

DOKTORI (Ph.D.) ÉRTEKEZÉS

Dr. Bagi Melinda

Debrecen

2026

DEBRECENI EGYETEM
ÁLLATTENYÉSZTÉSI TUDOMÁNYOK DOKTORI ISKOLA

Doktori Iskola vezető:

Dr. Komlósi István
egyetemi tanár
az MTA doktora

Témavezető:

Dr. Pálfyné Dr. Vass Nóra
adjunktus

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

Készítette:

Dr. Bagi Melinda
doktorjelölt

Debrecen
2026

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

Értekezés a doktori (PhD) fokozat megszerzése érdekében
az állattenyésztési tudományok tudományágban

Írta: Dr. Bagi Melinda állatorvos doktor

Készült a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola
(Szaporodásbiológia programja) keretében

Témavezető: Dr. Pálfyné Dr. Vass Nóra

Az értekezés bírálói:

Név	Tudományos fokozat	Aláírás
.....		
.....		
.....		

A bírálóbizottság:

Név	Tudományos fokozat	Aláírás
elnök:		
tagok:		
.....		
.....		
.....		

Az értekezés védésének időpontja: 20...

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS	1
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1. Az asszisztált reprodukciós technikák jelentősége	4
2.2. Ivarzás szinkronizálás és indukció.....	5
2.3. Mesterséges termékenyítés	6
2.4. MOET program.....	10
2.4.1. Embriókinyerés	10
2.4.2. Embrióbeültetés	13
2.5. Stresszvizsgálatok juhokban	15
2.5.1. A stressz és a reprodukciós beavatkozások kapcsolata	15
2.5.2. A stressz monitorozásának lehetőségei a kiskérődzőkben	17
2.5.3. A precíziós eszközök használata kérődzőknél.....	20
2.5.4. Az asszisztált reprodukciós technikák által okozott stressz hatásának vizsgálata	24
2.6. A mesterséges termékenyítést befolyásoló tényezők.....	27
2.6.1. Meteorológiai paraméterek	27
2.6.2. Holdfázis	28
2.6.3. Szaporodásbiológiai menedzsment.....	29
2.7. Az ile de france juh fajta bemutatása.....	31
3. ANYAG ÉS MÓDSZER	33
3.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során.....	33
3.1.1. A kísérleti helyszínek és a kísérleti állatok bemutatása.....	33
3.1.2. Az állatok kísérleti elhelyezése és előkészítése	33
3.1.3. Az embriók kinyerésének és beültetésének folyamata	34
3.1.4. Nyál kortizol mintavétel és vizsgálat.....	39
3.1.5. A fekvéssel és az állással töltött idő monitorozása.....	41

3.2. A mesterséges termékenyítést befolyásoló tényezők vizsgálata ile de france juhajtában	42
3.2.1. A mesterséges termékenyítés helyszínei és az állatok bemutatása.....	42
3.2.2. Ivarzás szinkronizáció és laparoszkópos mesterséges termékenyítés.....	43
3.2.3. A szezon, a meteorológiai paraméterek és a holdfázis	45
3.2.4. Telepi menedzsment, anyai hatások, koshatás.....	47
3.3. Statisztikai elemzés.....	47
4. EREDMÉNYEK ÉS AZOK ÉRTÉKELÉSE	48
4.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során.....	48
4.1.1. A nyál kortizol koncentráció változásának eredményei	48
4.1.2. A fekvéssel és az állással töltött idő változása	50
4.2. A mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők vizsgálata	55
4.2.1. A szezon és a meteorológiai paraméterek.....	55
4.2.2. A holdfázisok hatása	58
4.2.3. Az anya életkora és a koshatás	60
4.2.4. A vizsgálatban részt vevő gazdaságok szaporodásbiológiai menedzsmentje	62
5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK.....	64
5.1. Az embrióátültetés okozta stressz értékelése.....	64
5.2. A mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők az ile de france juhajtában	67
6. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK.....	70
7. GYAKORLATBAN ALKALMAZHATÓ EREDMÉNYEK.....	72
8. ÖSSZEFOGLALÁS	74
9. SUMMARY.....	77
10. IRODALOMJEGYZÉK	79
11. PUBLIKÁCIÓK AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN	101

12. NYILATKOZATOK	Hiba! A könyvjelző nem létezik.
13. ÁBRÁK, TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE.....	105
14. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE	106
15. MELLÉKLETEK.....	107
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	118

1. BEVEZETÉS

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 juh- és kecsketenyésztés kivételes szereppel bír Európa és a világ számos más országának vidéki gazdasága szempontjából, különösképp azokon a területeken, amelyek alkalmatlanok más gazdaságos, intenzív mezőgazdasági művelést alkalmazó termelési rendszer számára (Net1). Az Európai Unió tagállamaiban ennek ellenére 2012 óta csökkenő tendenciát mutat a juhállomány (1. melléklet). A tagországok közül Törökországban található a legnagyobb állomány, amelyet Románia és Spanyolország követ (2. melléklet) (Net2).

A magyarországi juhállomány 2015 és 2023 között szintén csökkenő tendenciát mutatott (3. melléklet) (Net2). Az Európai Unióban az átlagos juhhúsfogyasztás megközelítőleg 2,4 kg/fő/év, hazánkban ez 0,35 kg/fő/évre tehető (JÁVOR és KUKOVICS, 2021). A hazai juhszektor különleges szereppel bír a magyar mezőgazdaságban és az állattenyésztésben. Ezen belül a legnagyobb gazdasági hordereje az exportra előállított élő állatoknak van. Amennyiben a juhtenyésztésben Magyarország meg akarja tartani versenyképességét az Európai Unióban, úgy szükség van fejlődésre a takarmányozás, tartástechnológia és tenyésztés területén is (ZÁSZLÓS, 2017). A juh termékek között a hús mellett megemlítendő a tej, a gyapjú és a trágya. Utóbbiak felhasználhatóak az iparban és a mezőgazdaságban is, azonban a húsnak kulcsszerepe van (4. melléklet). Magyarországon 2023-ban a juh vágóállat termelés megközelítette a 20 ezer tonnát, a tejtermelés pedig 1,6 millió liter volt (Net2). A juhhús ízletessége mellett kiváló fehérje-, zsír-, vitamin- és ásványianyag tartalmával pozitív hatással van az emberi szervezetre (KUKOVICS, 2021).

Magyarországon a juhtartás nagyrészt családi gazdaságokban valósul meg, mintegy 7100 juhtenyésztet működik. A kiskérődzők legeltetésének gazdasági szerepe mellett természetvédelmi jelentősége is van, mert egyes gyepterületek kizárólag így hasznosíthatóak a korábbi kaszálások miatt. A juhágazat ezek mellett munkahelyet

teremt, ami fontos a vidéki munkaerő foglalkoztatásában, a juhhúsnak pedig lényeges szerepe van az egészséges, reform táplálkozásban (JÁVOR és KUKOVICS, 2021).

Dohy János már 2000-ben a magyar állattenyésztés minél gyorsabb szükségszerű fejlesztéséről írt, amelyhez a biotechnológiai módszerek alkalmazása elengedhetetlen. A hazai agrárgazdaság akkor lehet versenyképes a nemzetközi szférában, ha a biotechnológiai módszerek beépülnek az állattenyésztésbe, javítva a termelési mutatókat, az állategészségügy és a környezetgazdálkodás aspektusait (DOHY, 2000). 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). Érdemes figyelembe venni azt a megállapítást, hogy ezektől a biotechnológiai módszerektől csak akkor várhatunk megfelelő eredményeket, ha magas szintű a technológiák alkalmazása és a tenyészállatok kiválasztása, tartása (BODÓ, 2022). 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 állatokra érő stresszt, fájdalmat és csökkentsük 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.
- A műtéti előkészítés 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. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Az asszisztált reprodukciós technikák jelentősége

A juh fontos gazdasági haszonállatunk, melynek termékei közül hazánkban a húsnak van kiemelkedő szerepe, hiszen a vágóállatokat alapvetően exportra értékesítik (NÁBRÁDI és mtsai, 2012). A biotechnológiai módszerek közül az állattenyésztésben jelentős szerepet kapott az asszisztált reprodukciós technikák alkalmazása. Az ART felhasználásával jelentős genetikai előrehaladást, genetikai szelekciót lehet elérni és rövidíthető a generációs intervallum is. Az ART körébe tartozik számos technika, protokoll használata (ivarzás szinkronizáció, ivarzás indukció, szuperovuláció, mesterséges termékenyítés, embriókinyerés és embrióátültetés stb.) melyek a tenyészetekben a termelékenység javítását szolgálják. Az asszisztált reprodukciós módszereket legelterjedtebben a szarvasmarha tenyésztésben használják. A kiskérődző ágazatban sokkal kevesebb ilyen jellegű beavatkozást végeznek a szakemberek, leszámítva néhány országot, ahol rutinszerűen alkalmazzák azokat (pl. Nagy-Britannia, Új-Zéland, Ausztrália) (VASS és mtsai, 2019). Az emberekben és a háziállatainkban végzett asszisztált reprodukciós eljárások között jelentős különbség az, hogy humán vonalon az asszisztált reprodukció alkalmazásának indoka elsősorban a meddőség kezelése. Háziállatainknál ezekben a programokban az elsődleges cél a fertilis, genetikailag értékes egyedek esetében a szaporaság növelése (tehát, hogy több utódot nyerjünk, mint az természetes körülmények között várható lenne), az őshonos állatok fenntartása, a genetikai tartalékok megóvása, az állategészségügyi kockázat csökkentése. Hátrányaihoz tartozik azonban, hogy költséges eljárásokról van szó és kellő szaktudás szükséges az elvégzéséhez, mindemellett számos esetben nem lehet megjósolni a sikerességét (CSEH és mtsai, 2012). A hím állatok esetében a reprodukciós teljesítmény a mesterséges termékenyítés (MT) alkalmazásával növelhető, míg nőivarú állatokban a szuperovulációval és embrió átültetéssel (Multiple Ovulation and Embryo Transfer-MOET) (CANDAPPA és BARTLEWSKI, 2011). A háziállatokban végzett asszisztált reprodukciós technikák továbbá fontos szerepet játszanak a kutatásokban, hiszen lehetőséget nyújtanak sejtbiológiai események, a termékenyülés és embriógenézis folyamatainak megértésére. Az állattenyésztés területén megszerzett tapasztalatokat a humán orvostudományban használt ART fejlesztése során kamatoztathatják (CALLESEN és mtsai, 2019).

Az elmúlt 30-40 évben a háziállatainkban a reprodukciós eljárások terén a különböző sebészi beavatkozások ugrásszerű technológiai fejlődését láthatjuk. A petefészek és a méh vizsgálatára kiskérődzőknél sok esetben már praktikusabbnak tartják a laparoszkópos beavatkozást. A petefészek és a méh juhokban történő laparoszkópos vizsgálatáról először Roberts (1968) számolt be (ROBERTS, 1968; DOVENSKI és mtsai, 2012). Tervit és mtsai (1984) az 1980-as években először végeztek sikeres laparoszkópos intrauterin termékenyítést Új-Zélandon friss és fagyasztott spermával is (TERVIT és mtsai, 1984). Ezt követően hazánkban Magyar és mtsainak sikerült mélyhűtött spermával sikeres laparoszkópos termékenyítést végezni 1987-ben (MAGYAR és mtsai, 1989). A laparoszkópos beavatkozások előnyeit kihasználva a technikát átültették a MOET programokba is (MCKELVEY és mtsai, 1986). Hazánkban az 1980-as években Cseh és mtsai (1994) által alkotott kutatócsoport célja az volt, hogy az embrióátültetési technológiákat tovább fejlesszék és új technikákat dolgozzanak ki, amelyek adaptálhatóvá teszik a beavatkozásokat a gyakorlati juhtenyésztés számára is (CSEH és mtsai, 1994).

2.2. Ivarzás szinkronizálás és indukció

A mérsékelt égövi területeken tartott juhajték ivari ciklusára jellemző, hogy szezonálisan poliösztroszos, rövid nappalos állatok. A szezon ősztől kora tavaszig tart, nyáron anösztroszban nincs ivari működés, leszámítva az egyenlítő környékén tenyésztett és szapora fajtaikat, ahol egész éven át tarthat az ivarzás (aszezonális ivarzás). Természetes ivarzás során kereső kosok segíthetnek az ivarzó anyajuhok kiválasztásában (ZÖLDÁG, 2012). Tudatos szelekcióval és keresztezésekkel nagymértékben befolyásolható egy állomány szezonálisitása még akkor is, ha mérsékelt égövön tartják. A petefészekműködés befolyásolható kívülről adott hormonokkal is. Szezonon belül ivarzás szinkronizáció, szezonon kívüli időszakban ivarzás indukció végezhető. Az ivarzás szinkronizáció lehetővé teszi, hogy a kezelt anyajuhok csoportjában közel egyidőben játszódjon le az ovuláció, ami segíti a termékenyítést vagy az ellés körüli munkaszervezést. Az ivarzás indukcióval a tenyészszezonon kívüli (tavaszi-nyári) időszakban is kiváltható az ivarzás, petesejtleválás. Mesterséges termékenyítés alkalmazása esetén gyakori ezen módszerek alkalmazása (VASS és mtsai, 2018).

