

Doktori (PhD) értekezés tézisei

**A LAPAROSZKÓPOS ASSZISZTÁLT REPRODUKCIÓS TECHNIKÁK
FEJLESZTÉSE ÉS AZ ÁLTALUK OKOZOTT STRESSZ VIZSGÁLATA
A JUHOKBAN**

Dr. Bagi Melinda

Témavezető: Dr. Pálfyné Dr. Vass Nóra
adjunktus



DEBRECENI EGYETEM
Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola

Debrecen, 2026

1. A DOKTORI ÉRTEKEZÉS ELŐZMÉNYEI ÉS CÉLKITŰZÉSEI

A Föld népessége évről évre növekvő tendenciát mutat, ezért a táplálkozásban a húsfogyasztás iránti igény emelkedik. A húsfélék között a juh- és kecskehús szerepe is erősödni fog. A juh- és kecskehús finom íze, zsírszegény összetétele és egyes népcsoportok hagyományai is kedvezően befolyásolják ezen húsok fogyasztásának mértékét. Ehhez elengedhetetlen a juh és kecske termékek gyártása során az új kutatások és innovációk fejlesztése (AMIRIDIS és CSEH, 2012; TEIXERIA és mtsai, 2019).

A szaporodásbiológiában jelentős előrelépést jelent az asszisztált reprodukciós technikák (ART) alkalmazása, melyekkel gyorsítható a genetikai előrehaladás, a piac számára előnyös genotípusok gyorsabban teret nyerhetnek, illetve az élőállat szállítással fellépő komplikációk is megelőzhetőek. Hazánkban azonban nem gyakori ezen technikák alkalmazása, összehasonlítva a juhtenyésztésben kiemelkedő országokkal (pl. Ausztrália, Nagy-Britannia, Franciaország) (VASS és mtsai, 2017). Az asszisztált reprodukciós technikák sikerességét számos külső tényező (pl. időjárás), technológiai háttért (pl. tartási és takarmányozási technológia, bárány választási ideje), protokoll (pl. ivarzás szinkronizáció, mesterséges termékenyítés technikája) befolyásolhatja (ABECIA és mtsai, 2017; SPANNER és mtsai, 2024). Fontos ezeknek a tényezőknek a vizsgálata, hogy megállapítsuk melyeknek van a legnagyobb hatása az ART sikerességére és ezáltal növelni tudjuk a tenyészállatok reprodukciós teljesítményét. A beavatkozások során azonban a sikeresség mellett szem előtt kell tartanunk, hogy minimalizáljuk az állatokat érő stresszt, fájdalmat és csökkentjük a fertőzés kockázatát. Ez nem csak a kutatóknak fontos, hanem a gazdálkodók és a lakosság számára is kiemelkedő szempont (MUHAMMAD és mtsai, 2022).

A kutatás célkitűzései:

1. Kutatómunkám első felében az embriótranszfer program során fellépő stressz hatását vizsgáltuk recipiens anyajuhokban. A kísérlet célja volt:

- Kortizol szint megállapítása nyál mintából.
- Az embrióbeültetés előkészítése és a beavatkozások után mutatott fekvési viselkedés változásának monitorozása.
- A laparoszkópos és fél-laparoszkópos embriótranszfer által okozott stressz mértékének vizsgálata, a módszerek közötti különbségek megállapítása és a kontroll csoporttal történő összehasonlítása.

A stresszvizsgálatok eredményei alapján javaslatot tudunk tenni a tenyésztőknek és az állatorvosoknak, hogy a jövőben az állatok számára kevesebb fájdalommal és stresszel járó beavatkozási módot válasszák.

2. A kutatómunka második részeként a laparoszkópos mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők vizsgálatát végeztük ile de france juhajtában. A vizsgálat céljai voltak:

- A szezon, a holdfázis, az anyai hatás, a telepi menedzsment és a koshatás vizsgálata a termékenyítés sikerességére.
- A szezon és a holdfázis hatása az ikervemhességre és a születendő bárányok nemére.

A kapott eredmények kiértékelésével segítséget nyújthatunk a tenyésztőknek abban, hogy a fagyasztott spermás mesterséges termékenyítés minél eredményesebb legyen, a tenyésztők a saját és a piac igényeit minél hatékonyabban ki tudják elégíteni az előállított termékeikkel.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során

2.1.1. A kísérleti helyszínek és a kísérleti állatok bemutatása

A kísérletet a Hajdú-Bihar Vármegyei Kormányhivatal Élelmiszerlánc-Biztonsági és Állategészségügyi Igazgatósága engedélyezte (kísérleti engedélyszám: 33-M/2022/DEMÁB). A kísérletben szereplő beavatkozásokat a hatályos jogszabályok és irányelvek alapján végeztük el. A vizsgálatainkat a Debreceni Egyetem, Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság Kismacsi Állattenyésztési Kísérleti Telepén folytattuk le.

A kísérletbe a Kismacsi Állattenyésztési Kísérleti Telepéről 40 recipiens és 15 donor anyajuhot vontunk be. A programba csak fizikális vizsgálat alapján egészségesnek bizonyult állatokat választottunk ki, melyek betegségre utaló tüneteket nem mutattak. Az anyajuhok életkora 2-6 év között volt, tápláltsági állapotuk közepes vagy jól táplált (BCS: 2,5-3,5). Az állatok a hazai juhtartásra jellemző félintenzív tartásban voltak, mélyalmos rendszerben, már 2 hónappal a beavatkozás előtti időponttól kezdődően ráccsal leválasztva a többi egyedtől. Ad libitum szénát és vizet kaptak, valamint napi két alkalommal koncentrált abraktakarmányt.

2.1.2. Az állatok kísérleti elhelyezése és előkészítése

A kísérleti programok 2022 októberében és 2023 áprilisában zajlottak. Az embrióbeültetés által okozott stressz mértékének monitorozásához összesen 40 recipiens anyajuh ivarzás szinkronizációját végeztük el. Az ivarzás szinkronizációhoz a recipiens anyajuhokba Chronogest® (MSD Animal Health, France) hüvelyszivacsot helyeztünk, melyet 14 nap múlva távolítottunk el. A progesztagén forrás eltávolításával egy időben 300 NE eCG (Folligon® inj. AU.V., MSD Animal Health, France) injekciót kaptak intramuscularisan (i.m.). Az embrióbeültetés a hüvelyszivacs eltávolítását követő 7. napon történt.

Az operáció előtt 2 nappal a recipienseket egyedi 1,5x2 méteres karámokba helyeztük, ahol egymással érintkezhetek és ekkor még ad libitum széna és víz állt rendelkezésükre a napi kétszeri abraketéssel együtt. A műtét napja előtt azonban 24 óra éheztetés és 12 óra vízmegvonás elengedhetetlen. Erre azért van szükség, hogy a műtétek komplikáció nélkül menjenek végbe. A kitelt bendő és belek a műtéti fektetés során nyomhatják a hasi szerveket és a tüdőt, nő az esélye ezen szervek megsértésének. Továbbá gátolják a reprodukciós traktus könnyű felkeresését és ezzel befolyásolják a beavatkozás időtartamát és sikerességét. Az egyedi elhelyezés azért volt indokolt, hogy az állatok mozgatása során a többi kísérletben résztvevő

állatot ne zavarjuk meg, amely fontos szempont a stressz mértékének monitorozása során. A két nappal korábbi izoláció pedig azért volt elengedhetetlen, hogy az állatok a stresszvizsgálat előtt adaptálódjanak az új helyzethez, ezáltal ez szintén ne befolyásolja a vizsgálat eredményét. A beavatkozás után a recipiensek még az egyedi ketrecekbe tértek vissza 24 órára, majd 1 nappal később már újra csoportban voltak elhelyezve, de még külön a többi állattól.

2.1.3. Az embriók kinyerésének és beültetésének folyamata

A donor anyajuhoknál a program előtt az ivarzás szinkronizáció mellett szuperovulációs kezelést végeztünk. Az ivarzás szinkronizáció a recipiensekhez hasonlóan Chronogest® (MSD Animal Health, France) hüvelyszivaccsal történt, melyet 14 nap múlva távolítottunk el. Az egyszerűsített szuperovulációs protokoll alapján az FSH kezelést (18,75 µg/állat, 3,75 ml Stimufol®, Reprobio SPRL, Belgium) az állatok egy alkalommal kapták meg intramuscularisan a szivacs behelyezése után 12 nappal. Az FSH kezeléssel egy időben 300 NE eCG-t (Folligon® inj. A.U.V., MSD Animal Health, France) is adtunk intramuscularisan. A gesztagénforrás eltávolítása után 24 órával GnRH (Receptal®, MSD Animal Health, France) i.m. injekciót kaptak a donorok. A termékenyítés friss vagy fagyasztott sperma felhasználásával laparoszkópos technikával történt 48-50 órával a hüvelyszivacs eltávolítását követően, ezután a donorok hárembe kerültek. A sebészi embriókinyerést a progesztagén forrás eltávolítása utáni 7. napon végeztük. A kinyert embriókat mikroszkóp alatt értékeltük, majd a recipiens anyajuhokba ültettük.

