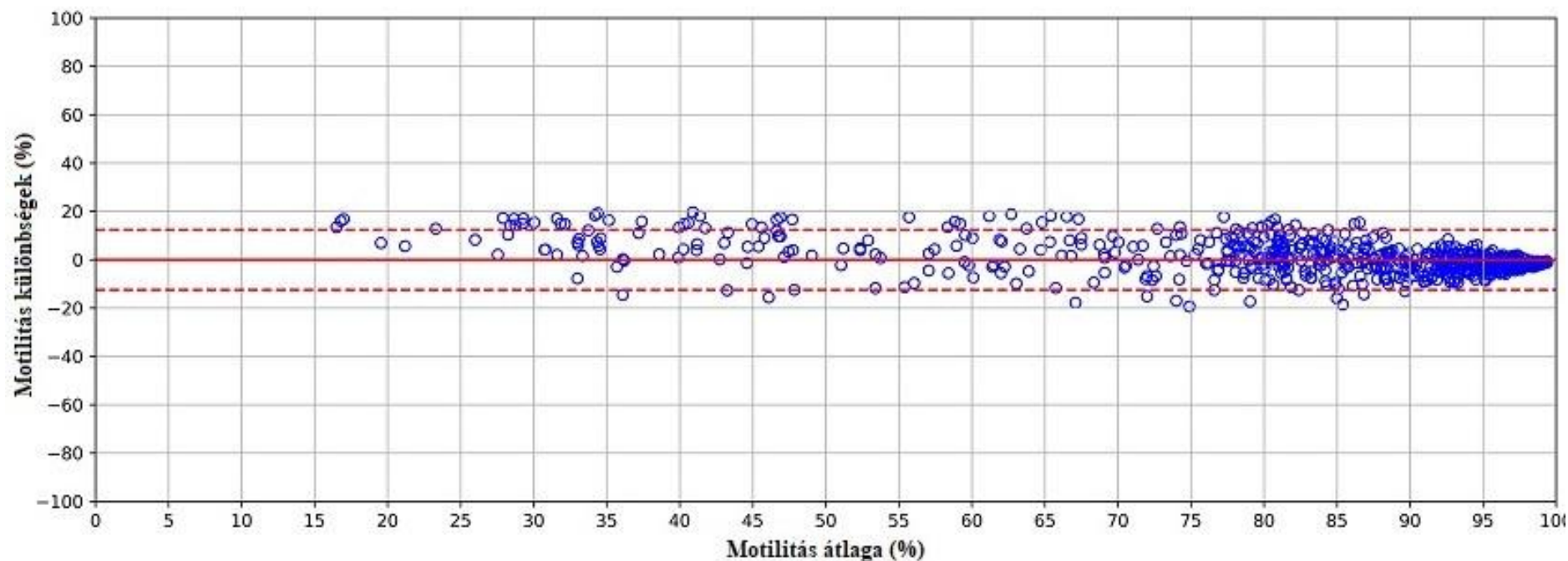
7. ábra: Az asztali (Microptic) CASA-val és az Ongo Sperm Analyzer-rel végzett progresszív motilitás (%) vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása Bland-Altman módszerrel



Piros vonal (progresszív motilitás átlagkülönbségek): 1,09%. Szaggatott piros vonal: 95%-os megegyezési határok (két mérés átlaga $\pm 2SD$) – alsó: -13,98% és felső: 11%. Az X tengely mutatja a két eszköz méréseinek átlagát (%), az Y tengely pedig az átlag párok közötti különbséget (%).

Az eredmények alapján a progresszív motilitás tekintetében is elfogadható egyezőséget mutatott a két eszköz.

8. ábra: Az asztali (Microptic) CASA-val és az Ongo Sperm Analyzer-rel végzett motilitás (%) vizsgálatok eredményeinek összehasonlítása Bland-Altman módszerrel



Piros vonal (motilitás átlagkülönbségek): -0,91%. Szaggatott piros vonal: 95%-os megegyezési határok (két mérés átlaga $\pm 2SD$) –alsó: - 2,43% és felső: 12,42%. Az X tengely mutatja a két eszköz méréseinek átlagát (%), az Y tengely pedig az átlag párok közötti különbséget (%).