Az ivarzás befolyásolására a legtöbb esetben progeszteront (vagy analógjait), prosztaglandin F_{2α}-t (vagy analógjait) használnak kiegészítve egyéb hormonokkal (pl.

eCG: equine chorionic gonadotropine). Progeszteron injekciók adásával már 1948-ban szabályozták a juhok ivari ciklusát. Később az injekciókat a folyamatos hormonleadást biztosító, progesztagén tartalmú hüvelyszivacsok és hüvelyi eszközök (pl. controlled internal drug release -CIDR) váltották fel (DUTT és CASIDA, 1948; GONZALES-BULNES és mtsai, 2020). A progeszteron befolyásolja a sárgatest fázist, amely szabályozza az agyalapi mirigy LH (luteinizáló hormon) szekrécióját és így az ovulációt is. A progesztagén forrás eltávolítása egy új follikuláris fázist indukál ovulációval. A leggyakrabban alkalmazott progesztagének a fluorogestone acetate és a medroxyprogesteron acetate. A progesztagén tartalmú hüvelyszivacsok vagy CIDR 12-14 napig maradnak az állatokban, majd eltávolításra kerülnek. A protokoll kiegészítése eCG (más néven PMSG- pregnant mare serum gonadotropine) injekcióval növeli a gesztagén kezelés sikerességét (ABECIA és mtsai, 2012). A progesztagén forrás eltávolításával egy időben adott 300-600 NE eCG növeli a reprodukciós teljesítményt és a termékenyítés sikerességét. 750 NE eCG adásakor szignifikánsan emelkedett alomszámot tapasztaltak (BOLAND és mtsai, 1981; ABDEL-KHALEK és mtsai, 2014; SWELUM és mtsai, 2015). Egy másik protokoll során 7 nap különbséggel adtak két GnRH analóg (gonadotropine releasing hormone) injekciót, valamint az 5. napon egy PGF 2α (prostaglandin F 2α) injekciót, amellyel sikeres volt az ivarzás szinkronizáció a tenyészszezonon belül (AMIRIDIS és mtsai, 2005).

Tapasztalataink alapján a fluorogestone acetate tartalmú hüvelyszivacs 14 napig történő alkalmazása és a szivacs kivételével egy időben adott eCG injekció jól használható ivarzás szinkronizációra. Azonban az ivarzás szinkronizáció sikeressége függ az adott fajtától (a szezonaritástól), az évszaktól, az anyák életkorától és a korábbi ellések számától is, ezért az eredményesség növelése érdekében a protokollt az adott állományra specifikusan változtatni szükséges.

2.3. Mesterséges termékenyítés

Juhokban a sperma depozíció helye szerint a mesterséges termékenyítés (MT) történhet hüvelybe, méhnyakba, a méhnyakon keresztül a méhbe vagy laparoszkóp asszisztáltan a méh üregébe. A hüvelyi termékenyítés a felsoroltak közül a legegyszerűbb eljárás, amikor az állatok hátsó lábait megemelik és megtámasztják, hogy az inszeminátor a termékenyítő katéterrel a spermát a hüvelybe vagy a méhnyakba juttassa. Ez a módszer azonban csak friss vagy hűtött sperma alkalmazásakor eredményes. Fagyasztott sperma használatakor

a cervikális termékenyítés kevésbé sikeres. A fagyasztott, majd felolvasztott sperma esetében az örökítőanyagot a méh üregébe kell juttatni, mivel ennek sokkal alacsonyabb a termékenyítő képessége (KUKOVICS és mtsai, 2011; ALVAREZ és mtsai, 2019). A juh esetében azonban a transzcervikális technika (amely során a termékenyítő katétert bevezetik a méhnyakon keresztül a méhbe) alkalmazása nem terjedt el olyan mértékben, mint a kecske vagy a szarvasmarha termékenyítése esetében. Ennek oka a juh hüvelyének és méhnyakának anatómiai felépítése. A cervixen történő sikeres átjutást nehezítik többek között a hüvelyben található vakzsákok, amelyek a külső méhszáj könnyű megtalálását hátráltatják, a szűk méhnyaki gyűrűk (a legtöbb esetben excentrikus 2. és 3. gyűrűk), valamint a fajták és egyedek közötti különbségek (HALBERT és mtsai, 1990). A transzcervikális termékenyítés során az állatok hátsó lábait megemelik, a külső méhszájat lidokainnal kezelik, majd atraumatikus fogókat használva előre húzzák és kiegyenesítik a méhnyakat. Így a termékenyítő katétert átvezetik a méhnyakon keresztül a méhbe (vagy minél mélyebbre a méhnyakban), majd a spermát befecskendezik (CASALI és mtsai, 2017). A Guelphi módszer során az állatokat háton fekvő pozícióban helyezik el, a hátsó lábakat a fej irányába rögzítik, egy műanyag fényforrással ellátott hüvelytükrő segítségével előhúzzák és fixálják a külső méhszájat, hogy a termékenyítő katéter átvezethető legyen a méhnyakon (CANDAPPA és BARTLEWSKI, 2011) (1. kép).



1. kép: Transzcervikális mesterséges termékenyítés Guelphi módszerrel (forrás: CANDAPPA és BARTLEWSKI, 2011)

A katéter átjutásának sikeressége azonban függ a fajtától, az anyajuh korától, a méhnyak gyűrűinek zártságától, az ivari ciklus szakaszától, az ellések számától és a használt inszemináló katéter típusától (KERSHAW és mtsai, 2005; KAABI és mtsai, 2006; SZABADOS, 2007; ÁLVAREZ és mtsai, 2012; FALCHI és mtsai, 2021). A

laparoszópos mesterséges termékenyítési technika sikeresen alkalmazható (import) fagyasztott sperma esetén, mellékhere eredetű spermiumokkal való termékenyítés során vagy nagy genetikai értékű, alacsony minőségű sperma esetén, illetve kísérleti célból (ALVAREZ és mtsai, 2019). A laparoszópos módszer alkalmazása előtt az állatot legalább 16-20 órán keresztül éhezteni kell és a beavatkozás előtt 12 órával a vizet is meg kell vonni. A minimál invazív beavatkozáshoz szükség van egy felületes szedációra és megfelelő fájdalomcsillapításra. A gyapjút a műteti területről le kell nyírni, majd a sebészi területet megtisztítani és fertőtleníteni. Az anyajuhokat a műtét idejére egy speciális kocsiba fektetik háton fekvő pozícióba, 45°-ban feji irányban megdöntve (Trendelenburg pozíció). A tőgy előtti területen két oldalt egy-egy 1 cm-es metszést ejtenek, a hasüreget CO₂ gázzal töltik fel, majd a metszéseken keresztül trokárokat vezetnek a hasüregbe (2. kép).



2. kép: Laparoszópos mesterséges termékenyítésre előkészített anyajuh Trendelenburg pozícióban (forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2023)

Az egyik trokárán keresztül kerül bevezetésre az optika, amellyel a méhszarvak kereshetőek fel, a másik trokárán keresztül pedig a laparoszópos inszemináló katéter (Aspic, IMV, France). A katéter hegyes végét a méhszarv nagygörbületébe szúrva a sperma beinjektálható a méh üregébe. Bár a laparoszópos mesterséges technika minimál invazív beavatkozás, elvégzéséhez gyakorlott állatorvosra és képzett asszisztenciára van szükség, mert ebben az esetben is léphetnek fel komplikációk például a belső szervek

megsértése, vérzések, hematómák kialakulása, altatási komplikáció, peritonitis (SATHE, 2018). A laparoszkópos termékenyítés időpontja a progeszteron forrás eltávolítása után 48-65 órával később történik, optimálisan 54 óra elteltével (MENCHACA és RUBIANES, 2004; FAIGL és mtsai, 2012; SANTOS NETO és mtsai, 2015).

Hazánkban az 1960-as években volt a juh mesterséges termékenyítések számában egy ugrásszerű emelkedés az állami támogatás miatt. Ez azt jelentette, hogy az anyajuhok 63%-át termékenyítették. Azonban ez a szám jelentősen visszaesett, az ezredforduló után 2% alattira becsülik ezt az arányt (KUKOVICS és mtsai, 2011). Jelenleg hazánkban néhány elit tenyésztőtől eltekintve elvétve használják a laparoszkópos mesterséges termékenyítést (és így az import szaporítóanyag alkalmazását). Emellett a hüvelyi termékenyítések száma is alacsony. A szakirodalomban leírtak alapján fagyasztott sperma esetében laparoszkópos MT alkalmazásakor 60-80%-os eredményesség érhető el (SATHE, 2018; ALVAREZ és mtsai, 2019). Az MT sikerességét azonban számos tényező befolyásolja, melyekről a későbbiekben számolunk be.

2.4. MOET program

2.4.1. Embriókinyerés

Az embrióátültetés legfőbb előnyéhez tartozik, hogy egy genetikailag értékes donor egyedtől sokkal több utód nyerhető, mint természetes körülmények között. A donor állatokból kinyert embriókat recipiens állatokba ültetik be és ezek az állatok fogják világra hozni az utódokat. Ha a kinyert embriókat nem ültetik be recipiensekbe, akkor fagyasztás után hosszú ideig tárolhatóak és exportálhatóak más országokba vagy földrészre, így csökkentve az élőállatszállítást és az azzal járó állategészségügyi kockázatot és veszteséget (VASS és mtsai, 2019). A MOET program sikeressége nagyban függ a petefészkek szuperovulációs kezelésre adott válaszátlól. A legelterjedtebb protokoll során a progeszteron forrást 14 nap után távolítják el és az eltávolítás előtt 2 nappal kezdik meg az FSH (follikulus stimuláló hormon) kezelést. Az FSH-t 6 vagy 8 alkalommal 12 óránként adják csökkenő dózisban. A szuperovulációs protokollok összehasonlításakor azt tapasztalták, hogy a CIDR eszközök használatakor elegendő lehet 5-7 napos progeszteron kezelés az FSH alkalmazása előtt. Hosszú távú, 14 napos progeszteron alkalmazása esetén előfordulhat, hogy a kezelés vége felé csökken a felszívódott progeszteron mennyisége, ezért érdemes lehet az FSH adásának megkezdése előtt új

gesztagén forrást behelyezni. A CIDR eltávolításával egy időben adott eCG injekció negatívan befolyásolta a petefészekválaszt és az embriók minőségét. A CIDR eszköz eltávolítása után 24 órával adott GnRH azonban javította a fertilizációt és az átültethető embriók számát (MENCHACA és mtsai, 2009). Összehasonlították a hagyományos, 6 csökkenő dózisban adott FHS-t tartalmazó protokollt és azt az egyszerűsített szuperovulációs módszert, amelyben a progeszteron forrás eltávolítása előtt 48 órával adtak egyszeri 210 NE FSH és 500 NE eCG kezelést. A két protokoll esetében nem volt különbség a kinyert embriók száma és életképessége között, valamint az embriók fagyaszthatóságában sem. Az egyszerűsített kezelés esetében korábban történt az ivarzás (FORCADA és mtsai, 2011). A szuperovulációs választ befolyásolhatja az FSH dózisa. A progeszteron kezelés mellett 6 csökkenő dózisban adott 100 illetve 200 NE FSH kezelés között találtak különbséget. A kisebb FSH dózis során alacsonyabb volt az ösztrozus válasz és a sárgatestek száma. Az életképes embriók száma és az embriókinyerés aránya is jobb volt a magasabb dózisú FSH kezelést követően (FIGUEIRA és mtsai, 2020a).

Lacaune juhajtában szezonon kívüli szuperovuláció során a medroxiprogesteron-acetát tartalmú hüvelyszivacsot 6 helyett 9 napig alkalmazva magasabb volt az életképes embriók száma (FIGUEIRA és mtsai, 2020b). A csak eCG által kiváltott szuperovulációs protokollt összehasonlítva az eCG+FSH kombinációban adott változatával nem volt különbség az átlagos sárgatest szám, az átültethető és sérült embriók száma és a nem termékenyült petesejtek száma között. Azonban az átültethető embriók átlagos száma magasabb volt a kombinációban alkalmazott szerek esetén (CSEH és SOLTI, 2001). A szuperovulációs kezelésre adott válasz kritikus pontja az embrióátültetés eredményességének, hiszen számos tényező befolyásolhatja, többek között a protokollban alkalmazott hormonok és dózisuk, a donor fajtája, a szezon vagy a takarmányozás (ARMSTRONG és EVANS, 1983; BARIL és mtsai, 1989; JABBOUR és mtsai, 1991).

A donor állatokkal egyidőben a recipiens anyajuhokat is szinkronizálni kell. Ez biztosítja, hogy az embrió kinyerés és átültetés idejében a donor és recipiens állatok azonos ciklusstádiumban legyenek. A donorok termékenyítése történhet természetes fedeztetéssel vagy mesterséges termékenyítéssel. A mesterséges termékenyítés esetén javasolt a laparoskopos technika alkalmazása, mely emeli a termékenyítés sikerességét és csökkenti a felhasznált örökítőanyag mennyiségét (GIBBONS és CUETO, 2011). Az embriók kinyerése 7-8 nappal a progesztagén forrás eltávolítása után történik vagy 4-6

nappal a mesterséges termékenyítést követően, amikor az embriók kompakt morula vagy blastocysta stádiumban vannak (MCKELVEY, 1999; COGNIÉ és mtsai, 2004; GIBBONS és CUETO, 2011). Az embriók kinyeréséhez a méh átmosása szükséges, majd a donorokat PGF2 α -val kezelik, hogy a sárgatestek luteolízisével eltávolítsák az esetlegesen bent maradt embriókat (MCKELVEY, 1999). Az embriók kinyerésének leggyakoribb módja a sebészi módszer. A laparotómia során az állatokon teljes anesztéziát kell alkalmazni. Az előkészítés során a tőgy előtti területen le kell nyírni a gyapjút, a bőrt megtisztítani és fertőtleníteni. A műtét folyamán a tőgy előtt 1 cm-rel paramedián 8 cm-es metszés ejtenek, amelyen keresztül kiemelik a méhszarvakat. Az egyik méhszarvat a méhtest felől egy atraumatikus fogóval vagy Foley katétert bevezetve a ballon felfújásával lezárják. A méhszarv végébe vagy a petevezetőbe katétert vezetnek be, a méhszarvba mosófolyadékot injektálnak és a katéteren keresztül kifolyó folyadékot - amelyben az embriók találhatóak - petri csészébe felfogják. A méhszarv átmosása 2-3 alkalommal összesen 20-25 ml mosófolyadékkal történik. A folyamatot a másik méhszarvval is megismétlik, majd a méhszarvakat visszahelyezik a hasüregbe és a sebet rétegesen zárják (VASS, 2014; BERGSTEIN-GALAN és mtsai, 2017). A kinyert embriókat fejlődési stádium és minőség szerint osztályozzák. Fejlődési stádium szerint megkülönböztetünk az embrióátültetés szempontjából lényeges morula és blastocysta stádiumot (amely stádiumokon belül további állapotok különböztethetők meg). A másik fontos szempont az embriók minősége, amely alapján 4 osztályba sorolhatók. A Grade 1 embriók a fejlődési stádiumuknak megfelelőek, kevés degenerált sejttel rendelkeznek. A Grade 2 osztályú embriók esetében kisebb hibák - idegen degenerált sejtek vagy abnormális alakok - előfordulhatnak. Az első két osztályba sorolt embriók beültetésekor jó eséllyel magas vemhességi eredmény és az embriók esetében jobb túlélési ráta várható. A Grade 3-as embriókban már egyértelmű hibák láthatóak (extrudált sejtek, vezikuláció, degenerált blastomerek). A Grade 4-es embriók akár 40%-nál több degenerált sejtet tartalmaznak és a fejlődésben visszamaradhatnak. A Grade 3-4 minőségi osztályba sorolható embriók beültetésénél alacsonyabb vemhességi százalékra és túlélési rátára számíthatunk, mint az első két osztályba tartozóknál (WRIGHT, 1981; ARMSTRONG és EVANS, 1983; HASLER és mtsai, 1987; BARI és mtsai, 2003).