A recipiens anyajuhokat véletlenszerűen osztottuk 3 csoportba. Az első csoportba kerülő recipiensek esetében laparoszkópos (n=15) embriótranszfert végeztünk, a második csoportba tartozóknál fél-laparoszkópos (n=10) módszert alkalmaztunk. A harmadik csoportot alkották a kontroll anyajuhok (n=15). A laparoszkópos és a kontroll csoport esetében a szedációhoz 40-50 µg/ttkg dózisban alkalmaztunk detomidin injekciót (Domosedan®, Orion Corporation, Finland) intramusculárisan. A laparoszkópos (L) és a fél-laparoszkópos (SL) csoportnál azonos volt a műtéti előkészítés. A műtéti területről, a tőgy előtti és melletti helyről a gyapjút lenyírtuk, a bőrt megtisztítottuk a szennyeződésektől fertőtlenítő szappannal, majd alkohollal fertőtlenítettük (Bradoderm Soft, Florin Zrt, Hungary). Az állatok egy laparoszkópos műtétekhez használt speciális kocsiban feküdtek háton. Az anyajuhokat feji irányban 45°-ban döntött pozícióban (Trendelenburg fektetés) helyeztük el a műtét ideje alatt. Ez a fektetés azért fontos, mert a hasi szervek a rekesz irányába csúsznak, így kisebb a kockázata a sérülésüknek, valamint könnyebben hozzáférhetővé hagyják a petefészkeket és a méhet. Az L csoportban a beavatkozást legalább 15 perccel (átlagosan 19,6 perc) a detomidin injekció beadását követően

kezdünk meg, amikor a detomidin elérte a teljes hatását. A laparoszkópos embriótranszfer során a tőgy előtt 5 cm-re a középvonaltól szintén 5 cm-re két oldalon egy-egy 1 cm-es bőrmetszést ejtettünk. A metszések mindegyikén keresztül trokárt vezetünk be a hasüregbe, amelyek lehetővé tették a laparoszkópos optika és a kézi eszközök bejutását a hasüregbe. A fényforrással ellátott laparoszkópos optika és az atraumatikus fogó (laparoszkópos eszközök: Storz, Germany és EMD, Hungary) segítségével felkerestük a petefészkeket és ellenőriztük a sárgatest jelenlétét, mivel az embrió beültetése csak akkor lehetséges a recipiensekbe, ha megtörtént a luteinizáció. Eközben a beültetésre váró embriót 0,25 ml-es műszalmába töltöttük, az embrió előtt és mögött egy-egy levegőbuborékot hagyva, hogy ellenőrizni tudjuk a beültetés sikerességét. A műszalmát termékenyítő katéterbe helyeztük (Aspic[®], IMV, France). Az inszemináló katétert a trokáron keresztül bevezettük és a sárgatesttel ipsilateralis méhszarv petefészkek felőli harmadába injektáltuk az embriót. A beavatkozás végén az anyajuhok 15 mg/ttkg dózisban amoxicillin antibiotikumot (Betamox LA[®], 150mg/ml A.U.V. inj., Norbrook, Ireland) és 1 mg/ttkg adagban meloxicám (Melovem[®] 20 mg/ml A.U.V. inj., Dopharma Research B.V., Netherlands) nem-szteroid gyulladáscsökkentőt kaptak. A laparoszkópos beavatkozás átlagos időtartama 6,6 perc volt.

A fél-laparoszkópos csoport 20 µg/ttkg Domosedan[®] (Orion Corporation, Finland) és 2 mg/ttkg ketamin (Ketamidor[®] 100 mg/ml inj. A.U.V., Richter Pharma AG, Austria) kombinációját kapta intramuscularisan. A beavatkozást legalább 10 perc várakozási idő után kezdtük el. A fél-laparoszkópos embriótranszfer során a laparoszkópos technikánál leírtak szerint két bőrmetszést ejtettük, melyeken keresztül a trokárokat, valamint az optikát és az atraumatikus fogót bevezettük. A sárgatesttel azonos oldali hasi metszést meghosszabbítottuk 2-2,5 cm-re és az atraumatikus fogó segítségével az azonos oldali méhszarvat óvatosan kiemeltük a hasüregből. A méhszarv petevezető felőli harmadában egy tompa végű szondával lyukat készítettünk. Ezen keresztül a méh lumenébe vezettük a Tomcat embrióbeültető katétert (Minitube, Germany), majd fecskendő segítségével - amelybe előzetesen már felszívtuk az embriót - bejuttattuk azt a méh üregébe. Az embriótranszfert követően a méhet visszaengedtük a hasüregbe és a sebet 2 csomós varrattal zártuk. A recipiensek a műtét végén az L csoporttal megegyezően kaptak antibiotikumot és nem-szteroid gyulladáscsökkentőt. Az SL embriótranszfer átlagos időtartama 8,3 perc volt.

A kontroll csoportba tartozó anyajuhokat 10 perccel a szedációt követően szintén a laparoszkópos kocsiba helyeztük, amelyben Trendelenburg pozícióban 6 percet töltöttek, majd visszakerültek az egyedi ketrecekbe egyéb beavatkozás nélkül. A kontroll csoport esetében az

volt a célunk, hogy imitáljuk a műtéthez szükséges lefogást és szedációt, illetve az ezzel járó stresszt.

2.1.4. Nyál kortizol mintavétel és vizsgálat

A nyál kortizol koncentrációjának meghatározásához a kísérletben szereplő állatoktól 4 alkalommal vettünk nyálmintát szintetikus tamponnal (Sailvette Cortisol, Sarstedt GmbH, Nümbrecht-Rommelsdorf, Germany). A mintavételek időpontja:

1. a beavatkozás napján reggel
2. a beavatkozás után 1 órával
3. a beavatkozás után 2 órával
4. a beavatkozás után 24 órával

A nyálminta gyűjtése Collin nyelvfogó segítségével történt, melybe befogtuk a mintavevő tamponokat és az állatok szájába, az őrlőfogak és a pofa közötti területre helyeztük. Fontos volt, hogy elkerüljük a kérődzés közbeni mintavételt, hogy csökkentsük a kontamináció esélyét. Az állatoknak engedtük, hogy 20 másodpercig rágják, annak érdekében, hogy a tampon kellően átítatódjon nyálmintával. A tamponokat visszahelyezve a műanyag tartójukba, azonnal 4 °C-ra hűtöttük, és hűtve szállítottuk a laborba. A tamponokat 3000 g fordulatszámra, 10 percig centrifugáltuk, majd a nyálat Eppendorf csövekben tároltuk –80 °C-on a kortizol mérésig. A kortizol méréshez szükséges volt legalább 1,5 ml nyálminta, ezért a statisztikai vizsgálatból azok az állatok kiestek, amelyekről valamelyik mérés során nem sikerült elég mintát nyernünk. A megfelelő mennyiségű minta gyűjtését hátráltatta a beavatkozás előtti 24 órás éheztetés és 12 órás vízmegvonás. A nyál kortizol szint mérésre az Állatorvostudományi Egyetem, Szülészeti Tanszék és Haszonállat-gyógyászati Klinika Diagnosztikai Laboratóriumában került sor. A mérés direkt RIA módszerrel történt, amelyet elsősorban élelmiszertermelő állatok plazma kortizol koncentráció mérésére fejlesztettek ki. Az elemzéshez 1,2,6,7–³H-kortizolt (TRK 407; Radiochemical Centre, Amersham, UK) valamint a kortizol-21-HS-BSA ellen nyúlban termeltetett specifikus poliklonális ellenanyagot használtunk (CSERNUS, 1982). A mérésben előforduló keresztreaktivitás százalékos aránya: 100%; kortikoszteron: 19%; prednizolon: 9,5%; deoxykortizol: 6,4%; 17 α -OH progeszteron: 5,7%; progeszteron: 2,6%; 22 egyéb szteroid: 0,54 és 0,0001% között. Az antitesthez kötött és a szabad frakciót egymástól el kellett választani, amihez 18-24 óra inkubációs időre volt szükség. A radioaktivitást TriCarb folyadékszintillációs számláló (Perkin Elmer Inc. Downers Grove, IL, USA) mérte. A mérési rendszer szenzitivitása 11,37 fmol/cső volt. A detektálási határértéken belül (2,0 és 100,0 nmol/ml) az intraassay koefficiens 3% és 8%, az interassay koefficiens 5% és 10% között

változott. A 100 nmol/ml-nél magasabb koncentrációjú mintákat hígítani kellett és újra mérni (CSERNUS, 1982).

2.1.5. Fekvéssel és állással töltött idő monitorozása

A lábra szerelhető pedométereket (HOBO Pendant G logger, Onset Computer Corp., Bourne, USA) a beavatkozás előtt egy nappal szereltük fel az állatok jobb hátsó lábára. Az eszközöket a lábszár külső oldalára rögzítettük rugalmas pólyával (Copoly), amely alatt kipárnázás céljából vattát használtunk. Az eszköz folyamatosan mérte és rögzítette a gyorsulást és a dőlésszöget három tengelyen (x, y, z), amellyel elkülöníthetővé vált az álló és fekvő pozíció. A méréseket az eszköz 30 másodpercenként végezte (BONK és mtsai, 2013). Az eszközök összesen három napig voltak az állatokon, a beavatkozás után 24 órával távolítottuk el azokat. Ezután az adatok letöltésre kerültek, majd Excel táblázatban rendszereztük azokat. A fekvéssel töltött idő meghatározásához az x tengely méréseit kellett használni. Fekvési pozíciónak minősítettük akkor, ha az legalább 3 mérésig (1,5 perc) fennmaradt, elkerülve a hibás méréseket. Az adatok értékelése során az alábbi változókat hasonlítottuk össze: összes fekvéssel töltött idő, a fekvési periódusok száma, az átlagos fekvési idő egy fekvési periódusban, a minimum és maximum fekvési idő fekvési periódusonként, melyeket a beavatkozás előtti és utáni 24 órában mértünk. Az első mérési periódust akkor indítottuk, amikor az összes állatra felszereltük az eszközt és az első állat műtéti idejének megkezdéséig tartott (beavatkozás előtti 24 óra). A posztoperatív 24 órás mérési periódust akkor indítottuk, amikor az állat a beavatkozás után visszakerült az egyedi boxba.

2.2. A mesterséges termékenyítést befolyásoló tényezők vizsgálata ile de france juhajtában

2.2.1. A mesterséges termékenyítés helyszínei és az állatok bemutatása

A laparoszkópos fagyasztott spermás mesterséges termékenyítéseket 2017 és 2023 között végeztük el három ile de france juhajtá tenyészetben. A termékenyítések Dr. Harangi Sándor hajdúszoboszlói, Angyal Balázs kunhegyesi és Győri Zsolt polgári juhtelepén valósultak meg. A termékenyítések szezonon belül, őszi (október, november) és szezonon kívül tavaszi (március, április) hónapokban történtek. A termékenyített anyajuhok mindegyike ile de france fajtájú volt, koruk 10 hónap és 10 év közötti, BCS 2,5-3,5. Félintenzív, mélyalmos tartásban, hodályban tartották az állatokat, kisebb legelőre kihajtás jellemző volt tavasztól ősziig. Széna ad libitum állt rendelkezésükre, napi egyszer abrakarmányt kaptak. A termékenyített

anyajuhokat a tenyésztők választották ki, ahogyan a kosokat is, melyeknek fagyasztott spermáját felhasználtuk a termékenyítések során. A fagyasztott sperma Franciaországból, az Európai Unió jogszabályainak megfelelő, hitelesített mesterséges termékenyítő állomásról származó import örökítőanyag volt. Összesen 250 ile de france fajtájú anyajuh laparoszkópos termékenyítését végeztük el.