Motilitás tekintetében is elfogadható egyezőséget mutatott a Bland-Altman analízis a vizsgált eszközök között.

4. AZ ÉRTEKEZÉS ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEI

1. A magyar nagyfehér hússértés esetében **három, az összesen született malacok számával** (total number of piglets born, TNB) **kapcsoltságot mutató SNP-t** (marker ss azonosító: rs80878088, rs336610321, rs326153933) azonosítottam ($-\log_{10} P = 6,0, 7,86$ és $6,22$), az 1., 6. és 13. kromoszómán.
2. A magyar nagyfehér hússértés esetében **hét, a születéskori alomtömeggel** (litter weight born alive, LWA) **kapcsoltságot mutató SNP-t** (marker ss azonosító: rs81382693, rs340060083, rs345681434, rs81459332, rs80882327, rs81473286, rs319594780) azonosítottam ($-\log_{10} P = 10,35, 5,87, 8,56, 7,76, 8,47, 10,46, 7,72$) az 5., 6., 14., 16., 17. és az X kromoszómán.
3. A magyar nagyfehér hússértés esetében **hét, a holtan született malacok számával** (number of piglets born dead, NBD) **kapcsoltságot mutató SNP-t** (marker ss azonosító: rs81382693, rs340060083, rs80893810, rs80845657, rs329723588, rs338594773, rs333328959) azonosítottam ($-\log_{10} P = 10,95, 5,43, 8,29, 6,72, 6,81, 5,90$ és $5,15$) az 5., 6., 13., 14., 15., 16. és 18. kromoszómán.
4. A magyar nagyfehér hússértés esetében **egy, a 21 napos átlagos alomtömeggel** (mean litter weight on the 21st day, M21D) **kapcsoltságot mutató SNP-t** (marker ss azonosító: rs699316219) azonosítottam ($-\log_{10} P = 5,62$) az 1. kromoszómán.
5. A magyar nagyfehér hússértés esetében **egy, a két fialás között eltelt idővel** (interval between litters, IBL) **kapcsoltságot mutató SNP-t** (marker ss azonosító: rs81301813) azonosítottam ($-\log_{10} P = 7,56$) a 8. kromoszómán.
6. Elsőként hasonlítottam össze a Microptic (asztali) és az Ongo (hordozható) CASA rendszereket sertés (magyar nagyfehér, magyar lapály, danbred $\times$ duroc, duroc $\times$ pietrain) termékenyítőanyag elemzésében. A Bland-Altman módszerrel végzett összehasonlító vizsgálat (koncentráció: $-3,85$ M/ml; progresszív motilitás: $1,09\%$; motilitás: $-0,91\%$) nagy hasonlóságot mutatott a mérések között.

5. AZ EREDMÉNYEK GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁGA

1. A vizsgált szaporodásbiológiai paraméterekkel összefüggésbe hozható 19 egyponthoz nukleotid polimorfizmus azonosításával lehetőség nyílik a hazai tenyésztésű magyar nagyfehér és magyar lapály sertések teljesítményének további javítására. Ezáltal a korszerű piaci elvárásoknak mind tenyésztési, mind gazdaságossági szempontoknak megfelelően szelektált magyar fajtákat tenyészthetünk. Nem hagyhatjuk figyelmen kívül a világon előrejelzett humán és állati járványok gyakoriságának növekedését sem, amelyek hatásai országon belüli, esetleges állománycsökkenést eredményezhetnek. A magasabb genetikai potenciálra szelektált magyar fajtákra alapozott tenyésztési rendszerek lehetőséget biztosítanak a határainkon belüli állománypótlásra lecsökkentve akár annak a lehetőségét is, hogy hazánkban még nem előforduló betegségeket „honosítsunk” tenyész-, vagy vágóállatok behozatalával.
2. A sertéságazatban a nagy tenyésztési potenciál gazdasági jelentősége indokolja a hímivarú sertések termékenyítőképességének minél pontosabb ismeretét. A mesterséges termékenyítés fejlesztése érdekében objektív, gyors és költséghatékony módszerre van szükség a spermium minőségének értékeléséhez, termékenyítőképességének előrejelzéséhez. Az egyed termékenyítőképességét az ejakulátum morfológiai és motilitásvizsgálat kombinációjának eredményei határozzák meg. A motilitásvizsgálat során számítógépvezérelt fáziskontraszt-mikroszkóp segítségével elemezhető számos tulajdonság, így a koncentráció és a progresszív motilitás is. Laboratóriumokban általánosan alkalmazott eszköz. Az Ongo készülék, az asztali CASA rendszerek továbbfejlesztett, a terepi munka során is alkalmazható, hordozható változata, amely felhasználóbarát felülettel és szoftverrel rendelkezik, ezért akár megfelelő szakmai képesítés nélkül is könnyen használható. Az eszköz praktikus és költséghatékony lehetőség, amennyiben asztali CASA rendszerhez infrastruktúra, anyagi és/vagy human erőforrás nem áll rendelkezésre. Gyors és pontos eszköz a gyakorlat számára spermaanalízishez az állattenyésztésben és az állattartó telepeken az ejakulátum objektív vizsgálatára, az asztali CASA készülék alternatívjaként.