Az ismételt laparotómiás embrió kinyerés adhéziókat okozhat a hasüregben, ezért ennek elkerülésére a laparoszkópos technika is sikeresen alkalmazható. A módszer során laparoszkópos optika vezérelten másik két kis nyíláson keresztül vezetik be a fogót és a katétert, amelyek segítségével a hasüregben belül átmosják a méhszarvakat (MCKELVEY

és mtsai, 1986; TORRES és SEVELLEC, 1987; NELLENSCHULTE és NIEMANN, 1991). Ugyancsak kevesebb traumával jár a laparoszkóp asszisztált embriókinyerés, melyet szintén sikeresen lehet alkalmazni a teljes sebészi beavatkozás kiváltására. A módszer során laparoszkópos optika segítségével keresik meg a méhszarvakat a hasüregben és egy kisebb hasi seben keresztül előemelik azokat az embriók kimosásához (BARI és mtsai, 1999; BARI és mtsai, 2000; AZAWI, 2011). A nem sebészi technika alkalmazásával az adhéziók mellett elkerülhető a teljes anesztézia, a beavatkozás előtti éheztetés is, valamint nincs műtéti seb sem. A kecskéhez képest az anyajuhokban limitáltan használható a nem sebészi, transzcervikális technika a cervix anatómiai sajátosságai miatt. Fontos, hogy milyen mértékben tágítható fel a méhnyak annak érdekében, hogy átjárhatóvá váljon a katéter számára. Ehhez különböző hatóanyag kombinációk alkalmazása szükséges (pl. Embrapa's protokoll) (FONSECA és mtsai, 2016). A beavatkozás előtt 16 órával izomba adott d-cloprostenol és ösztradiol-benzoát (vagy ösztradiol-cypionát) valamint a kezdés előtt 20 perccel intravénásan adott oxitocin alkalmazása során sikeresen átjárhatóvá vált a méhnyakcsatorna. Az ösztradiol-benzoát csökkentett dózisban izomba vagy intravaginálisan való alkalmazásakor is megvalósítható volt transzcervikális embriókinyerés (FONSECA és mtsai, 2019a; FONSECA és mtsai, 2019b; DIAS és mtsai, 2020). Szedáció és lokális fájdalomcsillapítás ebben az esetben szintén szükséges. A sedáció mellett az epidurális anesztézia nagyban segítheti a relaxációt és a fájdalommentesség biztosítását. Az állatokat álló vagy háton fekvő pozícióban helyezik el. A beavatkozás során fontos, hogy fényforrással ellátott hüvelytükör segítségével atraumatikus fogókkal rögzítsék a méhnyakat és így a katéter átvezethető legyen a cervixen keresztül a méh üregébe (FONSECA és mtsai, 2016).

2.4.2. Embrióbeültetés

A kinyerést követően az embriókat rövid időn belül recipiensekbe ültetik vagy lefagyasztják. A beavatkozás során egy vagy két embriót ültetnek a méhszarvakba. A kiskérődzőkben az embrió transzfer egyik módja a hagyományos sebészi eljárás (CSEH és SEREGI, 1993; GEBREHIWOT és mtsai, 2018). Ma már azonban legtöbbször a kevésbé invazív laparoszkópos embrió transzfert választják, amellyel hasonló vagy magasabb vemhességi eredményeket lehet elérni. A folyamatot a laparoszkópos mesterséges termékenyítéshez hasonlóan végzik, de ebben az esetben ellenőrizni kell a

recipiensekben a sárgatest jelenlétét az embrió méhszarvba helyezése előtt. A méhszarv rögzítése után az embriót a hasfalon keresztül bevezetett katéter segítségével juttatják az méhszarvba. A módszer mellett, hogy eredményes, kivitelezése gyorsabb és kevesebb traumát okoz a hasüregben (SCHIEWE és mtsai, 1984; SHIN és mtsai, 2008). A laparoszkóp asszisztált (fél-laparoszkópos) embrióbeültetés során az optika bevezetését követően a középvonalban egy metszésen keresztül fogót vezetnek be, mellyel óvatosan megragadva a méhszarvat kiemelik azt a hasüregből egy 2-3 cm-es metszésen keresztül. Az embriót módosított termékenyítő katéter segítségével (aspic) juttatják be, majd ezt követően a méhet visszaengedik a hasüregbe (MCMILLAN és HALL, 1994). A nem sebészi, transzcervikális eljárás használható az embriótranszfer esetében is, azonban ugyanúgy nehézségekbe ütközik, mint amit az MT vagy az embriókinyerés során tapasztalunk. A transzcervikális technika eredményesebben kivitelezhető, ha a beavatkozás előtt a recipienseket 12-24 órával intravaginálisan dinoprostone (prostaglandin E2 analóg) hatóanyag tartalmú hüvelyszivaccsal kezelik a méhnyak feltágítása érdekében (CANDAPPA és BARTLEWSKI, 2014). A méhnyak fellazításának másik lehetősége továbbá, ha a recipiensek az ivarzási ciklus 5. napján estradiol-17 β hormont kapnak intravénásan, 10 óra múlva pedig intravénásan oxitocint (WULSTER-RADCLIFFE és mtsai, 1999).

Cseh és mtsainak (1994) meghatározó szerepe volt hazánkban az embrió kinyerési és átültetési technikák fejlesztésében, melyek adaptálhatóvá váltak a gazdaságokban történő elvégzéshez is (CSEH és mtsai, 1994). Magyarországon a fehér suffolk fajta honosítási programjában alkalmaztak fél-laparoszkópos eljárást. A programot egy magán juhtenyésztő gazdaságban végezték el 116 import fagyasztott embrió beültetésével. A beültetett embriók 51%-ából született bárány (VASS és mtsai, 2019). A jelenleg elérhető legfrissebb, 2024-es évi kimutatásban 4 európai ország adatai alapján az átültethető juh embriók száma 289 db volt (ebből in vivo embrió produkció 227 db), a világon pedig összesen 84910 db (ebből in vivo embrió produkció 42394 db). 2024-ben Európában a vezető ország Spanyolország, a világon pedig USA, Ausztrália, Brazília és Kína voltak (Net3). Az in vivo kinyert embriók száma a 2023-as adatokhoz képest erőteljes csökkenést mutatott (bár ebben szerepet játszhat az Egyesült Királyságból származó adatok hiánya), míg az in vitro embrió produkció Kína meghatározó részvételével emelkedett (Net4).

2.5. Stresszvizsgálatok juhokban

2.5.1. A stressz és a reprodukciós beavatkozások kapcsolata

A kiskérődzők szaporodásbiológiai teljesítménye kulcsfontosságú mutatója az állomány állategészségügyi állapotának és a gazdaság eredménytermelő képességének. Az állatok jó egészségügyi állapotához hozzájárul azok hogyanléte, ezért az állatjóléti szempontok maximális figyelembevételével kell világos szabályokat alkotni. Az intenzív termelésben az állatokat érő stressz aggodalomra adhat okot, ronthatja a társadalom állatjóléti megítélését, ezért különösen fontos ennek vizsgálata. Etikai kérdéseket vetnek fel az állatoknál alkalmazott biotechnológiai módszerek is (HARGREAVES és HUTSON, 1990; ROGER, 2012). Banner és mtsai (1995) a haszonállatok tenyésztésében használt új technológiák etikai vonatkozásairól szóló jelentésében megemlítik, hogy a nem sebészi, transzcervikális mesterséges termékenyítési technika nehezen kivitelezhető a juhban. Ezért kevesebb traumát okozhat a laparoszkópos termékenyítés, azonban ez invazívabb beavatkozásnak számít. A műtét előtt szükséges víz és takarmány megvonása stresszel járhat az állatok számára. Emellett fontos a megfelelő anesztézia megválasztása is. A nem sebészi módszer alkalmazásakor szintén nagy gondot kell fordítani a rögzítés során az állatokkal való megfelelő bánásmódra, valamint az inszeminátor gyakorlottságára. A Juhok Állatorvosi Társasága (Sheep Veterinary Society) ajánlása alapján a sebészi és laparoszkópos technikák csak állatorvos által végezhetők. Az ajánlások továbbá hasonlóan vonatkoznak a juhokban elvégzett embriókinyerési és embrióátültetési technikákra is (BANNER és mtsai, 1995).

Az állatokat érő stressz hatással van többek között a szaporodásbiológiai teljesítményükre, hiszen a nem megfelelő kondíció, bánásmód, takarmányozás vagy a hőstressz gátolja a normál ivarzási ciklust és a termékenyülést (DOBSON és mtsai, 2012). A szervezetet ért stresszhatásra a hipotalamusz-hipofízis-mellékvese (HPA) tengely aktiválódik. A folyamat során a hipotalamuszban termelődő kortikotropin felszabadító hormon (CRH) aktiválja a hipofízis elülső lebenyében az adrenokortikotrop hormon (ACTH) kiválasztását. Az ACTH hatására a mellékvesekéregben glükokortikoidok (pl. kortizol) termelődnek (SMITH és VALE, 2006). Nőivarú állatokban a reprodukzív működést egy másik mechanizmus, a hipotalamusz-hipofízis-petefészek (HPO) tengely irányítja. A hipotalamuszban termelődő GnRH a hipofízis elülső lebenyében serkenti a FSH és a LH elválasztását. Ez a két hormon hatását a petefészekben fejti ki, ahol

ösztrogén és progeszteron termelődik. A stresszhatásra felszabaduló glükokortikoidok a hipotalamusz, a hipofízis és a petefészek szintjén is kifejtik gátló hatásukat. Így többek közt gátló hatás éri a GnRH és LH szekréciót, a progeszteron és ösztrogén bioszintézist (CHROUSOS és mtsai, 1998). Krónikus stressz hatására (pl. sántaság, láz) a nem megfelelő GnRH és LH frekvencia nem képes biztosítani a növekvő folliculusokérését a további fázisokba, ezzel gátolva a normál ivari ciklus működését. Amennyiben a tüszők elérik a megfelelő érettségi stádiumot, a nem elegendő GnRH frekvencia vagy ösztradiol termelődés az LH csúcs hiányához vezet, ezzel az ovuláció elmaradását eredményezi. Még a kisebb mértékű stressz hatására is - amennyiben a hormonok szintje elegendő a tüszők növekedéséhez és a petesejt megtermékenyül - megvan annak a veszélye, hogy a vemhesség nem fog fennmaradni (DOBSON és SMITH, 2000). Stresszforrás lehet minden olyan tényező, amely a homeosztázist fenyegeti. Háziállataink esetében negatív inger lehet a fizikai vagy a környezeti stimulus (pl. szállítás, lefogás, izoláció, többszöri vérvétel) vagy a különböző vizsgálati céllal adott hatóanyagok használata (pl. inzulin, endotoxinok) (SMITH és mtsai, 2003). Egy kísérlet során naponta kortizol hormont adtak infúzió formájában anyajuhoknak a progesztagén forrás eltávolítását megelőző 5. naptól a pesszárium eltávolítását követő 5. napig. Azt tapasztalták, hogy nyolc anyajuhból mindösszesen egy mutatott folliculáris aktivitást és LH csúcsot. Amennyiben a kortizol kezelést csak a gesztagén forrás eltávolítása után adták 5 napig, az ösztradiol koncentráció végig alacsony maradt az állatokban és az LH csúcs is elmaradt. Amikor a kortizol kezelést a progesztagén forrás eltávolítása előtt 5 napon keresztül végezték, LH csúcs mérhető volt hétből négy anyajuh esetében a pesszárium eltávolítását követő 5 napon belül (MACFARLANE és mtsai, 2000).

A stressz közvetlenül képes gazdasági károkat okozni a szaporodásbiológiai és a termelési mutatók romlásával, közvetetten pedig a nem megfelelő állatjóléti érdekek biztosítása miatt a vásárlók elfordulhatnak az adott gazdaságtól. A húsmarháknak, amelyek nincsenek hozzászokva a mindennapi emberi kontakthoz, minden állatorvosi vagy reprodukciós beavatkozás stresszt jelent. Ezeket az állatokat a vizsgálatokhoz be kell terelni egy folyosóra így fontos, hogy ez minél kevesebb félelemmel járjon számukra. Ennek érdekében érdemes megfelelő kialakítású folyosókat használni, valamint hozzászoktatni az állatokat az emberek közelségéhez mielőtt a beavatkozásokra kerül a sor. Kimutatták, hogy stresszhelyzetben csökken a vemhességi ráta, valamint a borjak születési és választási súlya is (FERNANDEZ-NOVO és mtsai, 2020).

Zebukban a szuperovulációt követő embrió kinyerést szintén befolyásolta az állat-ember kapcsolat. Amennyiben ez a kapcsolat (pl. lefogás, erős hanghatás) negatív hatással volt az állatra, emelkedett a kortizol szint és csökkent az életképes embriók száma. Ugyanakkor a kísérletből az is kiderült, hogy az idősebb állatokat kevésbé zavarta meg az emberekkel való kontakt és a kezelési eljárások (MACEDO és mtsai, 2011).