2.2.2. Ivarzás szinkronizáció és laparoszkópos mesterséges termékenyítés

Az ivarzás szinkronizáció a korábban leírtakkal azonos módon történt. A Chronogest® (MSD Animal Health, France) hüvelyszivacsot 14 nap után távolítottunk el, mellyel egyidőben 300 NE eCG (Folligon® inj. A.U.V., MSD Animal Health, France) i.m. injekciót kaptak az anyajuhok. A termékenyítés 54-56 órával a progesztagén forrás eltávolítása után történt. A beavatkozás előtt szükség volt 24 órás éheztetésre és 12 órás vízmegvonásra is, így az állatok az MT előtt egy nappal már olyan karámba voltak elhelyezve, ahol nem juthattak hozzá takarmányhoz. A termékenyítési folyamat gyorsítása érdekében a műtési területről a gyapjú lenyírását már 2-5 nappal korábban elvégezték. A szedációt detomidin i.m. injekcióval (Domosedan®, Orion Corporation, Finland) végeztük 60-70 µg/ttkg dózisban. Mivel tapasztalataink alapján a juhok anesztetikus szerekre adott válaszreakciója eltérő, ezért első alkalommal inkább alacsonyabb dózist alkalmaztunk és szükség esetén ismételtük az injekciót. A műtési terület tisztítása és fertőtlenítése megegyezett az embriótranszfernél leírtakkal. Az állatokat a laparoszkópos kocsiba helyeztük, majd 45°-ban feji irányban döntött pozícióba emeltük. A tőgy előtt és a középvonaltól is 5 cm-re mind a két oldalon egy-egy 1 cm-es metszést ejtettünk hegyes szikepengével, majd ezeken keresztül 1-1 trokárt vezetünk be a hasüregbe ügyelve arra, hogy ne sértsük meg a hasi szerveket. A fényforrással ellátott laparoszkópos optikát (Storz, Germany; EMD, Hungary) bevezettük az egyik trokáron keresztül a hasüregbe és szükséges esetén az atraumatikus fogó segítségével felkerestük a méhszarvakat. A 0,25 ml-es műszalmában lévő fagyasztott spermát eközben 36-37 °C-os vízfürdőben 1 perc alatt felolvasztottuk és a termékenyítő katéterbe betöltöttük (Aspic®, IMV, France). A felolvasztott örökítőanyag minősége minden kos esetében a helyszínen is értékelésre került. Az inszemináló katétert a hegyes végével bevezetve a hasüregbe, a spermát mind a két méhszarvba elosztva injektáltuk be. A műtét végén az állatok 15 mg/ttkg amoxicillin (Betamox LA®, 150 mg/ml A.U.V. inj., Norbrook, Ireland) és 1 mg/ttkg meloxicám (Melovem® 20 mg/ml A.U.V. inj., Dopharma Research B.V., Netherlands) tartalmú injekciót kaptak. A sebet fertőtlenítő sprayvel kezeltük (Alamycin aeroszol A.U.V., Norbrook Ireland). Az állatok teljes ébredés után kerülhettek vissza a csoportba. A termékenyítést követő 45 nappal később vemhességi

ultrahangot végeztünk, statisztikai elemzésünkben azonban csak a megszületett báránnyal számoltunk.

2.2.3. A szezon, a meteorológiai paraméterek és a holdfázis

A beavatkozásokat október, november, március és április hónapokban végeztük el, ezért vizsgáltuk a szezon hatását a termékenyítés sikerességére. A 250 anyajuhból 55 darabot az őszi, 195 darabot a tavaszi hónapokban termékenyítettünk. A meteorológiai paramétereket a termékenyítés előtti és utáni időszakban elemeztük. A termékenyítést megelőző 3. naptól a termékenyítés napjáig volt az első megfigyelési időszakunk (4 nap), amely fontos a domináns tüsző(k) fejlődése és az ovuláció szempontjából. A második megfigyelési periódusban a termékenyítés utáni első naptól a 40. napig (40 nap) gyűjtöttük az adatokat, amely a korai embriófejlődés időszaka. A meteorológiai paraméterek a Debreceni Egyetem MÉK Precíziós Növénytermesztési Kutatás-Fejlesztési Szolgáltató Központ adatbázisából származnak. Mindig a juhászathoz legközelebb eső meteorológiai állomás mérési adatait használtuk fel a statisztikai vizsgálatokhoz (Hajdúszoboszló - Nádudvar, Polgár – Folyás, Kunhegyes – Kunmadaras).

A vizsgált paraméterek:

- napi minimum hőmérséklet
- maximum hőmérséklet
- napi átlaghőmérséklet
- napi hőingás
- csapadék mennyiség
- relatív páratartalom.

Az egymást követő napok időjárási paramétereiben csekély eltérés mutatkozott a vizsgált időszakban. Ezért a minimum-, a maximum- és az átlaghőmérsékletnek, valamint a csapadék mennyiségének és a relatív páratartalomnak a szórásnégyzetét (varianciáját) számoltuk ki a termékenyítések előtti és utáni időszakban. Elemeztük az átlagos hőingást is mindkét vizsgált periódusban.

A holdfázis tanulmányozása során összegyűjtöttük, hogy a termékenyítés napja melyik fázisba esett:

- újhold
- növény hold (első és második holdfázis)
- telihold
- fogyó hold (harmadik és negyedik holdfázis).

Feljegyeztük a telihold és a termékenyítés között eltelt napok számát is.

2.2.4. Telepi menedzsment, anyai hatások, koshatás

Az anyajuhok születési dátumából kiszámoltuk a termékenyítés napján aktuális életkorukat (nap). A termékenyítések során összesen 16 különböző kos fagyasztott spermáját használtuk fel és vizsgáltuk a koshatást is. Az anyai hatások közül feljegyeztük, hogy mely anyák születtek már mesterséges termékenyítésből azok közül, amelyek bekerültek a programba. Ezen kívül vizsgáltuk annak hatását, hogy az anya volt-e már korábban vemhes, a bárány leválasztás után hány nappal történt a termékenyítés, az adott beavatkozás hányadik mesterséges termékenyítése az anyának, valamint amennyiben volt megszületett báránya az természetes fedeztetéssel vagy mesterséges termékenyítést követően fogant. Az adatokat a juhtenyésztő telepek saját telepírányítási rendszereiből gyűjtöttük ki és rendszereztük Excel táblázatban.

2.3. Statisztikai elemzés

A statisztikai vizsgálatainkat az R statisztikai (R version 4.4.1 -- "Race for Your Life") végeztük. A fekvési viselkedésváltozáshoz párosított t-próbát alkalmaztuk. A kortizol mérés eredményeinek kiértékeléséhez ANOVA-t használtunk (STAFFORD és mtsai, 2006). A meteorológiai paraméterek elemzéséhez, az anyai és koshatások értékeléséhez probit analízist, a szezon vizsgálatához Khi-négyzet tesztet, a holdfázisok értékeléséhez ANOVA modellt (ALBERGHINA és mtsai, 2021) alkalmaztunk.

3. EREDMÉNYEK ÉS AZOK ÉRTÉKELÉSE

3.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során

3.1.1. Nyál kortizol koncentráció mérés

A statisztikai elemzésben csak azoknak az állatoknak a kortizol eredményei szerepelnek, amelyektől legalább 1,5 ml nyálmintát gyűjtöttünk. Összesen a K csoportból 15, az L csoportból 15, az SL csoportból 7 állat adatait használtuk fel. Az egyes mintavételi időpontokban az átlagos kortizol koncentrációt összesítve és csoportonként lebontva az 1. táblázat mutatja be (1. táblázat).

1. táblázat: Átlagos nyál kortizol koncentrációk (ng/ml)

| Mintavétel időpontja | Összes csoport átlaga | K csoport | L csoport | SL csoport |
|----------------------|------------------------|------------|------------|------------|
| 1 | 3,61±1,73 ^a | 3,82±1,46 | 3,74±2,11 | 2,83±1,38 |
| 2 | 4,86±2,43 ^b | 4,78±2,88 | 5,28±2,06* | 4,13±2,19 |
| 3 | 5,65±2,22 ^b | 5,53±1,99* | 5,90±2,20* | 5,35±3,01 |
| 4 | 3,60±2,07 ^a | 3,39±1,64 | 3,99±2,83 | 3,26±0,60 |

Megjegyzés:

Mintavételek időpontja:

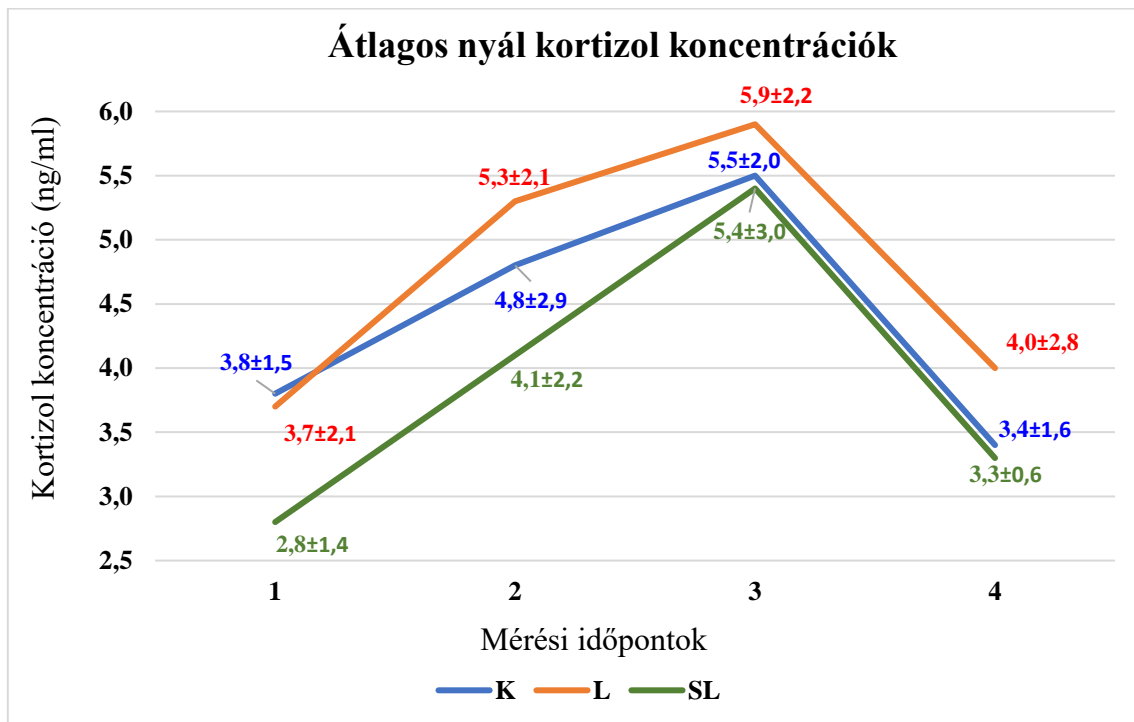
1. beavatkozás napján reggel
2. 1 órával a beavatkozás után
3. 2 órával a beavatkozás után
4. 24 órával a beavatkozás után

a,b: a különböző betűk szignifikáns különbséget jelentenek ($p < 0,05$)