6. IRODALOMJEGYZÉK

1. ALTHOUSE, G. C. – LEVIS, D. G. – DIEHL, J. (2015): Semen collection, evaluation and processing in the boar. Purdue University Cooperative Extension Service, Pork Industry Handbook. 136.
2. ARMITAGE, P. (1955): Tests for linear trends in proportions and frequencies. *Biometrics*. 11. 3.
3. BASURTO-KUBA, V. M. – EVANS, L. E. (1981): Comparison of sperm-rich fractions of boar semen collected by electro ejaculation and the gloved-hand technique. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 178 (9), 985-986.
4. BLAND, J. M. – ALTMAN, D. G. (1986): Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*. 1 (8476), 307-310.
5. HORVÁTH A. (2015): A stresszkezelés hatásának vizsgálata a sertésondó mélyfagyasztási protokolljában és az így kezelt mélyfagyasztott ondó gyakorlati alkalmazásának eredményei. PhD értekezés. Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Doktori Iskola, Budapest.
6. KOVÁCS A. – FOOTE, R. H. (1992): Viability and Acrosome Staining of Bull, Boar and Rabbit Spermatozoa. *Biotechnic & Histochemistry*. 67 (3), 119-124.
7. KÖZPONTI STATISZTIKAI HIVATAL (2020a): Sertésállomány. https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_evkozi/e_oma005.html (2020. május 27.).
8. KÖZPONTI STATISZTIKAI HIVATAL (2020b): Sertéshúsmérleg (1970-). https://www.ksh.hu/docs/hun/xstadat/xstadat_hosszu/elm01.html (2020. május 13.).
9. MORTIMER, S. T. – VAN DER HORST, G. – MORTIMER, D. (2015): The future of computer-aided sperm analysis. *Asian Journal of Andrology*. 17 (4), 545-553.
10. PURSEL, V. G. – JOHNSON, L. A. (1975): Freezing of boar spermatozoa: fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *Journal of Animal Science*. 40, 99-102.
11. SEGURA, V. – VILHJÁLMSSON, B.J. – PLATT, A. – KORTE, A. – SEREN, Ü. – LONG, Q. – NORDBORG, M. (2012): An efficient multi-locus mixed model approach for genome-wide association studies in structured populations. *Nature Genetics*. 44 (7), 825-830.

7. PUBLIKÁCIÓS JEGYZÉK



**DEBRECENI
EGYETEM**

**DEBRECENI EGYETEM
EGYETEMI ÉS NEMZETI KÖNYVTÁR**

H-4002 Debrecen, Egyetem tér 1, Pf.: 400
Tel.: 52/410-443, e-mail: publikaciok@lib.unideb.hu

Nyilvántartási szám: DEENK/352/2020.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Balogh Eszter Erika
Doktori Iskola: Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10055754

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (2)

1. **Balogh, E. E.**, Dálnoki, A. B., Rózsa, L., Rátky, J., Zsolnai, A., Anton, I.: Magyar nagyfehér kocák szaporasági érték mérővel kapcsolt szelekciós markerek azonosítása.
Állatteny. Takarm. 69 (2), 111-123, 2020. ISSN: 0230-1814.
2. **Balogh, E. E.**, Dálnoki, A. B., Rózsa, L., Rátky, J., Zsolnai, A., Anton, I.: Hazai és nemzetközi szaporodásbiológiai és genetikai kutatások kronológiai áttekintése a sertéságazatban (Irodalmi áttekintés).
Állatteny. Takarm. 68 (2), 150-166, 2019. ISSN: 0230-1814.