2.5.2. A stressz monitorozásának lehetőségei a kiskérődzőkben

Fájdalom és stressz hatására az állatfajok válaszreakciói eltérőek. Juhok esetében a viselkedésváltozások közé tartozik például a nyájtól való elmaradás, csökkent szociális interakció és takarmányfelvétel, megfigyelhető remegés, valamint abnormális vokalizáció, megváltozott mozgás (STEAGALL és mtsai, 2021). Silva és mtsai (2020) készítettek egy megbízható, objektív skálát, amellyel mérhetővé vált az akut fájdalom mértéke lágyszervi műtéten (laparoszkopos műtét) átesett juhok esetében. Az USAPS (Unesp-Botucatu sheep acute pain scale) alapja a szakirodalomban leírt fájdalommal járó viselkedésváltozások összegzése, amely magatartásokat videókamerával rögzítettek fájdalommentes és posztoperatív időszakban, majd kiértékeltek azokat. A vizsgált időszakokban feljegyezték az állatok magatartási formáit, többek közt az evést, kérődzést, környezeti interakciót, mozgást, fejtartást, fekvési viselkedést, remegést (SILVA és mtsai, 2020). Szintén videófelvételek elemzésével lehet kimutatni a posztoperatív fájdalmat és diszkomfort érzetet a juhok arckifejezésének vizsgálata során. A Sheep Grimace Scale összehasonlítja a szemrés tágasságát, a fej és fültartást és a Flehming reakciót a fájdalomérzet elbírálásához (HÄGER és mtsai, 2017).

A viselkedésbeli változások mellett a fiziológiai paraméterek is megfelelő mérési módszert jelenthetnek az állatjóléti kérdések elbírálásához. A testhőmérséklet változása megfelelő indikátora lehet a stressznek hideg vagy meleg hőstressz környezetben, mivel a belső hőmérséklet alapvetően a homeosztázis által jól szabályozott (juhokban fiziológiás testhőmérséklet 38.3 °C és 39.9 °C között változhat). Az infravörös termográfia a test különböző pontjain méri az infravörös tartományban mérhető sugárzás mértékét, mellyel detektálható a tüdőgyulladás, a lábvégbetegségek vagy a herék hőtűrése is (BLACHE és MALONEY, 2017). A légzésszám változása (légzésszám emelkedés, lihegés, zihálás) mutatója lehet a hőstressznek de akár egyéb stressz hatásoknak vagy a fájdalomnak is (MORTON és GRIFFITHS, 1985; GOUGOULIS és mtsai, 2010). A légzésszám mellett a szívfrekvencia és a szívfrekvencia variabilitás mérése is elterjedt.

Szarvasmarha esetében jól használható például fejési technológiák összehasonlítására, borjakban hőstressz vizsgálatoknál, juhokban lábvégbetegségek által okozott problémák állatjóléti aspektusainak vizsgálatára (STUBSJØEN és mtsai, 2015; KOVÁCS és mtsai, 2018; KOVÁCS és mtsai, 2019). A kérődzőkön kívül egyéb állatfajban, lóban, sertésben és baromfinál is használják ezt a mérési módszert (BORELL és mtsai, 2007).

Sok esetben a stressz szintjének mérését a vérparaméterek elemzésével is kiegészítik. Hőstressznek kitett juhok esetében az emelkedett légzésszám és szívverésszám mellett csökkent a vérben a fehérvérsejtek száma, megemelkedett a vér kálium, klorid, kalcium és kortizol koncentrációja. A hőstressz csökkenthető volt a légmozgás beindításával (WOJTAS és mtsai, 2014). A mindennapi rutin beavatkozások úgy, mint az izoláció, lefogás, nyírás szintén változást okozhatnak a biokémiai paraméterekben és akár a növekedési hormontermelésben is (CARCANGIU és mtsai, 2008). Az állattenyésztésben a mindennap előforduló beavatkozások kiváltotta hatások vizsgálata fontos ahhoz, hogy a tenyésztők az állatok számára kevesebb stresszel járó technikákat részesítsenek előnyben. A modern technológiák alkalmazása a fejésben, körmölésben, súlymérésben vagy a rakodás során csökkenthetik az állatokat érintő félelmet és riadalmat a fiziológiai és vérparaméterek elemzése alapján (malondialdehid, glutatione-peroxidáz, kortizol, pajzsmirigy hormonok) (YARDIMICI és mtsai, 2013). Gyulladással járó megbetegedések vagy stresszhatás esetén a vérplazmában megváltozik az akut fázisú proteinek (APP) mennyisége. A pozitív akut fázisú proteinek (haptoglobin, szérum amiloid A) mennyisége a sérülés vagy a gyulladás mértékével egyenes arányban nő. Ezzel szemben a negatív APP (albumin, paraoxonáz 1) koncentrációja lecsökken. Az APP-k idéznek elő a szervezetben különböző változásokat, pl. láz, fehérvérsejtszám és kortizol szint emelkedés (COSTA és mtsai, 2018). Az állatjólét és a stressz mértékének háziállatainkban legelterjedtebb mérési paraméterei a glükokortikoidok (kortizol) vagyis a HPA tengely vizsgálata. A legtöbb esetben a kortizol meghatározása plazmából történik vérvételt követően. A véna szúrása azonban invazív beavatkozás, a szükséges lefogás tovább növelheti az állatok szorongását, így lehetőség szerint érdemes az állatokat hozzászoktatni a procedúrához. Egy kevésbé stresszes módszer a nyál mintavétel tamponnal, mellyel a kortizol szabad formája mérhető (MORMÈDE és mtsai, 2007; ANDANSON és mtsai, 2020). Nyálmintából történő kortizol meghatározás mellett a lipáz is megfelelő biomarker a juhokat ért stresszhatások vizsgálatához (CONTRERAS-AGUILAR és mtsai, 2019). A krónikus stresszhatás vizsgálatára további, nem invazív mérési módszer lehet juhokban a gyapjú kortizol koncentrációjának mérése hőstressz

környezetben, vízmegvonás mellett (GHASSEMI NEJAD és mtsai, 2014). Emellett a vizelet kortizol mennyiségének mérése szintén krónikus stresszhatások felderítésére alkalmazható (ASANO és mtsai, 2021). Tehenek esetében pedig a bélsár kortizol szintje szolgál információval arról, hogyan viselik az állatok a szállítást és mennyire gyorsan tudnak alkalmazkodni az új környezethez (PALME és MÖSTL, 1997; MÖSTL és mtsai, 2002).

Az ART-k alkalmazása során az állatok egyéni monitorozásához sokszor elengedhetetlen az izoláció. A juhok azonban társas állatok, így a fajtársaiktól való elválasztás negatív hatással van rájuk. Kutatók a juhok egy kis csoportját 24 órára elkülönítették a társaiktól és azt tapasztalták, hogy a szérum kortizol koncentráció megemelkedett, legnagyobb mértékben az első órában. Ezt követően a kortizol szint csökkenést mutatott, de 24 óra elteltével is magasabb volt, mint a kontroll csoportban. A vér glükóz tartalma a kortizolhoz hasonló változást mutatott (PIERZCHAŁA és mtsai, 1985). Azokon a juhokon, amelyeket teljesen izoláltak társaiktól (érintkezés és vizuális ingerek nélkül), viselkedésváltozás volt megfigyelhető. Az állatok az elválasztott időszak alatt több időt töltöttek állással és kevesebbet evéssel, kérődzéssel vagy pihenéssel, valamint a vokalizáció is erőteljesebb volt a kontroll csoporthoz képest. A szívfrekvencia magasabban alakult az izoláció során, valamint a szérum kortizol koncentrációja is emelkedett 1,5 és 3 órával a szeparációt követően. Az izolációt többször ismételve azt tapasztalták, hogy bár a viselkedésbeli változások megmaradtak, az emelkedett kortizol szint már nem volt jellemző (COCKRAM és mtsai, 1994). Amennyiben a kísérleti csoportban az elkülönítést háromszor megismételték 5 órás időtartamra, a szérum kortizol koncentráció szintén az 1. és a 3. óra között volt kifejezetten magas. Mindhárom szeparációnál emelkedett kortizol koncentrációt mértek, ami azt mutatta, hogy ebben az esetben a juhok nem tudtak adaptálódni az izoláció okozta érzelmi stresszhez (NIEZGODA és mtsai, 1987). Tejelő anyajuhokat 10 perc időtartamú elkülönítés után két csoportra osztottak. Az egyik csoportba tartoztak azok az állatok, amelyeknél magas plazma kortizol koncentrációt mértek és egy másik csoportot alkottak az alacsony kortizol koncentráció emelkedést mutatóak. A második csoportba tartozó anyajuhoknál magasabb volt a tejtermelés mennyisége és alacsonyabb a szomatikus sejttség az izolációt követő 3 napban, mint a magasabb kortizol koncentrációjú csoportban. Az eredmények azt igazolták, hogy azoknál az anyajuhoknál, amelyek érzékenyebbek a stresszhatásokra, csökkenhet a tejmennyiség és az immunrendszer befolyásolása miatt fogékonyabbá

válhatnak a tőgyben kialakuló gyulladással megbetegedésekre (CAROPRESE és mtsai, 2010).

A különböző beavatkozásokhoz sokszor elkerülhetetlen az állatok nyírása és az anesztézia előtt a megfelelő éheztetés, ami befolyásolja az állatok stressz szintjét és hormonális működését. A progeszteron kezelést követő második ivarzási ciklust vizsgálták. Azt tapasztalták, hogy az ivarzás várható időpontja előtt 7 nappal végzett nyírás, vagy 7 nappal kezdett éheztetés befolyásolta az ivari ciklust. A stresszhatásnak kitett állatok közül a kontroll csoporthoz képest kevesebb mutatott ivarzásra jellemző viselkedést vagy néhány anyajuhnál csak tüszőnövekedés volt tapasztalható ovuláció nélkül (MACKENZIE és mtsai, 1975).

Az ART alkalmazása akut és krónikus fájdalommal is járhat az állatoknak. Ezért az okozott fájdalom mértékének vizsgálata nagyon fontos ezen technológiák használata során annak érdekében, hogy a lehető legkisebb fájdalommal és stresszel járó beavatkozást válasszuk az állatoknak vagy gondoskodni tudjunk a megfelelő anesztéziáról és fájdalomcsillapításról (NAPOLITANO és mtsai, 2020).

2.5.3. A precíziós eszközök használata kérődzőknél

A precíziós állattenyésztésben a gazdák automatizált módon, távolról is monitorozhatják állataik termelését, egészségi állapotát és az állatjóllétet. A megfigyelési rendszerekben többek közt kamerákat, szenzorokat, mikrofonokat használhatnak. Azonban ezeknek az eszközöknek a használata etikai kérdéseket is felvet a társadalom részéről, hiszen sokan úgy gondolják, hogy ezzel meggyengülhet az ember-állat kapcsolat, az állatokat tárgyasíthatják és sérülhet a hagyományos állattartói szerepkör (SCHILLINGS és mtsai, 2021). Nagylétszámú állattartó telepeken azonban szinte nélkülözhetetlen a modern technológiai rendszer, hiszen nem lehetséges minden állatot egyedileg megfigyelni. A tejlő tehenészetek szaporodásbiológiai menedzsmentjében veszteséget jelenthet, ha az ivarzási tüneteket későn észlelik, elmarad az ellési segítségnyújtás, vagy későn kerül diagnosztizálásra egészségügyi probléma. Ezért sok esetben használnak ivarzás detekcióhoz különböző szenzorokat, amelyek bendő bolus, nyakörv, füljelző, lábra szerelhető eszközök formájában mérik a kérődzési viselkedés változását, a testhőmérsékletet, az aktivitást vagy a lábak pozícióját. Az ivarzás napján az állatok mozgása fokozódik, míg ezzel párhuzamosan csökken a kérődzéssel töltött idő. Az ellés körüli felügyelet fontos abból a szempontból, hogy minimalizálják a borjúvesztést. A

videókamerás felvételek elemzése mellett szintén segítenek az ellés előrejelzésében azok a szenzorok, amelyek az aktivitás mellett mérik a fekvéssel töltött idő változását vagy a fark mozgását is. Emellett használhatóak a kérődzés megfigyelésére szolgáló vagy a testhőmérsékletet mérő (intravaginális) eszközök is (DAS és mtsai, 2023).

Nem invazív mérési módszerek lehetnek az ivarzás megfigyelésre a tej hőmérsékletének, mennyiségének, progeszteron szintjének mérése vagy a testhőmérséklet változásának rögzítése. Azonban önmagukban ezek a technikák kevésbé megbízhatóak, de kombinálva alkalmazhatóak, például pedometerekkel együtt. A telepeken nagy problémát jelent a sántaság, a mastitis és a reprodukciós problémák által okozott veszteségek. A lábvégbetegségekkel rendelkező állatok gyakrabban rendelkeznek más egészségügyi rendellenességekkel, mastitissel, csökkent fertilitással vagy metabolikus zavarokkal. A sántaság detektálásához használhatóak nyomás érzékelő műszerek, amelyek kimutatják, hogy az állat milyen arányban terheli a négy végtagot. Az aktivitásmérőkön kívül alkalmazhatóak 2D vagy 3D videókamerák, így a felvételek értékelésekor monitorozható az állatok járása, a hát helyzete. Ezek mellett nagyon fontos az állatok viselkedésváltozásának megfigyelése is (fekvési, evési, kérődzési idő változása).

A tőgygyulladás esetében régóta használt és bevált módszer a tejből reagensekkel történő szomatikus sejtszám mérés. A tőgyet infravörös termográfiával vizsgálva korai stádiumban diagnosztizálható a gyulladás, azonban ez időigényes folyamat és képzett szakembert igényel a kiértékelés. Emellett a BCS változása is utalhat egészségügyi problémára, melyet hagyományos módon a testfelépítés változásának értékelésével lehet megállapítani, vagy ebben az esetben is használhatóak a 2D vagy 3D képalkotó technikák (MOTTRAM, 2015; SILVA és mtsai, 2021).