*szignifikáns különbség az első mintavételhez képest az adott oszlopban

A csoportok között az egyes mérési időpontokban nem találtunk szignifikáns különbséget. Az átlagos nyál kortizol koncentráció emelkedése és csökkenése hasonló görbét írt le mind a három csoportban (1. ábra). A kortizol koncentráció a beavatkozás után 1 és 2 órával volt a legmagasabb mindegyik csoportban, majd 24 órával a beavatkozás után megközelítőleg visszatért a kiindulási, első mérési időpontra jellemző szintre. A mérési időpontok között szignifikáns különbséget találtunk. A csoportok átlagát tekintve a második és harmadik mérési időpontban, tehát 1 és 2 órával a beavatkozás után szignifikánsan ($p < 0,05$) magasabb volt a

kortizol szint, mint az első és a negyedik mintavétel idejében. Minden egyes csoportot a saját első mérési időpontjához hasonlítva azt az eredményt kaptuk, hogy a K csoportban 2 órával a beavatkozás után, az L csoportban pedig 1 és 2 órával a beavatkozás után a kortizol koncentráció szignifikánsan magasabb volt. Az SL csoportban is megfigyelhető az a tendencia, hogy a 2. és 3. mérési időpontban emelkedett a kortizol koncentráció, azonban itt az 1. mintavételi időponthoz képest nem volt szignifikáns különbség.



1. ábra: Csoportonkénti átlagos nyál kortizol koncentráció (\pm SD) változása az egyes mérési időpontokban

Megjegyzés: K: kontroll csoport, L: laparoszkópos csoport, SL: fél-laparoszkópos csoport

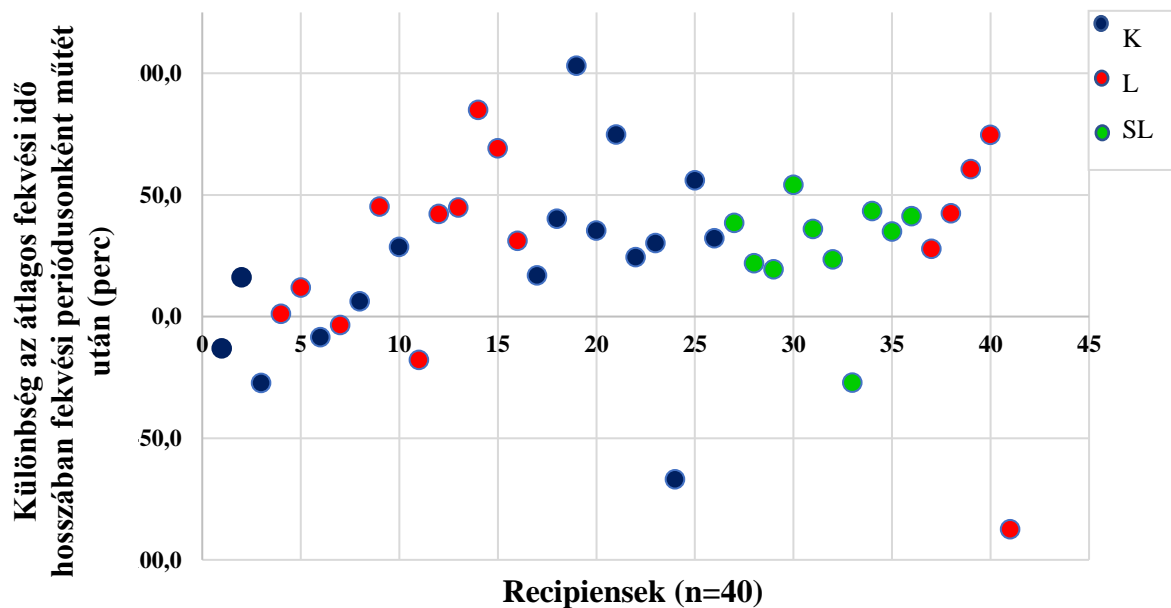
Juhok esetében a mindennapi rutin beavatkozások (lefogás, nyírás, fürdetés) is stresszel járnak. A stresszhatásra adott válasz (pl. kortizol szint emelkedés) azonban egyedenként eltérő lehet (KILGOUR és LANGEN, 1970; HARGREAVES és HUTSON, 1990). A szakirodalomban már leírták, hogy a laparoszkópos minimál invazív beavatkozás emelkedett kortizol szintet eredményez. Azonban a laparoszkópos MT nem okozott nagyobb stresszt az állatok számára, mint a lefogás és a laparoszkópos kocsiba helyezés műtét nélkül (MARTIN és mtsai, 1981; KHALID és mtsai, 1998). A saját nyál kortizol méréseink eredményei alapján szintén emelkedett kortizol szintet mértünk laparoszkópos és fél-laparoszkópos beavatkozások során. Azonban ez az emelkedés a kísérletünk eredményei alapján sem volt szignifikánsan magasabb, mint a kontroll csoportba tartozó egyedek eredményei.

3.1.2. Fekvéssel és állással töltött idő monitorozása

A beavatkozás előtti és utáni 24 órában mértük a teljes fekvéssel töltött időt, a minimum és maximum fekvési időt, a fekvési periódusok számát, az átlagos fekvési időt fekvési periódusonként. A teljes fekvési időt tekintve nem volt szignifikáns különbség egyik csoportban sem a műtét előtti és utáni mérési időszakokban (K: $p=0,69$; L: $p=0,51$; SL: $p=0,48$). A teljes fekvési idő közel azonos mértékben emelkedett a műtét után (K: 10%; L: 12%; SL: 12%). A minimum fekvési idő az L csoportban szignifikánsan emelkedett a műtét után ($p=0,0006241$). A kontroll csoportban nem találtunk szoros összefüggést, de szintén növekvő tendencia mutatkozott ($p=0,09618$). Az SL csoport esetében pedig nem volt szignifikáns különbség ($p=0,567$). A maximum fekvési idő hosszabb lett a műtét utáni 24 órában az L csoportban ($p=0,01571$) és az SL csoportban ($p=0,0001477$), de a K csoportban nem találtunk szignifikáns különbséget ($p=0,3832$). A fekvési periódusok maximum hossza az SL csoportban nőtt a legjelentősebben a másik két csoporthoz képest (K: 30%; L: 45%; SL: 115%). A három csoport adatait értékelve megállapítottuk, hogy az átlagos fekvési idő hossza fekvési periódusonként szignifikánsan emelkedett minden esetben a beavatkozás utáni mérési időszakban (K: $p=0,043$; L: $p=0,00059$; SL: $p=0,0029$). Ez az emelkedés a kísérleti csoportokban volt hangsúlyosabb (K: 54%; L: 110%; SL: 110%). A 2. ábrán különböző színekkel jelöltük az egyes csoportokba tartozó egyedeket (összesen 41 anyajuh). A pontok elhelyezkedése mutatja meg egyedekre lebontva a műtét előtti és utáni átlagos fekvési periódusok hosszának különbségét. A kísérletben szereplő recipienseket vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy 41 egyedből 33 esetében láttunk növekedést az átlagos fekvési periódusok hosszában a műtét előtti átlagához képest (2. ábra). Ezzel párhuzamosan változott a fekvési periódusok száma (lefevés-felállás száma), amely szignifikánsan csökkent minden csoportban (K: $p=0,032$; L: $p=0,022$; SL: $p=0,03$). A fekvési periódus számok csökkenésének mértékében nem volt számottevő különbség a csoportok között (K: 31%; L: 39%; SL: 40%).

Statisztikai számításaink során elemeztük azt is, hogy az anesztetikus szerek milyen mértékben befolyásolják a fekvési viselkedés változását. A műtét utáni 24 órás periódust így nem a beavatkozás befejezésétől indítottuk, hanem a beavatkozás utáni 1 óra adatait nem vettük figyelembe a számítások során. A fekvési periódusok átlagos hosszában és a fekvési periódusok számában nem történt jelentős változás. A fekvési periódusok átlagos hossza mindegyik csoportban szignifikánsan emelkedett, a fekvési periódusok száma ezzel párhuzamosan csökkent ($p<0,05$). A fekvési periódusok átlagos hosszának növekedése a kísérleti csoportokban számottevő volt a kontroll csoporthoz képest (K: 57%; L: 88%; SL: 103%). A fekvési periódusok számának csökkenése a kísérleti csoportokban, ezen belül is a fél-

laparoszkópos technikánál volt jelentősebb (K: 34%; L: 43%; SL: 55%). A teljes fekvési idő változása nem volt szignifikáns a műtét előtti és utáni periódust összehasonlítva. Tendencia azonban megfigyelhető, mert ha figyelmen kívül hagyjuk az anesztetikus szerek hatását, akkor a K csoportban változatlanul nőtt (3%-kal) a teljes fekvési idő, az L és az SL csoportban azonban csökkent (L: 2%; SL: 19%) a műtét utáni időszakban. A fekvési periódus maximum hossza változatlanul (nem szignifikánsan) nőtt mind a három csoportban a műtét utáni 24 órában. Ez a növekedés kifejezett volt a fél laparoszkópos módszer alkalmazása során (K: 25%; L: 28%; SL: 91%).