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (3)

3. **Balogh, E. E.**, Dálnoki, A. B., Rózsa, L., Debnár, V. J., Varga-Balogh, O., Rátky, J., Zsolnai, A., Anton, I.: Evaluation of porcine semen quality by portable and desktop CASA systems: Short communication.
Acta Vet. Hung. 68 (2), 197-199, 2020. ISSN: 0236-6290.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2020.00023>
IF: 0.991 (2019)
4. **Balogh, E. E.**, Gábor, G., Bodó, S., Rózsa, L., Rátky, J., Zsolnai, A., Anton, I.: Effect of single-nucleotide polymorphisms on specific reproduction parameters in Hungarian Large White sows.
Acta Vet. Hung. 67 (2), 256-273, 2019. ISSN: 0236-6290.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2019.027>
IF: 0.991
5. **Balogh, E. E.**, Kern, L., Anton, I., Balogh, O., Gábor, G., Rátky, J.: Andrological examination of Hungarian Large White and Landrace boars.
Agrártud. Közl. 75, 5-10, 2018. ISSN: 1587-1282.





Egyéb folyóiratközlemények (1)

6. Gábor, G., **Balogh, E. E.**, Debnár, V. J., Kern, L., Balogh, O. G.: Testing of boar semen by DIC, portable and desktop CASA devices (Poster Presentations).
Reprod. Domest. Anim. 53, 135, 2018. ISSN: 0936-6768.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/rda.13272>

Magyar nyelvű konferencia közlemények (1)

7. **Balogh, E. E.**, Kern, L., Gábor, G., Dálnoki, A. B., Rátky, J., Zsolnai, A., Anton, I.: Egy pontos nukleotid-polimorfizmusok (snp) hatása magyar nagyfehér kocák szaporodásbiológiai tulajdonságaira.
In: Tavaszí Szél = Spring Wind 2019 Tanulmánykötet. Szerk.: Bihari Erika, Molnár Dániel, Szikszai-Németh Ketrin, Doktoranduszok Országos Szövetsége, Budapest, 21-31, 2020.
ISBN: 9786155586521

További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

8. Xayalath, S., **Balogh, E. E.**, Rátky, J.: The role of animal breeding with special regard to native pigs of food supply and rural development in Laos.
Agrártud. Közl. 1 (1), 149-154, 2020. ISSN: 1587-1282.
DOI: <http://dx.doi.org/10.34101/actaagrar/1/3771>

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (1)

9. Rátky, J., Egerszegi, I., Páble, T., **Balogh, E. E.**, Manabe, N., Keonouchan, S., Brüssow, K. P.:
Invited review: reproductive physiology in commercial and premium pig breeds - history of 30-year-long cooperation.
Arch. Anim. Breed. 60 (3), 253-257, 2017. ISSN: 0003-9438.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5194/aab-60-253-2017>
IF: 0.689





Idegen nyelvű absztrakt kiadványok (1)

10. Rátky, J., **Balogh, E. E.**, Győri, Z., Novotniné Dankó, G., Brüssow, K. P.: Zootechnical methods in pig production coming from Wild boar reproductive features.
In: 5th International Hunting and Game Management Symposium : Book of Abstracts and Proceedings. Ed.: Kusza Szilvia, Jávör András, University of Debrecen, Debrecen, 9, 2016.
ISBN: 9786155403101

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 2,671

**A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
1,982**

A DEENK a Jelölt által az iDEa Tudóstérbe feltöltött adatok bibliográfiai és tudományometriai ellenőrzését a tudományos adatbázisok és a Journal Citation Reports Impact Factor lista alapján elvégezte.

Debrecen, 2020.11.18.