Nehézséget jelenthet és időigényes folyamat, ha a legelő állatokat (szarvasmarha vagy juh) kívánjuk megfigyelni. A precíziós technikák segítséget nyújtanak, hogy távolról is felügyelni lehessen az állatok viselkedését, egészségi állapotát, a legelő kihasználását. A füljelzők segítenek az állatok azonosításában. A GPS-szel ellátott nyakörvekkel vizsgálható az állatok eloszlása a legelőkön, információt szolgáltatnak az adott állat viselkedéséről, egészségi állapotáról, jóllétéről. A kamerával felszerelt drónok használata elterjedőben van nagyobb területek ellenőrzésekor, hiszen így megszámlálhatóak az állatok, tanulmányozni lehet a viselkedésüket, de akár tereléshez is használhatóak (HERLIN és mtsai, 2021).

A juhtenyésztésben is ugrásszerűen nőttek a kutatások az állatokon vagy az állatok mellett használható szenzorok alkalmazhatóságáról. A legeltetett juhok esetében a legnagyobb

fejlődés Franciaországban, Olaszországban, Görögországban és Spanyolországban látható. Ezek a technológiák többek közt az elektromos azonosító rendszerek, füljelzők, ivarzás detektorok, bendő bólushoz, aktivitási szenzorok, automatizált mérlegek, virtuális kerítések, GPS szenzorok, automatizált kapuk. Az innovatív technológiák elterjedéséhez azonban szükség van pénzügyi stabilitásra, a farmerek részéről nyitottságra és bizalomra az új fejlesztések iránt (FOGARTY és mtsai, 2018; VAINTRUB és mtsai, 2021).

Az anyajuhok esetében fontos pontosan megállapítani a természetes fedeztetéshez és a mesterséges termékenyítéshez is az ivarzás időpontját. Ezt a legtöbb esetben színes krétával oldják meg, amelyet a kosra rögzítenek és így az az anyajuhra ugrás közben az állatok hátát megjelöli. Ezt már egy elektronikus ivarzás detektáló eszköz (Alpha-Detector[®]) váltotta fel, melyet sikeresen alkalmaztak ivarzás felismerésre és a kosok libidójának mérésére. A kosok mellső lába közé hevederrel rögzített olvasó azonosítja pázás közben az anyák farkára szerelt transzpondert. Így minden egyes pázás azonosítható pontos dátummal és időponttal. Az eszközt ivarzás szinkronizáció után közvetlenül és ezt követően a természetes ciklusokban alkalmazták kötényes kosokkal, valamint természetes fedeztetés alkalmával ivarzás detekcióra és a visszaivarzók (nem vemhes állatok) azonosítására (ALHAMADA és mtsai, 2016; ALHAMADA és mtsai, 2017). Az ellés körüli időszakban a legeltetett anyajuhoknál nyakörvön használható GPS technológiát működtetnek, amely az állatok napi és óránkénti mozgása, sebessége alapján jelzi az ellés időpontját. A legelőn tartott állatok esetében a rádiófrekvenciás azonosító rendszer segíthet hozzárendelni az anyajuhokhoz a bárányaikat, ezzel könnyítve a törzskönyvezést (AQUILANI és mtsai, 2022).

A mozgást érzékelő eszközök használatával távolról figyelve is tanulmányozható az állatok viselkedése. Ezekkel a szenzorokkal nyomon követhető az állással, fekvéssel, sétával vagy legeléssel töltött idő (CAJA és mtsai, 2020). A juhászatokban mindennapi nehézséget jelent a sántaság és az ezzel járó egészségügyi és állatjóléti problémák. A sántaság korai felismerése nagylétszámú telepeken nehéz, mivel legtöbbször a vizuális megfigyelés során derülhetnek ki a lábvég betegség tünetei. Azonban ez a módszer nem minden esetben megbízható, valamint a juh, mint préda állat igyekszik a tüneteket elrejtetni az ember elől. A mozgásérzékelő detektorok lehetővé teszik, hogy az állatok mozgási viselkedése folyamatosan monitorozva legyen, ezáltal időben felismerhetővé váljon a probléma és a kezelés minél hamarabb elkezdhető legyen (KALER és mtsai, 2020).

A sántaság mellett más egészségügyi eltérés is felismerhető a mozgásérzékelő szenzorokkal. Penészes széna okozta rosszullét során az állatok nehezen mozognak, az étvágyuk csökken, folyamatosan a testsúlyát helyezés egyik lábról a másikra. A tünetek időbeni észlelése és a kezelés minél gyorsabb elkezdése növeli a beteg állatok túlélési esélyét (GURULE és mtsai, 2022). Az emésztőszervi parazitafertőzés szintén súlyos gond a legelő juhnyájban, főként a vemhes állatoknál. A parazitafertőzés mértéke összefüggésben áll a viselkedésváltozással. A fertőzött anyajuhok kevésbé mutattak nyugodt viselkedést, a fekvési periódusok száma nőtt, a fekvési periódusok hossza viszont rövidült. A magatartásváltozás értékelése lehetővé teszi az endoparazita fertőzés időbeni felismerését, így a kezelés még a romló tünetek megjelenése előtt elkezdhető. A célzott, szelektív terápiával csökkenthető a túlzott gyógyszerfelhasználás (WILLIAMS és mtsai, 2022). Ikurior és mtsai (2002) szubklinikai parazitafertőzést tudtak kimutatni bárányokban, mert az élősködő infekció hatással volt az állatok aktivitásának mértékére (IKURIOR és mtsai, 2020).

Az ellés előrejelzésével csökkenthető az anya és a bárány mortalitási kockázata. Az aktivitás és a mozgásforma változást mutat az ellés napján, összehasonlítva az ellést megelőző napok és az azt követő 7 nap során. Az ellés napján az állatok tevékenysége és a legeléssel töltött ideje nagymértékben csökkent, míg többet álltak és sétáltak, tehát az állatok nyugtalanok voltak (FOGARTY és mtsai, 2020). Fülre szerelhető szenzorok 2 órával az ellés előtt fokozott aktivitást mértek, valószínűleg a nyugtalanság és a fokozott abdominális kontrakciók miatt (GURULE és mtsai, 2021).

A lábra szerelhető adatgyűjtő eszközök közül a HOBO Pendant G pedometert alkalmasnak találták az állatok fekvési viselkedésének értékelésére. Szarvasmarhára és kiskérődzőre is megtörtént a validálás (LEDGERWOOD és mtsai, 2010; WILLIAMS és mtsai, 2021). A HOBO Pendant G eszközt az állatok egyik hátsó lábára rögzítik, amely három tengelyen (x, y, z) méri és rögzíti a gyorsulást és a dőlésszöveget 30 vagy 60 másodpercenként. Amennyiben a függőleges dőlés mértéke (y tengely) 60° alatt van, úgy az állat álló helyzetben van, míg 60° feletti elmozdulás esetén fekvési pozíciónak tekintendő (BONK és mtsai, 2013).

2.5.4. Az asszisztált reprodukciós technikák által okozott stressz hatásának vizsgálata

Az asszisztált reprodukciós technikák fejlődésével és elterjedésével egyre fontosabbá vált a különböző módszerek állatokra kifejtett hatásának vizsgálata is. Az állatokat érő stressz mértékenek meghatározása és csökkentése elengedhetetlen a gazdaságok számára. Tejlő tehenészetekben a mindennapi gyakorlat része a reprodukzív szervek manipulációja, a mesterséges termékenyítés, az embriótranszfer vagy a vemhességvizsgálat. A tanulmányozott beavatkozások közül a vaginoszkópos vizsgálat a kortizol szintben nem okozott jelentős emelkedést, míg a rektális vizsgálat és az MT kifejezett adrenokortikális hatást eredményezett (NAKAO és mtsai, 1994).

Anyajuhok esetében üres termékenyítő katéterrel cervikális inszeminációs beavatkozást végeztek és az állatokat két csoportra osztották. Az egyik csoportba azok az anyajuhok tartoztak, amelyeknél hüvelytükör segítségével az inszeminátor könnyen megtalálta a méhnyak bejáratát, míg a másik csoportban lévőknél nehézségekben ütköztek. A plazma kortizol koncentráció a beavatkozás után 30 percig mindkét csoportban magasabb volt a kontroll csoporthoz képest, de szignifikáns különbség nem mutatkozott a két kísérleti csoport eredményei között (HOUDEAU és mtsai, 2002). Szezonálisan ivarzó anyajuhokban laparoszkópos technikával vizsgálták az ovulációt az 1. és a 4. nap különbséggel. Azt tapasztalták, hogy a kos jelenléte szignifikánsan növelte az ovuláló anyajuhok számát. Az egyik kísérleti csoportban a kos jelenléte mellett 4 óránként vettek vért kortizol vizsgálat céljából, amely nem befolyásolta az LH hormon szekrécióját és így az ovulációk számát. Azonban a 4 óránként többször megismételt laparoszkópos beavatkozás során 20 anyajuhból mindössze egynél tapasztaltak LH csúcsot és ovulációt. Ebben a csoportban az ismételt laparoszkópos beavatkozás konstans magas plazma kortizol koncentrációt eredményezett ellentétben azzal a csoporttal, amelyben 4 óránként csak vérvétel történt (MARTIN és mtsai, 1981). Összehasonlították az állatoknak okozott stressz mértékét a következő esetekben: a) a juhokat laparoszkópos kocsiba fektették, b) laparoszkópos intrauterin termékenyítés történt, c) transzcervikális termékenyítést végeztek, d) felfordítható kocsiban körmölték. Kimutatták, hogy mindegyik beavatkozás emelte az állatokban a szívverések számát és a plazma kortizol koncentrációját is. Azonban nem volt különbség a kísérleti csoportok között sem az emelkedések mértékében, sem pedig az emelkedés időtartamában. Az eredmények alapján a

laparoszkópos beavatkozás nem okozott nagyobb stressz az anyajuhoknak, mint a lefogás, a körmölés vagy a transzcervikális inszemináció (KHALID és mtsai, 1998).

A szívfrekvencia változását és a plazma kortizol koncentrációját vizsgálták szintén abban a kísérletben, amelyben diazepam szedációt alkalmaztak anyajuhokon. Az egyik csoport egyedeinél a szedációt követően nem történt beavatkozás, a második csoportba tartozókat laparoszkópos kocsiba helyezték és 30°-os szögben megdöntötték 1 percre, a harmadik csoportban pedig laparoszkópos intrauterin termékenyítést végeztek. A második és harmadik csoportba tartozó állatoknál a beavatkozás hatására megfigyelhető volt egy átmeneti szív frekvencia szám emelkedés, de nem volt különbség az emelkedés mértékében. A kortizol koncentrációt vizsgálva szintén a második és a harmadik csoportban volt mérhető szignifikáns emelkedés, de a két csoport között szignifikáns különbség ebben az esetben sem volt. Diazepammal történő szedációt követően a laparoszkópos kocsiba fektetés és a laparoszkópos termékenyítés során is elhúzódóbb szívfrekvencia emelkedést tapasztaltak a szedáció nélkül végzett beavatkozásokhoz képest. Diazepam alkalmazása során mind a két beavatkozás esetében kisebb mértékű volt a kortizol koncentráció emelkedés, mint a szedáció nélküli csoportokban. Megállapították, hogy laparoszkópos termékenyítés nem okozott nagyobb stresszt az állatok számára, mint az ahhoz szükséges lefogás, illetve a diazepam alkalmazása előnyös lehet a stressz mérséklésére (HARESIGN és mtsai, 1995).

Az embriók kinyerésére használható sebészi és transzcervikális módszer is befolyásolja az állatjóllétet. Santos és mtsai (2020) vizsgálatában a transzcervikális technika gyorsabbnak és eredményesebbnek bizonyult, mint a laparotómiás beavatkozás. A transzcervikális módszer esetében közvetlenül az embriókinyerés után a szívfrekvencia magasabb volt az élettani értéknél, míg a laparotómiásnál ez 12 és 24 órával a beavatkozás után volt észlelhető. A sebészi beavatkozás magasabb szérumban kortizol koncentrációt eredményezett a műtét alatt és utána 1 óráig keresztül. A transzcervikális módszernél ugyan kisebb volt a kortizol koncentráció emelkedés mértéke, de elhúzódóbb volt a csökkenés. A transzcervikális technika - bár kevésbé invazív beavatkozás - a méhnyak manipulációja miatt fájdalmat okozhat az állatoknak, ezért a megfelelő fájdalomcsillapításra ennél a technikánál is figyelni kell (SANTOS és mtsai, 2020). A laparotómiás és transzcervikális embriókinyerés élettani hatása a gyulladáshoz vezető mediátorok esetében is megmutatkozik, hiszen emelkedést mutatott a haptoglobin, mint pozitív akut fázisú protein és 9 nappal később az összfehérje szintje is (OLIVEIRA és mtsai, 2018).

Kecskékben vizsgálták ivarzás szinkronizációt követően a természetes fedeztetés és a cervikális MT eredményességét, valamint a szervezetből kiváltott stresszhatást. Az eredmények alapján a természetes fedeztetés és az MT is molekuláris stresszválaszt váltott ki a szervezetből, mivel emelkedett a szuperoxid-dizmutáz, a malondialdehid, a kataláz és a glutation-peroxidáz aktivitása és a neutrofil granulocyták száma. A természetes fedeztetéshez viszonyítva az emelkedés jelentősebb volt az MT során, mindemellett az eredményesség csökkent. Ez az akut fázisú sejtválasz trauma, infekció vagy gyulladás miatt alakulhat ki (HUMAIDA és mtsai, 2022). A juhtenyésztőknek MOET programok során - megelőzve a felesleges költségeket és az állatoknak ért stresszt - érdemes a szuperovuláció eredményességét (sárgatestek számát) ellenőrizni laparoszkóppal, mielőtt elvégzik az embriókinyerést (BRUNO-GALARRAGA és mtsai, 2015).