2. ábra: Az átlagos fekvési periódusok hosszának változása a műtét előtti átlaghoz képest

Fájdalommal járó beavatkozás során (szarvtalanítás) azt tapasztalták, hogy az átlagos fekvési idő nőtt a beavatkozás utáni 24 órában. Emellett a fekvési periódusok száma csökkent, de nem volt különbség a kezelések között a fekvési periódusok hosszában (HEMPSTEAD és mtsai, 2018). Kecskében a kasztrálást követően, amely állatokban nem használtak transzdermális fájdalomcsillapítást, a beavatkozást követően több időt töltöttek fekvéssel, valamint növekedett a fekvési periódusok hossza is, miközben csökkent a fekvési periódusok száma (LEE és mtsai, 2020). Saját eredményeink hasonló változást mutattak a fekvési viselkedés elemzése során, mint a szakirodalomban a szarvtalanítást vagy a kasztrálást követően. A stressz hatására a beavatkozások utáni 24 órában mind a három csoportban több időt töltöttek fekvéssel az állatok, megnőtt a fekvési periódusok hossza, de ezzel párhuzamosan kevesebb lett a lefekvés-felállás pozíciók változtatása.

3.2. A mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők vizsgálata

3.2.1. A szezon és a meteorológiai paraméterek

Összesen 250 darab ile de france fajtájú anyajuh laparoszkópos mesterséges termékenyítésének eredményeit dolgoztuk fel. Őszi hónapokban (október, november) 55 termékenyítést végeztünk. Az 55 termékenyített anyajuhból mindösszesen 11 anya lett vemhes, amely 20,0% vemhességi százalékot jelent. Szezonon kívül, a tavaszi hónapokban (március, április) 195 anyajuh laparoszkópos termékenyítése során 100 anyának született béránya, a vemhességi százalék 51,3% volt. A tavaszi termékenyítések esetében tehát szignifikánsan magasabb volt a vemhességi százalék ($p < 0,01$).

Az őszi termékenyítések gyenge vemhességi mutatói miatt a tavaszi hónapokban végzett inszeminációk eredményeit figyelembe véve vizsgáltuk a meteorológiai paraméterek befolyásoló hatását a vemhesség valószínűségére. Elkészítettük a meteorológiai paraméterek változóinak korrelációs mátrixát, amely adatok azt mutatják meg, hogy mennyire szoros az időjárási tényezők együttes változása.

A termékenyítés előtti időszakban **közepes mértékű (0,51-0,75)** az együtt változása:

- a minimum hőmérsékletnek (T_{min1}) és az átlag hőmérsékletnek ($T_{át1}$) (0,69),
- a relatív páratartalomnak ($Rh1$) és az átlag hőmérsékletnek (0,69),
- a csapadékmennyiségnek ($Prec1$) és az átlagos hőmérsékletnek (0,51),
- a csapadék mennyiségnek és a relatív páratartalomnak (0,52).

A termékenyítés utáni időszakban szintén közepesen szoros összefüggést mutat a minimum (T_{min2}) és a maximum hőmérséklet (T_{max2}) (0,74).

A termékenyítés előtti időszakban **nagyon szorosan (0,76-0,99)** együtt változik:

- a maximum hőmérséklet (T_{max1}) és a $T_{át1}$ (0,88),
- az $Rh1$ és a T_{min1} (0,87).

A termékenyítés utáni időszakban ugyancsak nagyon szoros összefüggést mutat:

- a T_{max2} és az átlagos hőmérséklet ($T_{át2}$) (0,96),
- a T_{min2} és a $T_{át2}$ (0,87).

A termékenyítés előtti négy napban az a tendencia figyelhető meg, hogy a T_{min1} varianciájában a szélsőséges változás negatívan befolyásolja a vemhesülés valószínűségét ($p=0,0692$). A termékenyítés utáni 40 napban szignifikáns összefüggéseket találtunk. A T_{max2} és a T_{min2} esetében is a hőmérsékleti variancia növekedése csökkenti a termékenyülés valószínűségét (T_{max}: $p=0,0472$; T_{min}: $p=0,033$). Statisztikailag igazolható összefüggést mutat továbbá a T_{át12} is, azonban ebben az esetben az átlag hőmérséklet varianciájának növekedése fokozza a vemhesülés valószínűségét ($p=0,0191$).

A csapadékmennyiség, a relatív páratartalom és a napi hőingás nem befolyásolta a vemhesítés eredményességét sem a termékenyítés előtti, sem az az utáni időszakban.

De és mtsai (2016) szezonon belül és kívül végzett MT során azt tapasztalták, hogy félszáraz trópusi területen malpura és kheri fajtájú anyajuhokban nem volt különbség az ivarzás szinkronizációra adott válaszreakcióban. Azonban szezonon belül magasabb volt a bárányozási arány (66,67%), mint szezonon kívül (57,57%) (DE és mtsai, 2016). A spanyol rasa aragonesa fajtában a tavaszi hónapokban (márciustól májusig) friss spermával végzett termékenyítés során 45% volt a vemhességi százalék, míg saját eredményünk alapján ile de france fajtában fagyasztott sperma használatkor ez az érték 51,3% (ABECIA és mtsai 2016a). Rasa aragonesa és churra fajtában a termékenyítés sikerességét befolyásoló tényezők vizsgálata során azt az eredményt kapták, hogy alacsonyabb vemhességi százalék várható a tavaszi-nyári (szezonon kívüli) hónapokban (ANEL és mtsai, 2005; PALACÍN és mtsai, 2012). Hill és mtsai (1998) nem találtak különbséget az ausztrál merinó vemhességi rátájában a tavaszi és a téli termékenyítések között (HILL és mtsai, 1998). Ile de france fajtában magyarországi, mérsékeltövi nedves kontinentális éghajlaton a tavaszi laparoszkópos termékenyítések bizonyultak sikeresebbnek fagyasztott sperma felhasználása esetén.

A szakirodalmi eredmények alapján a hőmérséklet, a csapadék mennyiség, a páratartalom és a hőmérséklet-páratartalom index paraméterek közül leginkább a hőmérsékletnek van befolyásoló hatása az MT sikerességére. Az egyes paraméterek változásának hatása azonban eltérő lehet a különböző évszakokban (ABECIA és mtsai, 2016a; PALACIOS és ABECIA, 2014; SANTOLARIA és mtsai, 2014). A kutatási eredményeink alapján a tavaszi termékenyítések során a hőmérsékleti értékek szélsőséges változása befolyásolja az MT sikerességét. A termékenyítés utáni 40 napban a T_{min} és a T_{max} értékek varianciájának emelkedése csökkent termékenyülési valószínűséget eredményezett.

3.2.2. Holdfázis

Vizsgáltuk a holdfázisok hatását a vemhesség valószínűségére, az ikervemhességre és a születendő bárányok nemére. A növe hold (1. és 2. negyed), a fogyó hold (3. és 4. negyed), valamint a telihold sem volt szignifikáns hatással a termékenyülésre. Emellett a teliholdtól számított napok száma sem befolyásolta az MT eredményességét. A 250 elvégzett termékenyítésből született bárányok nemének eloszlása nem a feltételezett 50-50% volt, hanem a megszületett bárányok között alacsonyabb volt a kosok száma (összesen: 46,97%, tavasszal: 43,33%), azonban a vizsgálatba vont holdfázis tényezők szignifikáns hatását nem sikerült kimutatnunk.

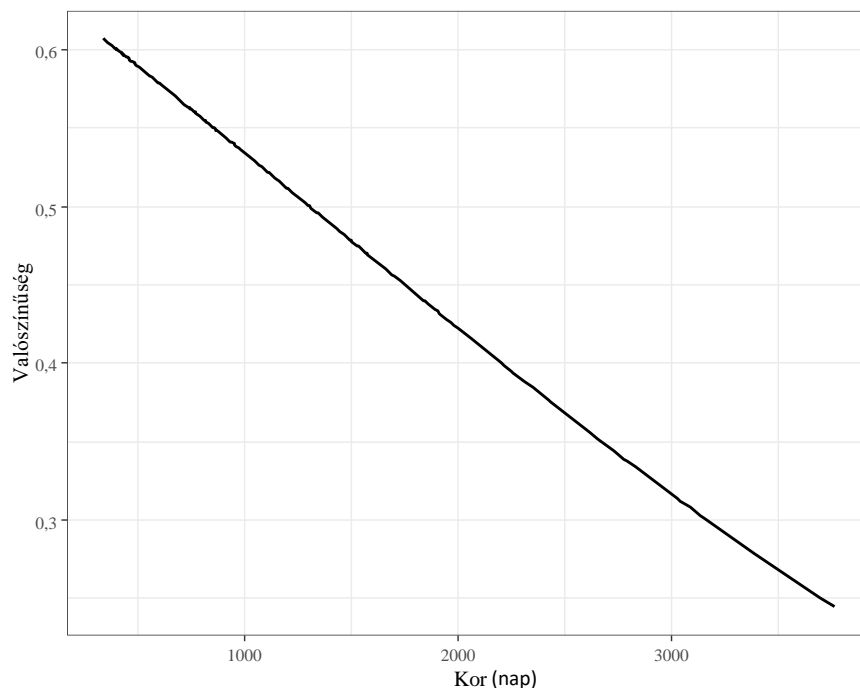
A fent leírt paraméterek közül az évszak befolyásolta leginkább az ikervemhességek arányát. A tavaszi termékenyítések során szignifikánsan magasabb volt az ikervemhességek száma (29,23%) az őszi termékenyítésekhez képest (12,73%) ($p = 0,00613$). A holdfázisok közül 10%-os szignifikancia mellett elmondható, hogy a fogyó hold időszakában kevesebb (21,90%) volt az ikervemhességek száma a növe holdfázishoz képest (28,47%) ($p = 0,0957$).

A szakirodalomban leírtakkal szemben (SUBRAMANIAM és mtsai, 1991; PALACIOS és ABECIA, 2014) saját eredményeink alapján nem volt a holdfázisnak hatása a termékenyítés sikerességére, de amennyiben a termékenyítés a növe hold időszakában történt, úgy több ikerbárány született, mint a fogyó hold idejében végzett inszeminációk során. A születendő bárányok nemét az évszak mellett a holdfázis sem befolyásolta. A szakirodalomban csak kutyák esetében mutatták ki a holdfázis hatását az utódok nemére, azonban juhok és lovak esetében nem volt összefüggés (AGUILAR és mtsai, 2015; ABECIA és mtsai, 2016b; ALBERGHINA és mtsai, 2021).

Az évszak nem csak a termékenyítés eredményességére volt hatással, hanem az ikervemhességek számára is. A tavaszi hónapokban végzett MT-t követően több ikerbárány született az őszi termékenyítésekkel összehasonlítva. Zapasnikiené (2002) által leírt eredmények alapján a téli bárányozási időszakban (nyár végi termékenyítés) lehet magasabb alomnagyságra számítani, mint a tavaszi bárányozások során (ZAPASNIKIENÉ, 2002). Ezzel szemben Dimsoski és mtsai (1999) szerint a tavaszi ellések esetében nagyobb volt az alomnagyság, mint a téli és a nyári bárányozások időszakában (DIMSOSKI és mtsai, 1999). A saját eredményeink alapján a megszületett bárányok között alacsonyabb volt a kos bárányok száma mind a két évszakban. A szakirodalomban leírtakkal ellentétben (ABECIA és mtsai, 2016b) nem találtunk szignifikáns különbséget az évszakok között a nemek arányában.

3.2.3. Anya életkora, koshatás

A tavasszal termékenyített anyák életkora 328 nap és 3760 nap közé esett, átlagos életkor 1162 nap (kb. 3,2 év) volt. Legnagyobb számban 300-600 napos kor között volt az anyajuhok életkora. A 195 anya életkorát figyelembe véve szignifikáns összefüggést találtunk a termékenyítés sikerességével. Az anyák életkora és a termékenyítés sikeressége között negatív kapcsolat áll fenn, tehát a kor előrehaladtával csökken a vemhesség valószínűsége ($p=0,0227$) (3. ábra).

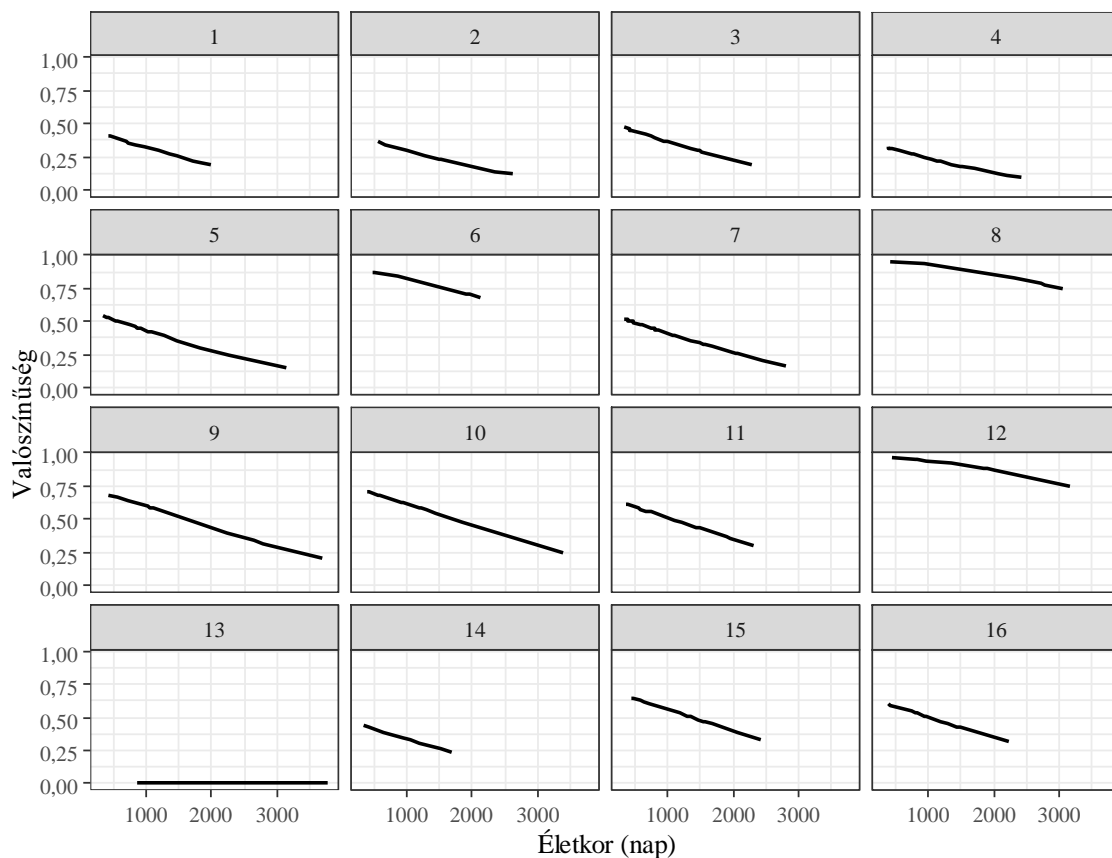


3. ábra: Az anyák életkora és a termékenyülés valószínűsége közötti összefüggés

Az MT során 16 kosról származó fagyasztott spermát használtunk fel. Az elemzésünk során a kosokat 1-16 számmal jelöltük. Három kos spermájának használatakor szignifikánsan magasabb volt a vemhességi százalék (6-os kos: $p=0,01948$; 9-es kos: $p=0,00795$; 12-es kos: $p=0,00313$). Egy kos esetében azonban a hét termékenyítésből egy anyajuh sem lett vemhes (13-as számú kos). Az ábrán kisonként is feltüntettük az anyák életkora és a vemhességek valószínűségei közötti összefüggést (4. ábra). 15 kos esetében (a 13-as kosnál nulla volt a sikeres termékenyítések száma) az anyák életkorának növekedésével folyamatosan csökkent a vemhesség valószínűsége. Például a 9 és 10 számú kosok esetében a termékenyített anyák kora tág intervallum között mozgott, így jól látható, hogy az 1000 nap alatti anyáknál jelentősen magasabb eséllyel várható sikeres termékenyítés (60% feletti valószínűség). A 2000 és 3000

napos kor közötti anyák esetében azonban folyamatosan csökken a vemhesülés esélye (3000 nap felett 30% alá).

A kapott eredményeink egyeznek Anel és mtsai (2005) által leírtakkal, akik churra fajtában laparoszkópos és hüvelyi termékenyítés során is hasonló következtetést vontak le (14. melléklet) (ANEL és mtsai, 2005). Laparoszkópos intrauterin termékenyítés során szezonon kívül szintén hasonló eredményt kaptak Fukui és mtsai (2010), akik azt tapasztalták, hogy 3 éves kor alatti anyáknál szignifikánsan magasabb volt a vemhességi százalék és a bárányozási arány, mint a 3 évnél idősebb anyajuhokban (FUKUI és mtsai, 2010). Emellett az alomnagyság a 3-5 éves kor között a legnagyobb, az embrió túlélés valószínűsége pedig 3 éves korban a legmagasabb (SHORTEN és mtsai, 2013).



4. ábra: A termékenyülés valószínűsége kotonként az anyajuhok életkorának összefüggésében

3.2.4. A vizsgálatban részt vevő gazdaságok szaporodásbiológiai menedzsmentje

A telepi menedzsment vizsgálat során a statisztikai elemzés megkönnyítése érdekében külön választottuk azokat az anyákat, amelyek korábban már voltak vemhesek. Ebbe a csoportba 140 anyajuh tartozott, a vemhességi arányuk 48,57% volt. A vizsgált változók közül:

- az anya mesterséges termékenyítésből született-e,
- az MT előtt a bárány leválasztásának időpontja,
- a korábbi mesterséges termékenyítések száma,
- a mesterséges termékenyítésből született bárányok száma

egyik sem volt szignifikáns hatással a mesterséges termékenyítés sikerességére.

A jerke bárányok csoportjába 55 juh tartozott (vemhességi arány: 58,18%), ahol a változók közül csak azt vizsgáltuk, hogy az anya mesterséges termékenyítésből született-e, illetve hányadik MT-je az anyának. A vizsgált változók közül egyik sem volt hatással a vemhességre. A szakirodalomban több szaporodásbiológiai menedzsmenthez és anyai hatáshoz köthető külső faktort is vizsgáltak, amely hatással volt a fertilitásra. Az egyik befolyásoló tényező a bárányok leválasztásának időpontja az MT-hez képest. Anel és mtsai (2005) eredményei alapján a 10 hétnél kevesebb választási idő és a korábbi ellések száma csökkenti a fertilitást. Tehát a legmagasabb termékenyülési valószínűség a még korábban nem ellett jerkéknél várható (ANEL és mtsai, 2005). Palacín és mtsai (2012) vizsgálati azt mutatták, hogy 240 napnál hosszabb ellés-MT intervallum, illetve ötnél több korábbi vemhesség csökkenti a fertilitást (PALACÍN és mtsai, 2012). Kecskék esetében legalább 150 nap választási idő javasolnak az MT előtt (ARRÉBOLA és mtsai, 2016). Statisztikai elemzésünk a szakirodalommal szemben nem mutatott ki összefüggést a vizsgált faktorok fertilitásra kifejtett hatásáról.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. A laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embrióbeültetés alkalmával végzett stresszvizsgálat során megállapítottam, hogy az általunk használt anesztéziai protokollok mellett **a nyál kortizol szint** mind a három csoportban emelkedett a beavatkozások hatására (műtét előtti mintavétel: kontroll=3,82 ng/ml, laparoszkópos=3,74 ng/ml, fél-laparoszkópos=2,83 ng/ml; mintavétel a beavatkozás után 2 órával: kontroll=5,53 ng/ml, laparoszkópos=5,90 ng/ml, fél-laparoszkópos=5,35 ng/ml), azonban a csoportok között nem volt szignifikáns különbség ($p < 0,05$) az egyes mérési időpontokban. A két beavatkozás tehát nem okozott nagyobb stresszt az anyajuhok számára, mint a kontroll csoportban végzett műtéti előkészítés és anesztézia önmagában.