A laparoszkópos minimál invazív technikánál is fontos, hogy a megfelelő anesztéziát és fájdalomcsillapítást válasszuk. Az acepromazin kiegészítése ketoprofennel csökkentette a plazma kortizol szintjének emelkedését, összehasonlítva az acepromazin önmagában történő alkalmazásával. A detomidin a laparoszkópos beavatkozásokhoz jó választásnak bizonyul fájdalomcsillapító és szedatív hatása miatt, mivel a vizsgálat során megakadályozta a kortizol szint emelkedését a juhokban (STAFFORD és mtsai, 2006). Kecskében az α -2 agonisták (xylazine, detomidin, medetomidin, dexmedetomidin) adása csökkentette a szérum kortizol koncentrációját laparoszkópos embrió transzfert követően a kontroll csoporthoz képest. Az egyes hatóanyagok között nem találtak különbséget. Sőt, az α -2 agonisták adása során magasabb volt a vemhességi százalék (AGHAMIRI és mtsai, 2022). A megfelelő anesztézia mellett fontos a peri- és posztoperatív fájdalomcsillapítás is. Az opioidok hatásos fájdalomcsillapítónak bizonyulnak kiskérődzőkben, kifejezetten alkalmasak a viscerális fájdalom csökkentésére, azonban hatásuk általában rövid ideig tart (pl. morfin, fentanil, butorfanol). A nem szteroid gyulladáscsökkentő gyógyszerek (NSAIDs) hatása hosszú, így posztoperatív fájdalomcsillapítónak használják (pl. flunixin meglumin, fenilbutazon, ketoprofen, meloxicám). Emellett a lidokain jól alkalmazható lokális, vezetéssel vagy epidurális érzéstelenítésre (GALATOS, 2011). Sebészi embriókinyerést követően rögtön, valamint 24 és 48 órával adott flunixin vagy flunixin és dipiron kombinációjának hatását vizsgálták Balistrieri és mtsai (2023). A kombinációban adott nem szteroid gyulladáscsökkentők az operáció után 24 órával mérsékeltek a kortizol koncentrációt, valamint rövidült az evés megkezdéséig eltelt idő is. A flunixin és dipiron kombinációja az eredmények alapján

jobb fájdalomcsillapítást biztosított az anyajuhoknak, mint a flunixin önmagában alkalmazva (BALISTRIERI és mtsai, 2023). Nem sebési embriókinyerés során a meloxicám nem, a meloxicám és dipirone kombinációja pedig kevésbé volt hatásos fájdalomcsillapító a beavatkozás után (RIBEIRO és mtsai, 2023).

Transzcervikális mesterséges termékenyítésnél a 0,75 mg/kg dózisban szubarachnoidálisan adott ketamin csökkentette a fájdalommal járó tüneteket juhban (pl. vokalizáció, hasi kontrakciók) és növelte a vemhességi százalékot (CARNEIRO és mtsai, 2019).

Kecskebakokban végzet elektroejakuláció során vizsgálták az anesztézia és a szedáció hatását (ketamin és xilazin kombinációval). A szérum kortizol szintet és a fekvési viselkedést összehasonlították azzal a csoporttal, amelyek nem kaptak szedatív szereket. A szérum kortizol koncentráció a beavatkozás hatására minden csoportban emelkedett volt az elektroejakuláció utáni 1 órában a beavatkozás előtti értékhez képest és nem volt különbség a csoportok között. A fekvés gyakorisága és időtartama a szedált csoportokban magasabbnak mutatkozott, mint a kezeletlen csoportban. Emellett a kezelt csoportokban lévő állatok között kevesebb volt a vokalizáció és kevésbé mutatták a fájdalom jeleit (ABRIL-SÁNCHEZ és mtsai, 2018).

2.6. A mesterséges termékenyítést befolyásoló tényezők

2.6.1. Meteorológiai paraméterek

A mérsékelt égövi területen a juhok fő ivarzási szezonja ősztől kora tavaszig tart (ZÖLDÁG, 2012). Aszezonális fajtában (pl. Romanov) termékenyülés az év minden időszakában előfordulhat. A tapasztalatok azt mutatják azonban, hogy a mérsékelt égövi éghajlaton az aszezonálisan ivarzó fajták esetében is magasabb a szexuális aktivitás az őszi szezonban (szeptember-november). A szezon mellett a reprodukciós teljesítményt befolyásolhatja a hőmérséklet, a csapadék mennyisége és a napsugárzás mértéke (solar radiation- SR) is (ĐURIČIĆ és mtsai, 2022). A klimatikus tényezők és a telepek elhelyezkedése nagy hatást gyakorolnak az állomány produkciójára. A környezeti hőmérséklet és a csapadékviszonyok meghatározóak például a takarmány ellátásban, a parazitás fertőzöttségben vagy egyes betegségek terjedésében is (LAMY és mtsai, 2012). Emellett az éghajlati zónának és az időjárásnak szintén hatása lehet a termékenységre és a mesterséges termékenyítés sikerességére. Mérsékelt óceáni éghajlaton, amikor a

környezeti hőmérséklet magasabb volt a júniusi és júliusi hónapokban, a rasa aragonesa és churra juhajtókban magasabb volt vemhesség aránya cervikális mesterséges termékenyítést követően. Hideg félszáraz éghajlaton és meleg nyári mediterrán éghajlaton azonban ennek az ellenkezőjét tapasztalták (ABECIA és mtsai, 2017). Florida fajtájú kecskében jobb vemhességi százalékokat értek el akkor, amikor a mesterséges termékenyítés napján mért meteorológiai paraméterek közül a középhőmérséklet és a maximum hőmérséklet (Tmax) magasabb volt az átlagostól. Emellett az egyes évszakokban befolyásoló tényezőt jelentett a minimum hőmérséklet (Tmin) és a csapadék mennyisége is (ARRÉBOLA és mtsai, 2016). Szintén Spanyolországban, payoya fajtájú kecskében és rasa aragonesa fajtájú juhokban tavasszal végzett mesterséges termékenyítések elemzése során azt az eredményt kapták, hogy a sikeres termékenyítések idejében magasabb volt az átlagos, a minimum és a maximum hőmérséklet, valamint a napsugárzás értéke. Kecskében a sikeres termékenyítést erősítette az inszemináció napján alacsonyabb páratartalom (RH) és hőmérséklet-páratartalom index (THI), juhokban pedig a magasabb THI. Súlyos hőstressz ($THI \geq 90$) hatására azonban jelentősen csökkent a reprodukciós teljesítmény juhokban (ABECIA és mtsai, 2016a).

Palacios és Abecia (2015) a laparoszkópos mesterséges termékenyítés napján és azt követően 15 napig monitorozták az időjárási paramétereket, majd összehasonlították az inszemináció sikerességével. Az eredmények alapján elmondható, hogy az egyes évszakokban a meteorológiai paraméterek eltérő hatással bírnak. Így például az MT akkor volt sikeresebb, ha a tavaszi és téli időszakban a Tmin magasabb volt, a nyári hónapokban azonban alacsonyabb az átlaghoz viszonyítva. A SR esetében a tavaszi és nyári hónapokban inkább az alacsonyabb napsugárzás hozott jobb eredményeket, míg télen a magasabb (PALACIOS és ABECIA, 2015).

2.6.2. Holdfázis

A holdciklus változása hatással van a mezőgazdaságra és az állattenyésztésre is. Az állattenyésztésen belül befolyásolhatja többek közt az MT sikerességét. Juhok esetében ivarzás szinkronizációt követően, a laparoszkópos inszemináció során a termékenységek (ellések száma/termékenyített anyajuh) az újhold idejében volt a legmagasabb (természetes ivarzás során pedig a legalacsonyabb). A termékenyített anyajuhokra jutó bárányok száma az újhold és a fogyó hold időszakában volt a legtöbb. Így a holdfázis hatással volt a született bárányok számára, de ez a hatás eltérő lehet az ivarzás típusától

függően (PALACIOS és ABECIA, 2014). A holdfázis azonban nem befolyásolta a bárányok születési idejét (PALACIOS és ABECIA, 2011).

A tehenek ivarzási viselkedésére hatással lehet a holdfázis, mivel újhoid és telihoid során magasabb volt a detektálható ivarzások száma, így több inszeminációt tudtak végezni (SUBRAMANIAM és mtsai, 1991). Kancák esetében a telihoidat követően nőtt a párzások száma (KOLLERSTROM és POWER, 2000).

A holdfázis és a szezon befolyásolhatja a születendő utódok nemét is. Kuttyák esetében a szezon nem volt hatással a kölykök nemének arányára, azonban azt tapasztalták, hogy az újhoid idején történt termékenyüléskor szignifikánsan kevesebb kan kutya született, mint telihoid idején (ALBERGHINA és mtsai, 2021). Juhok esetében a tavaszi és téli termékenyülések során magasabb arányban születtek kos bárányok, mint azoknál az elléseknél, ahol a bárányok ősszel vagy nyáron fogantak. Az összefüggéseket vizsgálták tehenek, kecskék és sertések esetében is, de nem találtak kapcsolatot az utódok nemének aránya és a szezon, valamint a holdfázis között (ABECIA és mtsai, 2016b).

2.6.3. Szaporodásbiológiai menedzsment

A mesterséges termékenyítés eredményességét számos tényező befolyásolja, például a felhasznált sperma mennyisége és minősége, az ivarzás szinkronizáció protokollja, a termékenyítés módja, anyai és környezeti hatások (SPANNER és mtsai, 2024). Friss sperma eredményesen alkalmazható hüvelyi vagy cervikális termékenyítéshez, fagyasztott sperma esetében azonban a laparoszkópos vagy transzcervikális intrauterin inszemináció szükséges. Hüvelyi termékenyítéshez 0,2 ml, 400×10^6 motilis spermiumot tartalmazó örökítőanyag javasolt. Transzcervikális vagy intracervikális technika esetében minimum 200×10^6 motilis spermium ajánlott 0,2 ml mennyiségű spermában. Laparoszkópos technikánál szükséges a legkevesebb mennyiségű sperma, 0,05 ml, ami legalább $20\text{-}30 \times 10^6$ spermiumot tartalmaz (FAIGL és mtsai, 2012). A február és május között gyűjtött sperma használatával eredményesebb volt a termékenyítés, mint a nyári vagy kora téli időszakban vett esetében (HILL és mtsai, 1998).

Az ivarzás szinkronizáció alapja a sárgatest működésének befolyásolása (progeszteronnal és analógjaival vagy PGF2 α és analógjaival) kiegészítve egyéb hormonokkal (pl. eCG). A mesterséges termékenyítés előtt alkalmazott ivarzás szinkronizációnak számos protokollját használják, mely különbözik a hatóanyagokban, a használat módjában és az adott hormonok mennyiségében. Ezek a protokollok befolyásolhatják a vemhességi

százalékot és a bárányozási rátát (OZYURTLU és mtsai, 2010; MARTINEZ-ROS és mtsai, 2019; GAROUSSI és mtsai, 2020; GONZALES-BULNES és mtsai, 2020).

A termékenyítés időpontja függ a szinkronizációs protokolltól, a termékenyítés módjától és a sperma típusától, de általában a progesztagén forrás eltávolítását követően 48-60 órára tehető (SPANNER és mtsai, 2024). Laparoszópos mesterséges termékenyítéshez az optimális időpont Maxwell (1986) szerint a progesztagén forrás eltávolítása utáni 60-72 óra (MAXWELL, 1986). Casali és mtsai (2017) kutatásai alapján a cervikális, transzcervikális és laparoszópos termékenyítés esetében is az 54. órában történő inszemináció eredményesebb volt, mint a 48. órában végzett (CASALI és mtsai, 2017). További eredmények szerint a laparoszópos termékenyítés eredményesebb, ha azt friss sperma esetében 52-60, fagyasztott sperma esetében 54-60 órával a szivacs kivételét követően végzik (GOURLEY és RIESE 1990; FINDLATER és mtsai, 1991). A termékenyítési időpont kiválasztásánál figyelembe kell vennünk a használt sperma típusa és a módszer mellett a juhok fajtáját is (KARAGIANNIDIS és mtsai, 2001).

Az anyai hatások közül fontos megemlíteni az anyák életkorát, mint az MT eredményességét befolyásoló tényezőt. Az ovulációs ráta és a szaporaság (született bárányok száma/ellések száma) kedvezőbb volt a 2,5 év fölötti anyák esetében, mint a 1,5 éveseknél (KLEEMANN és WALKER, 2005). Rambouillet fajtában 1 éves kor alatt a bárányok korának növekedésével nőtt a vemhesség valószínűsége is (GASKINS és mtsai, 2005). Az anya életkora befolyásolta a született bárányok számát. A 2 és 6 éves anyákban szignifikánsan alacsonyabb volt az alomnagyság, mint a 3, 4 és 5 éveseknél. Az ovulációs ráta 2 éves kor után jelentősen emelkedett, az embriók túlélése pedig 3 éves korban volt a legmagasabb (SHORTEN és mtsai, 2013). Anel és mtsai (2005) vizsgálatai alapján a legjobb fertilitással a 1,5 és 4,5 év közötti anyák rendelkeznek (ANEL és mtsai, 2005). A 3 és 6 év közötti anyákban az 5 éves anyajuhok bizonyultak a legtermékenyebbnek, mivel ebben a korcsoportban volt a legmagasabb az ikerellések aránya (NARAYAN és mtsai, 2021).

Kecskék esetében a 6 év feletti mutatták a legmagasabb fertilitást. A többször ellett kecskéknél szintén magasabb volt a vemhességi százalék, mint azoknál, amelyeknek mindösszesen egy ellése volt. Tendencia mutatkozott abban, hogy az utolsó ellés és a mesterséges termékenyítés között eltelt idő hossza befolyásolja a termékenyítés sikerességét (212 nap feletti intervallum esetében volt a legmagasabb a fertilitás) (ARRÉBOLA és mtsai, 2014). Szintén kecskéknél az egyszer ellett anyáknál, valamint azoknál, amelyeknél 150 napnál kevesebb idő telt az ellés és a termékenyítés között

rosszabb vemhességi eredmények születtek (ARRÉBOLA és mtsai, 2016). Szezonon kívül végzett ivarzás szinkronizációt követően az egyszer ellett anyajuhoknál eredményesebb volt a reprodukciós teljesítmény, ha a párzás 75 helyett 90 nappal az ellés után történt (GOULET és CASTONGUAY, 2002). Laparoszópos mesterséges termékenyítés során rosszabb fertilitási eredményt mutattak azok az anyajuhok, amelyeknél 10 hétnél kevesebb idő telt el az ellés és az MT között (ANEL és mtsai, 2005). Amennyiben egy óra alatt több anyajuh laparoszópos inszeminálását végezték el, úgy magasabb volt a vemhességi százalék, amely magyarázható az operátor gyakorlottságával, valamint csökkent a stressz mértéke az állatokban. Gyorsítható a folyamat, ha megfelelő számú munkaerő, eszköz áll a rendelkezésünkre és nem lépnek fel műtétet nehezítő körülmények (HILL és mtsai, 1998).