2. A laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embrióbeültetés alkalmával végzett viselkedésvizsgálat során megállapítottam, hogy a beavatkozás után mind a három csoportban szignifikánsan csökkent a **fekvési periódusok száma** (kontroll: 31%-kal, laparoszkópos: 39%-kal, fél-laparoszkópos: 40%-kal csökkent), ezzel párhuzamosan nőtt a **fekvési periódusok átlagos hossza** (kontroll: 54%-kal, laparoszkópos: 110%-kal, fél-laparoszkópos: 110%-kal nőtt). Vizsgálataink kimutatták, hogy sem az anesztézia, sem a műtéti technika nem befolyásolta a fekvési periódusok számának és a fekvési periódusok átlagos hosszának változását.

3. A laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embriótranszfer során rögzített fekvési vizsgálat elemzésekor (az anesztetikus szerek hatását levonva) megállapítottam, hogy a fél-laparoszkópos technika esetében jelentős változások detektálhatóak a műtét után a **teljes fekvési idő** csökkenésekor (laparoszkópos: 2%, fél-laparoszkópos: 19%), a **fekvési periódusok maximum hosszának** növekedésekor (laparoszkópos: 28%, fél-laparoszkópos: 91%), a **fekvési periódusok átlagos hosszának** növekedésekor (laparoszkópos: 88%, fél-laparoszkópos: 103%) és a fekvési periódusok számának csökkenésekor (laparoszkópos: 43%, fél-laparoszkópos: 55%). A fél-laparoszkópos technika nagyobb mértékben változtatta meg az állatok viselkedési reakcióját a műtét okozta stresszhatásra, mint a laparoszkópos beavatkozás.

4. Az ile de france juhajtában a magyarországi, mérsékeltövi nedves kontinentális éghajlaton az ivarzás szinkronizáció és a fagyasztott spermás laparoszkópos termékenyítés szezonon kívül, **tavasszal eredményesebb** (vemhesülési arány: 51,3%), mint az őszi hónapokban (vemhesülési arány: 20,0%).

5. Ile de france juhokban végzett fagyasztott spermás laparoszkópos mesterséges termékenyítés eredményeit tekintve megállapítottuk, hogy a tavaszi termékenyítéseket követően 29,23% volt az **ikervemhességek aránya**, míg ez az őszi termékenyítések esetében 12,73% ($p=0,00613$). Az évszak hatása mellett $p=0,0957$ szignifikancia szinten kimutattuk, hogy a fogyó hold időszakában kevesebb (21,90%) volt az ikervemhességek száma a növő holdfázishoz képest (28,47%).

6. Magyarországi, mérsékeltövi nedves kontinentális éghajlaton tavasszal végzett laparoszkópos mesterséges termékenyítés esetében az időjárási paraméterek közül a beavatkozás előtti 4 napban ($p=0,0692$) és az inszeminációt követő 40 napban ($p=0,033$) a napi minimum hőmérséklet, az termékenyítést követő 40 napban ($p=0,0472$) a napi maximum hőmérséklet **szélsőséges változása negatívan befolyásolja** a termékenyítés sikerességét ile de france juhajtában.

5. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK

1. Az állattenyésztés gazdasági szempontjai mellett a szaporodásbiológiában az a célunk, hogy a fejlődő technológiák alkalmazása során szem előtt tartsuk az állatjóllétet is. Az új technikák használatakor fontos felmérnünk, hogy azok milyen mértékben befolyásolják az állatok mindennapjait, az állatjóllétet, hiszen az állatok számára a lehető legkevesebb fájdalommal, stresszel és szorongással járó beavatkozásokat kell előtérbe helyeznünk (CLARK és HARDING, 2006). Az Európai Unióban egyre nagyobb hangsúlyt kapnak azok az intervenciók, amelyek nem vagy minimál invazívak, kevesebb a gyógyszerfelhasználás és minél kevésbé befolyásolják negatívan az állatjóllétet. Eredményeink alapján nem volt különbség az okozott stressz mértékében a laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embrióbeültetési technika között. Azonban a tendenciákat figyelembe véve a fél-laparoszkópos módszer hatása kifejezettebb volt a viselkedésváltozásokra. A laparoszkópos embriótranszfer gyorsan elvégezhető, kis műtéti sebet eredményez, kevés manipuláció történik a hasüregben így az adhéziók kockázata csökken ezért az állatorvosok számára ezt a minimál invazív technikát ajánljuk. Az állatjólléti szempontokat is figyelembe véve a tenyésztőknek és állatorvosoknak a MOET programokban és a kísérleti kutatásokban is ezt a módszert alkalmasnak találjuk az embriótranszferhez. A beavatkozás során fontos azonban a megfelelő anesztézia és fájdalomcsillapítás, hogy csökkentsük az állatok számára a fájdalmat és a stresszt.

2. Az ile de france hazánkban kedvelt hús típusú juh fajta, ezért ebben a fajtában végeztünk fagyasztott spermás laparoszkópos mesterséges termékenyítéseket és az eredmények alapján vizsgáltuk, hogy mely tényezők vannak befolyással elsősorban a termékenyítés sikerességére, valamint az ikervemhességre és a bárányok nemére. A vizsgálatainkkal elsősorban az ile de france tenyésztőknek nyújtunk segítséget, milyen tényezők figyelembevételével maximalizálhatják az MT sikerességét. A kapott eredményeink alapján a fagyasztott spermás laparoszkópos mesterséges termékenyítést érdemes a tavaszi hónapokra időzíteni ebben a fajtában.

3. Az anyajuhok kiválasztásánál elsősorban a fiatalabb, 3 év alatti állatokat javasolt bevonnunk a programba, mert az életkor előrehaladtával átlagosan 1000 naponként 10%-kal romlik az esélye a vemhesülésnek az MT esetében.

4. A nagyobb bárányszaporulat elérése érdekében célszerű a tavaszi termékenyítést választani. Ebben az évszakban így lehetőség van felkészülni a nagyobb számú ikervemhességre és a tartási, takarmányozási technológiát eszerint módosítani.

5. A szélsőséges hőmérsékletingadozások időszakában végzett termékenyítést kerülni kell annak érdekében, hogy ne csökkenjen a vemhességi százalék.

Kutatásunkkal és tapasztalatainkkal szeretnénk más juh fajta tenyésztők körében is elterjedtebbé tenni a laparoszkópos mesterséges termékenyítést, a körülmények figyelembevételével növelni annak sikerességét és felgyorsítani a genetikai előrehaladást.

6. IRODALOMJEGYZÉK

1. ABECIA, J. A., ARRÉBOLA, F., MACÍAS, A., LAVIÑA, A., GONZÁLEZ-CASQUET, O., BENÍTEZ, F., PALACIOS, C. (2016a): Temperature and rainfall are related to fertility rate after spring artificial insemination in small ruminants. *International Journal of Biometeorology*. 60. 10. 1603-1609.
2. ABECIA, J. A., ARRÉBOLA, F., PALACIOS, C. (2016b): Offspring sex ratio in sheep, cattle, goats and pigs: influence of season and lunar phase at conception. *Biological Rhythm Research*. 48. 3. 417-424.
3. ABECIA, J. A., MÁÑEZ, J., MACIAS, A., LAVIÑA, A., PALACIOS, C. (2017): Climate zone influences the effect of temperature on the day of artificial insemination on fertility in two Iberian sheep breeds. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 5. 4. 124-131.
4. AGUILAR, J. J., CUERVO-ARANGO, J., SANTA JULIANA, L. (2015): Lunar cycles at mating do not influence sex ratio at birth in horses. *Chronobiology International*. 32. 1. 43-47.
5. ALBERGHINA, D., GIOÉ, M., QUARTUCCIO, M., LIOTTA, L. (2021): The influence of lunar cycle at the time of conception on sex offspring distribution in dogs. *Chronobiology International*. 38. 11. 1517- 1521.
6. AMIRIDIS, G. S., CSEH S. (2012): Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 131. 152-161.
7. ANEL, L., KAABI, M., ABROUG, B., ALVAREZ, M., ANEL, E., BOIXO, J. C., FUENTE, L. F., PAZ, P. (2005): Factors influencing the success of vaginal and laparoscopic artificial insemination in churra ewes: a field assay. *Theriogenology*. 63. 4. 1235-1247.
8. ARRÉBOLA, F., SÁNCHEZ, M., LÓPEZ, M. D., RODRÍGUEZ, M., PARDOA, B., PALACIOS, C., ABECIA, J. A. (2016): Effects of weather and management factors on fertility after artificialinsemination in Florida goats: A ten-year study. *Small Ruminant Research*. 137. 47-52.
9. BONK, S., BURFEIND, O., SUTHAR, V. S., HEUWIESER, W. (2013): Technical note: Evaluation of data loggers for measuring lying behavior in dairy calves. *Journal of Dairy Science*. 96. 5. 3265-3271.
10. CLARK, J. A. M., HARDING, M. P. E. (2006): The welfare implications of animal breeding and breeding technologies in commercial agriculture. *Livestock Science*. 103. 3. 270-281.