Befolyásoló tényezőként tartják számon a tápanyag ellátottságot. A 2,5-3,5 közötti Body Condition Score (BCS) optimális a termékenyítésre. Így fontos a megfelelő minőségű takarmány és víz biztosítása, valamint szükség esetén táplálékkiegészítők adása (AMIRI és RAHIM, 2024; SPANNER és mtsai, 2024).

2.7. Az ile de france juh fajta bemutatása

Az ile de france egy francia eredetű, hús típusú juh fajta, amely a Rambouillet és a Dishley Leicester fajták keresztezéséből alakult ki az 1920-as években. Ma már az egyik legelterjedtebb hús típusú fajta Európában. A hús típusú fajták pozitív jellemzői a korai érés, magas termékenység és a szezonon kívüli ivarzás. Az aszezonális ivarzás lehetővé teszi, hogy az évi 1 bárány helyett intenzív nevelésben évente 2 ellés történjen. A bárányokra a gyors növekedési erély jellemző, mely gazdaságilag előnyös a tenyésztők számára. A bárányok intenzív növekedése kb. a 100-120. napig tart. Az ile de france húsára jellemző, hogy nagyon ízletes és márványozott, jellegzetes szagoktól mentes (ACHKAKANOVA és STAYKOVA, 2019; SLAVOVA és ACHKAKANOVA, 2021). Kiváló a legelő és az alkalmazkodó képessége. A gyapjú 6-8 cm hosszú lehet és 25-30 mikron finomságú. A felnőtt anyajuhok testsúlya 70-90 kg között változik, a kosoké eléri a 100-130 kg-t. Szaporaságára jellemző a 130-170% (KUKOVICS, 2022). A magyar juhtenyésztésnek a legfőbb bevételét a bárányok exportja teszi ki. Azonban, ha versenyképes akar maradni a piacon, szükséges a fejlődés a hústermelésben, legyen szó súlygyarapodásról, vágáskori testtömegről vagy a vágási paramétereikről. A magyar fajták, például a magyar merinó esetében külföldi juh fajtákkal történő keresztezéssel

lehet fejlődést elérni. A magyar merinó és az ile de france keresztezéséből született bárányok hizlalási teljesítménye (358 g/nap) és a vágás során az értékes hús aránya (77,76%) kiemelkedő volt. Így az ile de france fontos keresztezési partner is a magyar juhtenyésztésben a hústermelés fejlesztésében (PAJOR és mtsai, 2009).

3. ANYAG ÉS MÓDSZER

3.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során

3.1.1. 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 szakmai 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 betegsége 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.

3.1.2. 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 érintkezhetnek és ekkor még ad libitum széna és víz állt rendelkezésükre a napi kétszeri abraketéssel együtt (3. kép). 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. 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 2 nappal korábbi izoláció pedig azért 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.



3. kép: Recipiens anyajuhok egyedi karámban
(forrás: Saját fotó, 2023)

3.1.3. 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[®], Reprobiol 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 0,02 mg GnRH (5 ml Receptal[®], MSD Animal Health, France) i.m. injekciót kaptak a donorok. A termékenyítés friss vagy fagyasztott sperma felhasználásával laparoszko-pos 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 (4. kép). A kinyert embriókat mikroszkóp alatt értékeltük, majd a recipiens anyajuhokba ültettük (5. kép).



4. kép: Sebészi embriókinyerés (forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2023)



5. kép: Embriók és petesejt mikroszkópos képe (forrás: Saját fotó, 2023)

A recipiens anyajuhokat véletlenszerűen osztottuk 3 csoportba. Az első csoportba kerülő recipiensek esetében laparoszkópos (n=15) embriótranszfer 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 pozícióba (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 kezdtünk 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 (6. kép). 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.

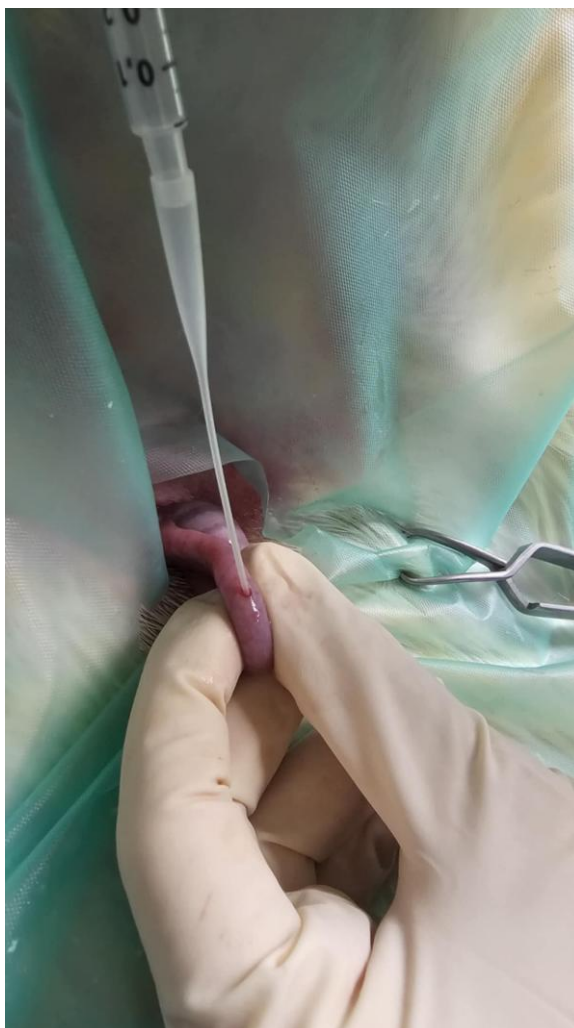
Eközben a beültetésre váró embriót 0,25 ml-es műszalmába töltöttük, az embrió előtt és mögött egy-egy levegőbuborékot hagyva, hogy ellenőrizni tudjuk a beültetés sikerességét. A műszalmát termékenyítő katéterbe helyeztük (Aspic[®], IMV, France). Az inszemináló katétert a trokaron keresztül bevezettük és a sárgatesttel ipszilateralis méhszarv petefészek 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.



6. kép: Laparoszkópos embriótranszfer
(forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2023)

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 (7. kép). A méhszarv petevezető felőli harmadában egy tompa végű szondával lyukat készítettünk, melyen 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.



7. kép: Fél-laparoszkópos embriótranszfer
(forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2023)

3.1.4. 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) (8. kép). 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 engedték, hogy 20 másodpercig rágják, annak érdekében, hogy a tampon kellően átitatódjon nyálmintával. A tamponokat visszahelyezve a műanyag tartójukba, azonnal 4 °C-ra hűtöttük, és hűtve szállítottuk a laborba. A tamponokat 3000 g fordulatszámon, 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: kortizol: 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).



8. kép: Nyálminta centrifugálást követően (Sailvette Cortisol, Sarstedt GmbH, Nümbrecht-Rommelsdorf, Germany)
(forrás: Saját fotó, 2023)

3.1.5. A fekvéssel és az 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 (9. kép). 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.



9. kép: Pedométer felszerelése a jobb hátsó lábra
(forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2023)

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

3.2.1. 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 abraktakarmányt 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.

3.2.2. 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 pozícióban 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 (10. kép). 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 bárányokkal számoltunk (11. kép).



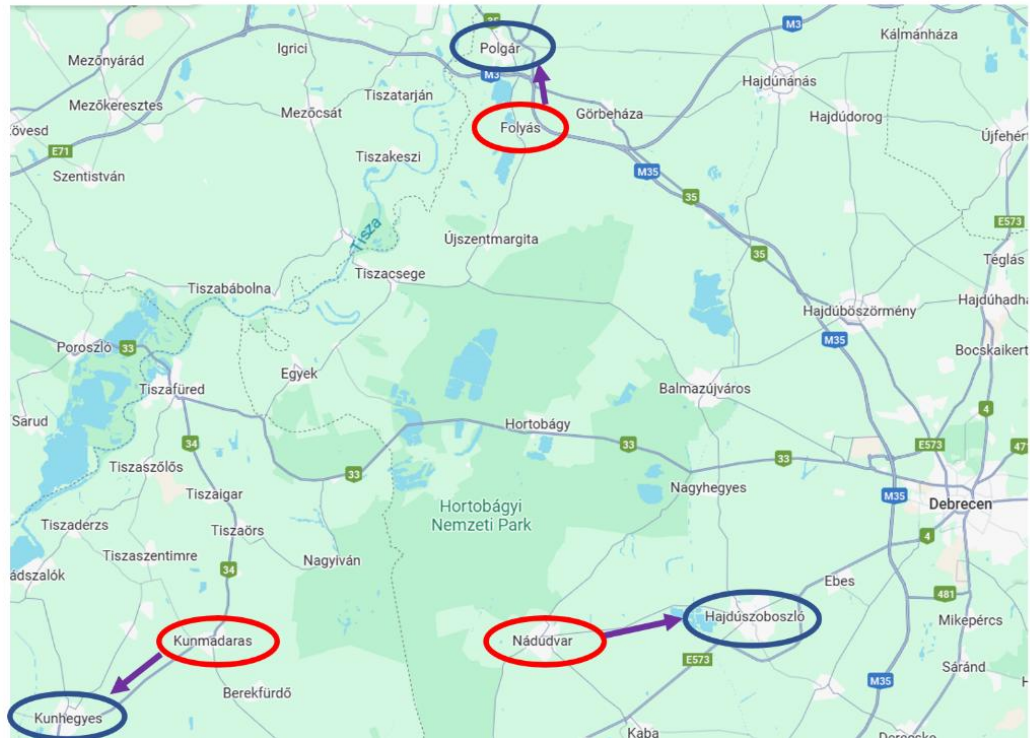
10. kép: Laparoskopos termékenyítés fagyasztott spermával
(forrás: Pálfyné Vass Nóra, 2022)



11. kép: Laparoszko­pos mesterséges termékenyítésből született ile de france bárány (forrás: Harangi Sándor, 2022)

3.2.3. 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) (1. ábra).



1. ábra: Ile de france telepek (kék kör) és a hozzájuk tartozó meteorológiai állomások (piros kör)
(forrás: Saját szerkesztés, 2025)

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

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

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

3.2.4. 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 bérány leválasztás után hány nappal történt a termékenyítés, az adott beavatkozás hányadik mesterséges termékenyítése az anyának, valamint amennyiben volt megszületett béránya, az természetes fedeztetéssel vagy mesterséges termékenyítést követően fogant. Az adatokat a juhtenyésztő telepek saját telepírányítási rendszereiből gyűjtöttük ki és rendszereztük Excel táblázatban.

3.3. Statisztikai elemzés

A statisztikai vizsgálatainkat az R statisztikai (R version 4.4.1 -- "Race for Your Life") végeztük. A fekvési viselkedésváltozáshoz párosított t-próbát alkalmaztunk. 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 probit analízist és ANOVA modellt (ALBERGHINA és mtsai, 2021) alkalmaztunk.

4. EREDMÉNYEK ÉS AZOK ÉRTÉKELÉSE

4.1. Stresszvizsgálat embrióátültetés során

4.1.1. A nyál kortizol koncentráció változásának eredményei

A statisztikai elemzésben csak azoknak az állatoknak a kortizol eredményei szerepelnek, amelyekről 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:

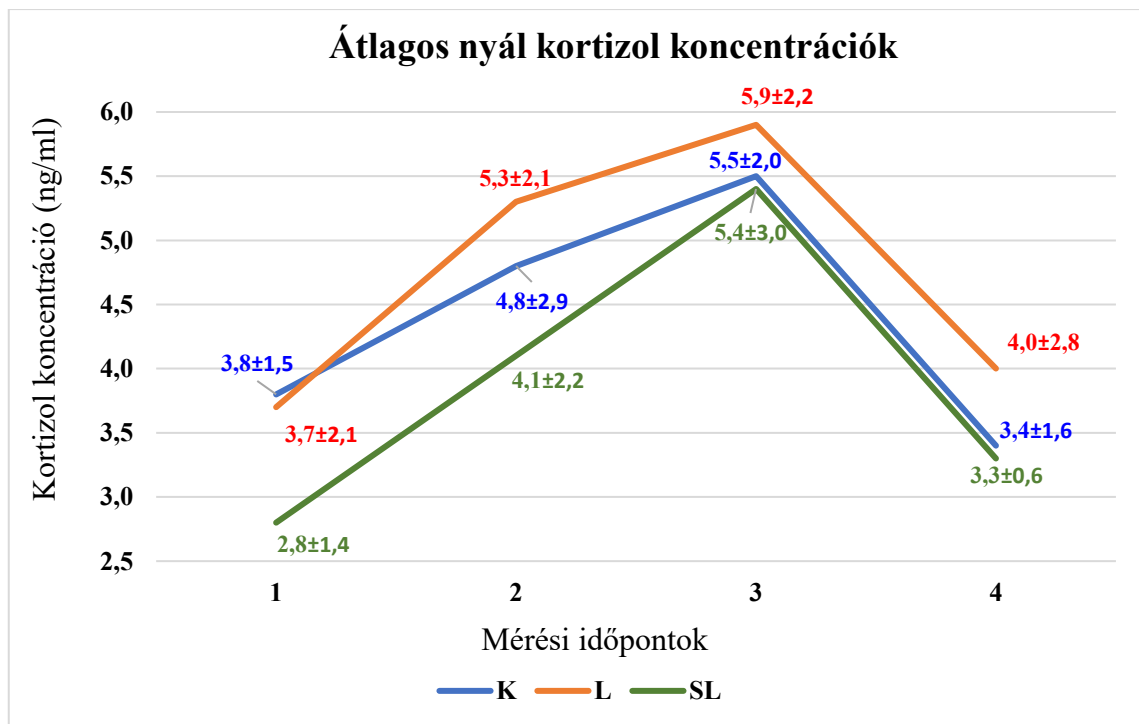
1. beavatkozás napján reggel
2. 1 órával a beavatkozás után
3. 2 órával a beavatkozás után
4. 24 órával a beavatkozás után

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 (2. 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 modell alapján a mérési időpontok befolyásolják szignifikánsan a kortizoltartalmat. Az összes csoport 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 (5. melléklet). 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.