11. CSERNUS V. (1982): Antibodies of high affinity and specificity for RIA determination of progesterone, testosterone, estradiol-17 β and cortisol. In: *Advances Steroid Anal. Szerk.: GÖRÖG S., Budapest, Akadémia Kiadó, 171-177.*
12. DE, K., KUMAR, D., BALAGANUR, K., GULYANI, R., NAQVI, S. M. K. (2016): Effect of breeding season on fertility of sheep following estrus synchronization and fixed-time artificial insemination under field conditions in semi-arid tropical region. *Biological Rhythm Research.* 47. 5. 787-795.
13. DIMSOSKI, P., TOSH, J. J., CLAY, J. C., IRVIN, K. M. (1999): Influence of management system on litter size, lamb growth, and carcass characteristics in sheep. *Journal of Animal Science.* 77. 1037-1043.
14. FUKUI, Y., KOHNO, H., OKABE, K., KATSUKI, S., YOSHIZAWA, M., TOGARI, T., WATANABE, H. (2010): Factors affecting the fertility of ewes after intrauterine insemination with frozen-thawed semen during the non-breeding season. *Journal of Reproduction and Development.* 56. 4. 460-466.
15. HARGREAVES, A. L., HUTSON, G. D. (1990): The stress response in sheep during routine handling procedures. *Applied Animal Behaviour Science.* 26. 1-2. 83-90.
16. HEMPSTEAD, M. N., WAAS, J. R., STEWART, M., CAVE, V. M., SUTHERLAND, M. A. (2018): Evaluation of alternatives to cauterly disbudding of dairy goat kids using behavioural measures of post-treatment pain, *Applied Animal Behaviour Science.* 206. 32-38.
17. HILL, J. R., THOMPSON, J. A., PERKINS, N. R. (1998): Factors affecting pregnancy rates following laparoscopic insemination of 28,447 Merino ewes under commercial conditions: A survey. *Theriogenology.* 49. 697-709
18. KHALID, M., HARESIGN, W., BRADLEY, D. G. (1998): Heart rate responses and plasma cortisol concentrations in ewes: comparison between cervical and laparoscopic intrauterine insemination and their associated handling procedures. *Animal Science.* 66. 2. 383-387.
19. KILGOUR, R., LANGEN, H. (1970): Stress in sheep resulting from management practices. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production.* 30. 65-76.
20. LEE, A., GRAVES, M., LEAR, A., COX, S., CALDWELL, M., KRAWCZEL, P. (2020): Goats given transdermal flunixin meglumine displayed less pain behavior after castration. *bioRxiv.*
21. MARTIN, G. B., OLDHAM, C. M., LINDSAY, D. R. (1981): Effect of stress due to laparoscopy on plasma cortisol levels, the preovulatory surge of LH, and ovulation in the ewe. *Theriogenology.* 16. 1. 39-44.

22. MUHAMMAD, M., STOKES, J. E., MANNING, L. (2022): Positive aspects of welfare in sheep: current debates and future opportunities. *Animals*. 12. 3265.
23. PALACÍN, I., YÁNIZ, J. L., FANTOVA, E., BLASCO, M. E., QUINTÍN-CASSORÁN, F. J., SEVILLA-MUR, E., SANTOLARIA, P. (2012): Factors affecting fertility after cervical insemination with cooled semen in meat sheep. *Animal Reproduction Science*. 132. 3-4. 139-144.
24. PALACIOS, C., ABECIA, J. A. (2014): Does lunar cycle affect lamb production after artificial insemination in sheep? *Biological Rhythm Research*. 45. 6. 869- 873.
25. SANTOLARIA, P., YÁNIZ, J., FANTOVA, E., VICENTE-FIEL, S., PALACÍN, I. (2014): Climate factors affecting fertility after cervical insemination during the first months of the breeding season in Rasa Aragonesa ewes. *International Journal of Biometeorology*. 58. 7. 1651-1655.
26. SHORTEN, P. R., O'CONNELL, A. R., DEMMERS, K. J., EDWARDS, S. J., CULLEN, N. G., JUENGEL, J. L. (2013): Effect of age, weight, and sire on embryo and fetal survival in sheep. *Journal of Animal Science*. 91. 10. 4641–4653
27. SPANNER, E. A., GRAAF, S. P., RICKARD, J. P. (2024): Factors affecting the success of laparoscopic artificial insemination in sheep. *Animal Reproduction Science*. 264. 107453.
28. STAFFORD, K. J., CHAMBERS, J. P., SYLVESTER, S. P., KENYON, P. R., MORRIS, S. T., LIZARRAGA, I., NICOLO, G. (2006): Stress caused by laparoscopy in sheep and its alleviation. *New Zealand Veterinary Journal*. 54. 3. 109-113.
29. SUBRAMANIAM, A., DEVARAJAN, K. P., VELAYUTHAM, N., MOHANA, M. (1991): Effect of lunar phases on variability of inseminations in cattle. *Australian Veterinary Journal* 68. 2. 71-72.
30. TEIXERIA, A., SILVA, S., RODRIGUES, S. (2019): Advances in sheep and goat meat products research. In: *Advances in Food and Nutrition Research*. Szerk. TOLDRÁ, F., Academic Press, UK, 305–370.
31. VASS N., BODÓ SZ., EGRSZEGI I., MONORI I., JÁVOR A., CSEH S., OLÁH J. (2017): Asszisztált reprodukciós technikák (art) alkalmazásában rejlő lehetőségek a magyarországi juhászat fejlesztésében. In: *A kiskérődző szektor jelene és jövője- A juh terméktanács 25 éve tükrében*. Szerk. KUKOVICS S. Juh- és Kecske Terméktanács és Szakmaközi Szervezet, Várpalota, 135-144.
32. ZAPASNIKIENĚ, B. (2002): The effect of age of ewes and lambing season on litter size and weight of lambs. *Veterinarija Ir Zootechnika*. 19. 41. 112-115.

7. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN



**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/1/2026.PL
Tárgy: PhD Publikációs Lista

Jelölt: Bagi Melinda
Doktori Iskola: Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
MTMT azonosító: 10076801

A PhD értekezés alapjául szolgáló közlemények

Magyar nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

1. Bagi, M., Cseh, S., Vass, N.: A laparoszkópos és transzcervikális termékenyítés alkalmazásának lehetőségei a juhtenyésztésben.
Magy. Allatorv. Lapja. 145 (2), 103-112, 2023. ISSN: 0025-004X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.56385/magyallorv.2023.02.103-112>
IF: 0.3

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

2. Bagi, M., Huzsvai, L., Dobos, A., Rácz, C., Kútvölgyi, G., Vass, N.: Factors influencing the success of laparoscopic artificial insemination in Île-de-France sheep breed.
Acta Vet. Hung. "Accepted by Publisher", 2026. ISSN: 0236-6290.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2025.01217>
IF: 0.8 (2024)

Idegen nyelvű tudományos közlemények külföldi folyóiratban (2)

3. Bagi, M., Jurkovich, V., Vass, N.: Importance of animal welfare in sheep reproductive technologies.
J. Cent. Eur. Agric. 26 (4), 835-844, 2025. ISSN: 1332-9049.
DOI: <http://dx.doi.org/10.5513/JCEA01/26.4.4934>
IF: 0.7 (2024)
4. Bagi, M., Jurkovich, V., Kovács, L., Bodó, S., Bakony, M., Oláh, J., Huzsvai, L., Vass, N.: Short communication: salivary cortisol concentrations and lying behavior of ewes in response to semi-laparoscopic and laparoscopic embryo transfer.
J. Anim. Sci. 103, 1-6, 2025. ISSN: 0021-8812.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/jas/skaf381>
IF: 2.9 (2024)





Magyar nyelvű konferencia közlemények (2)

5. **Bagi, M., Huzsvai, L., Vass, N.:** A laparoszkópos mesterséges termékenyítés eredményességét, a bárányok nemét és az ovulációs rátát befolyásoló tényezők vizsgálata Ile de France juhajtában.
In: XXX. Ifjúsági Tudományos Fórum Keszthely Konferenciakötet. Szerk.: Bene Szabolcs, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Georgikon Campus, Keszthely, 9-13, 2024 . ISBN: 9786156338112
6. **Vass, N., Biskup, M., Bagi, M., Bácsi, E. I., Oláh, J., Klein, R., Jurkovich, V., Vass-Bognár, B., Kovács, L., Márton, A.:** Precíziós technológiák alkalmazásának lehetőségei és korlátai a kiskérődző ágazatban: Possibilities and limitations of applying precision technologies in the small ruminant sector.
In: A Magyar Buiatrikus Társaság 32. Nemzetközi Tudományos Kongresszusa: Szarvasmarha-, juh- és kecske egészségügy hatása a termelés gazdaságosságára ISBN: 9786158141345

Magyar nyelvű absztrakt kiadványok (4)

7. **Bagi, M., Vass, N., Huzsvai, L.:** Az ovulációs rátát és a bárányok nemét befolyásoló tényezők vizsgálata az Ile de France juh fajtában.
In: II. Magyar Agrártudományi Doktoranduszok Szimpóziuma 2024. Absztraktkötet /szerk. szerk. Hajdú Péter, Doktoranduszok Országos Szövetsége, Debrecen, 21-21, 2024. ISBN: 9786156457431
8. **Bagi, M., Vass, N.:** Az embriókinyerési és átültetési technikák fejlődése és a beavatkozások által kiváltott stressz vizsgálata a juhtenyésztésben.
In: I. Magyar Agrártudományi Doktoranduszok Szimpóziuma 2023. Absztraktkötet. Szerk.: Hajdú Péter, Doktoranduszok Országos Szövetsége, Debrecen, 11, 2023. ISBN: 9786156457189
9. **Bagi, M., Posta, J., Vass, N.:** Az időjárás paraméterek és az éghajlat hatása a laparoszkópos mesterséges termékenyítés eredményességére az Ile de France fajtában.
In: 27. Szaporodásbiológiai Találkozó Absztraktkötet, Szaporodásbiológiai Társaság, Budapest, 23-23, 2022.
10. **Bagi, M., Vass, N.:** A transzervicális termékenyítés alkalmazása juhokban.
In: 26. Szaporodásbiológiai Találkozó. Absztraktkötet /szerk. Vincze Boglárka, Szaporodásbiológiai Társaság, Budapest, 24, 2021.





További közlemények

Idegen nyelvű tudományos közlemények hazai folyóiratban (1)

11. Csepreghy, A., Vincze, B., Lénárt, L., Bagi, M., Rátky, J., Vass, N.: Controlling the success of superovulatory treatments in ewes: Comparing laparoscopy to transrectal and transvaginal ultrasonography.

Acta Vet. Hung. 73 (3), 186-191, 2025. ISSN: 0236-6290.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1556/004.2025.01116>

IF: 0.8 (2024)

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora: 5,5

A közlő folyóiratok összesített impakt faktora (az értekezés alapjául szolgáló közleményekre):
4,7

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

Debrecen, 2026.01.07.



8. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ART: asszisztált reprodukciós technikák

BCS: body condition score

eCG: equine chorionic gonadotropine

FSH: follikulus stimuláló hormon

GnRH: gonadotropine releasing hormone

i.m.: intramuscularis

K: kontroll csoport

L: laparoskopos csoport

MOET: multiple ovulation and embryo transfer

MT: mesterséges termékenyítés

Prec: csapadékmennyiség

RH: relatív páratartalom

SL: fél-laparoskopos csoport

Tátl: átlagos hőmérséklet

Tmax: maximum hőmérséklet

Tmin: minimum hőmérséklet