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

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

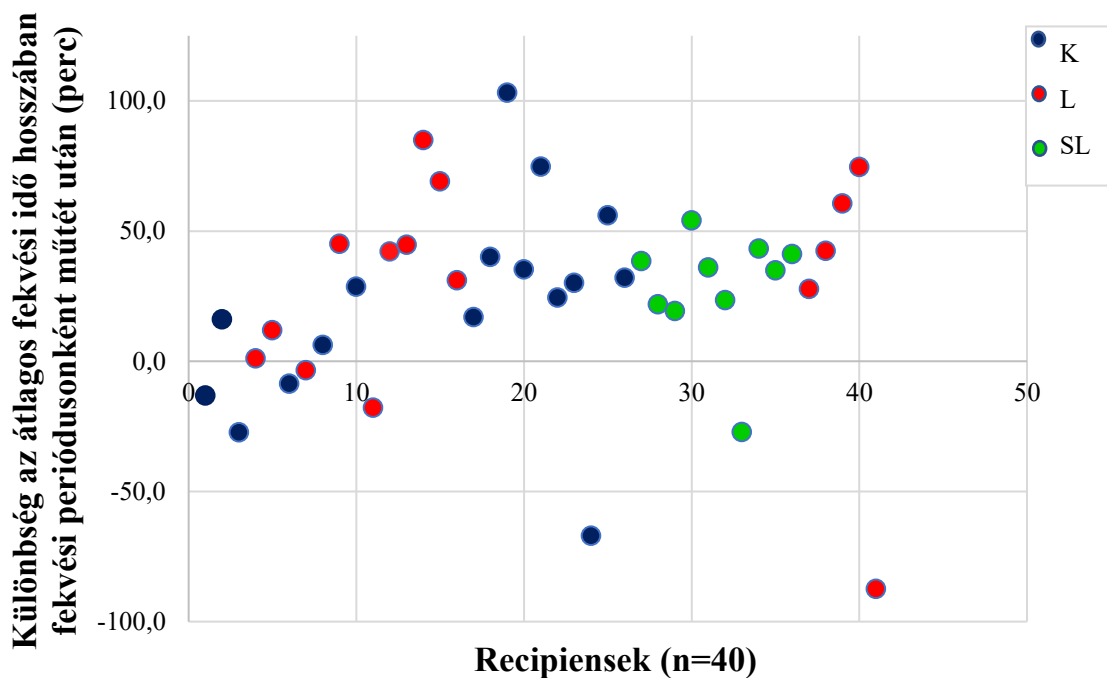
Juhok esetében a mindennapi rutin beavatkozások (lefogás, nyírás, fürdetés) is stresszel járnak. A stresszhatásra adott válasz (pl. kortizol szint emelkedés) azonban egyenként eltérő lehet (KILGOUR és LANGEN, 1970; HARGREAVES és HUTSON, 1990). Az eredményeinkben látható, hogy az első mintavételi időpontban, ahol még nem történt beavatkozás egyik csoportban sem, (nem szignifikáns) eltérés van a nyál kortizol koncentrációban. Ennek oka, hogy az egyedek között különbség lehet az izoláció és az éheztetés okozta válaszreakcióban, melynek hátterében állhat az egyéni vérmérséklet, a

kor vagy a korábbi tapasztalatok is. Mivel a vérvétel is a stresszfaktorok közé tartozik, ezért kísérletünk során a nem invazív nyálminta gyűjtést és nyál kortizol koncentráció mérését választottuk. A nyál kortizol koncentráció jól használható juhokban a stressz mértékének monitorozására, azonban kevesebb traumával jár az állatok számára, így jó alternatívája a szérum kortizol koncentráció mérésének (YATES és mtsai, 2013; ANDANSON és mtsai, 2020). 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 nem volt szignifikánsan magasabb, mint a kontroll csoportba tartozó egyedek eredményei. Ez alapján a szakirodalomhoz hasonlóan megállapíthatjuk, hogy a laparoszkópos és a fél-laparoszkópos beavatkozások nem okoztak magasabb stresszt az állatoknak a kortizol mérések alapján, mint a műtéti kocsiban történő rögzítés.

4.1.2. A fekvéssel és az állással töltött idő változása

A beavatkozás előtti és utáni 24 órában mért teljes fekvéssel töltött idő, a minimum és maximum fekvési idő, a fekvési periódusok száma, az átlagos fekvési idő fekvési periódusonként paraméterek eredményeit a 2. táblázat foglalja össze (2. táblázat). 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:

$p=0,0029$) (6. melléklet). Ez az emelkedés a kísérleti csoportokban volt hangsúlyosabb (K: 54%; L: 110%; SL: 110%). A 3. 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 (3. ábra). Ezzel párhuzamosan változott a fekvési periódusok száma (lefekvés-felállás száma), amely szignifikánsan csökkent minden csoportban (K: $p=0,032$; L: $p=0,022$; SL: $p=0,03$) (7.melléklet). A fekvési periódus számok csökkenésének mértékében nem volt számottevő különbség a csoportok között (K: 31%; L: 39%; SL: 40%).



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

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. Az így kapott eredményeket a 3. táblázat foglalja össze (3. táblázat).

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. táblázat: Fekvési viselkedésváltozás a beavatkozás előtti és utáni 24 órában

Periódusok Viselkedés	Kontroll		Laparoszkóp		Fél-laparoszkóp	
	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után
Teljes fekvési idő (perc)	431,0 ± 285,5	470,2 ± 262,2	494,3 ± 311,1	554,8 ± 251,8	323,6 ± 138,2	361,3 ± 145,3
Fekvési periódusok száma	10,9 ± 6,8**	7,5 ± 3,3**	14,2 ± 9,3**	8,6 ± 5,2**	11,3 ± 4,9**	6,8 ± 3,5**
Fekvési periódusok átlagos hossza (perc)	40,7 ± 27,0**	62,7 ± 20,3**	35,5 ± 21,9**	73,2 ± 30,6**	26,5 ± 11,0**	55,1 ± 14,5**
Fekvési periódusok minimum hossza (perc)	6,6 ± 9,0*	16,0 ± 19,3*	3,8 ± 5,4**	21,5 ± 18,2**	5,4 ± 7,6	7,5 ± 7,3
Fekvési periódusok maximum hossza (perc)	106,8 ± 98,7	138,9 ± 83,8	99,8 ± 61,5**	147,3 ± 63,5**	57,6 ± 17,3**	124,2 ± 24,0**

Megjegyzés:

* szignifikáns változás a műtét előtti és utáni 24 óra összehasonlításakor (p<0,05)

** szignifikáns változás a műtét előtti és utáni 24 óra összehasonlításakor (p<0,01)

3. táblázat: A fekvési viselkedésváltozások a műtét előtti és utáni 24 órában (kivéve a műtét utáni 1 órát)

Periódusok Viselkedés	Kontroll		Laparoszkóp		Fél-laparoszkóp	
	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után	Beavatkozás előtt	Beavatkozás után
Teljes fekvési idő (perc)	444,0 ± 66,1	458,0 ± 66,1	541,0 ± 73,9	531,0 ± 73,9	357,0 ± 80,9	289,0 ± 80,9
Fekvési periódusok száma	10,8 ± 1,6*	7,1 ± 1,6*	14,6 ± 1,8*	8,3 ± 1,8*	12,1 ± 1,9*	5,4 ± 1,9*
Fekvési periódusok átlagos hossza (perc)	41,5 ± 6,6*	65,2 ± 6,6*	40,0 ± 7,4*	75,3 ± 7,4*	28,5 ± 8,1*	57,9 ± 8,1*
Fekvési periódusok maximum hossza (perc)	110,0 ± 19,1	137,0 ± 19,1	116,0 ± 21,4	149,0 ± 21,4	61,7 ± 23,4	118,0 ± 23,4

Megjegyzés:

* szignifikáns változás a műtét előtti és utáni 24 óra összehasonlításakor (p<0,05)

A lábra szerelhető aktivitásmérőkkel jól lehet monitorozni a normál állási, fekvési és viselkedési (pl. legelés) paramétereket (BARWICK és mtsai, 2018a). Ezek a szenzorok a fent említett paraméterek folyamatos monitorozásával jelzést adhatnak az állatok egészségi állapotáról és annak változásáról is (pl. sántaság) (BARWICK és mtsai, 2018b). Penészes szénával történő etetés után, a tünetek megjelenésével csökkent a juhok aktivitása, így aktivitásmérőkkel korán jelezhető a betegség (GURULE és mtsai, 2022). 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.

4.2. A mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők vizsgálata

4.2.1. 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 báránya, 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 (8. melléklet). A táblázatban szereplő 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 (Tmin1) és az átlag hőmérsékletnek (Tát1) (0,69),
- a relatív páratartalomnak (Rh1) és az átlag hőmérsékletnek (0,69),
- a csapadékmennyiségnek (Prec1) és az átlag hőmérsékletnek (0,51),
- a csapadék mennyiségnek és a relatív páratartalomnak (0,52).

A termékenyítés utáni időszakban szintén közepesen szoros összefüggést mutat a minimum (Tmin2) és a maximum hőmérséklet (Tmax2) (0,74).

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

- a maximum hőmérséklet (Tmax1) és az átlag hőmérséklet (Tát1) (0,88),
- a relatív páratartalom (Rh1) és a minimum hőmérséklet (Tmin1) (0,87).

A termékenyítés utáni időszakban ugyancsak nagyon szoros összefüggést mutat:

- a maximum hőmérséklet (Tmax2) és az átlag hőmérséklet (Tát2) (0,96),
- a minimum hőmérséklet (Tmin2) és az átlag hőmérséklet (Tát2) (0,87).

A termékenyítés előtti négy napban az a tendencia figyelhető meg, hogy a Tmin1 varianciájában a szélsőséges változás negatívan befolyásolja a vemhesülés valószínűségét ($p=0,0692$). A termékenyítés utáni 40 napban szignifikáns összefüggéseket találtunk. A Tmax2 és a Tmin2 esetében is a hőmérsékleti variancia növekedése csökkenti a termékenyülés valószínűségét (Tmax: $p=0,0472$; Tmin: $p=0,033$). Statisztikailag igazolható összefüggést mutat továbbá a Tát2 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 utáni időszakban (4. táblázat).

4. táblázat: A meteorológiai paraméterek hatásának vizsgálata a vemhesség valószínűségére

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	2,805921	2,105826	1,332	0,1827
Tmax1	-0,06081	0,071841	-0,847	0,3972
Tmin1	-0,122089	0,067178	-1,817	0,0692*
Rh1	0,003900	0,003444	1,132	0,2575
Prec1	0,004789	0,028968	0,165	0,8687
Tát1	0,102114	0,137459	0,743	0,4576
Tdif1	-0,071124	0,062861	-1,131	0,2579
Tát2	0,469293	0,200171	2,344	0,0191**
Tdif2	-0,020600	0,124912	-0,165	0,8690
Tmax2	-0,217182	0,109445	-1,984	0,0472**
Tmin2	-0,313672	0,147088	-2,133	0,0330**
Rh2	0,006523	0,005428	1,202	0,2295
Prec2	0,005421	0,065041	0,083	0,9336

$$\hat{Y} = b_0 + b_{Tmax1} + b_{Tmin1} + b_{Rh1} + b_{Prec1} + b_{Tát1} + b_{Tdif1} + b_{Tát2} + b_{Tdif2} + b_{Tmax2} + b_{Tmin2} + b_{Rh2} + b_{Prec2}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

* p<0,1; ** p<0,05

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 használatakor 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). A szezonon belüli MT eredményessége függhet a használt fajtától és még szezonon belül is a termékenyítés időpontjától (BERG és AAMDAL, 1991). A szakirodalomban leírtak alapján jól látható, hogy a kutatók eltérő eredményeket tapasztaltak. Befolyásoló tényező a termékenyítés időpontjának megválasztásánál a fajta és annak eredete, valamint a tartási hely klimatikus jellemzői. Ile de France fajtában magyarországi, mérsékeltövi nedves kontinentális éghajlaton a tavaszi laparoszkópos termékenyítések bizonyultak sikeresebbnek fagyasztott sperma felhasználása esetén.

Santolaria és mtsai (2014) megfigyelték az MT előtti 12 és utáni 14 napban a csapadék mennyiség, a páratartalom és a hőmérséklet-páratartalom index paramétereket, azonban ezeknek a saját eredményeinkhez hasonlóan nem volt hatása a cervikális MT eredményességére. Az MT előtti két napban, ha a T_{max} $30^{\circ}C$ fölé emelkedett, az csökkentette a vemhességek számát (SANTOLARIA és mtsai, 2014). Tavaszi hónapokban végzett MT során amennyiben a már említett meteorológiai paraméterek magasabbak voltak, az pozitívan hatott a fertilitásra (ABECIA és mtsai, 2016a). Nyáron azonban a magas hőmérséklet rontja a vemhességi százalékot, míg télen a magasabb T_{min} és T_{max} hőmérséklet növelte a fertilitást, tehát a hőmérséklet fontos befolyásoló tényezője a termékenyítés sikerességének, de nem mindegy, hogy melyik évszakban (PALACIOS és ABECIA, 2014). Vizsgálataink is azt támasztották alá, hogy a meteorológiai paraméterek közül a hőmérséklet volt hatással az MT eredményességére. 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.

4.2.2. A holdfázisok hatása

Vizsgáltuk a holdfázisok hatását a vemhesség valószínűségére, az ikervemhességre és a születendő bárányok nemére. A növény 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 (összel:

46,97%, tavasszal: 43,33%), azonban a vizsgálatba vont holdfázis tényezők szignifikáns hatását nem sikerült kimutatnunk.

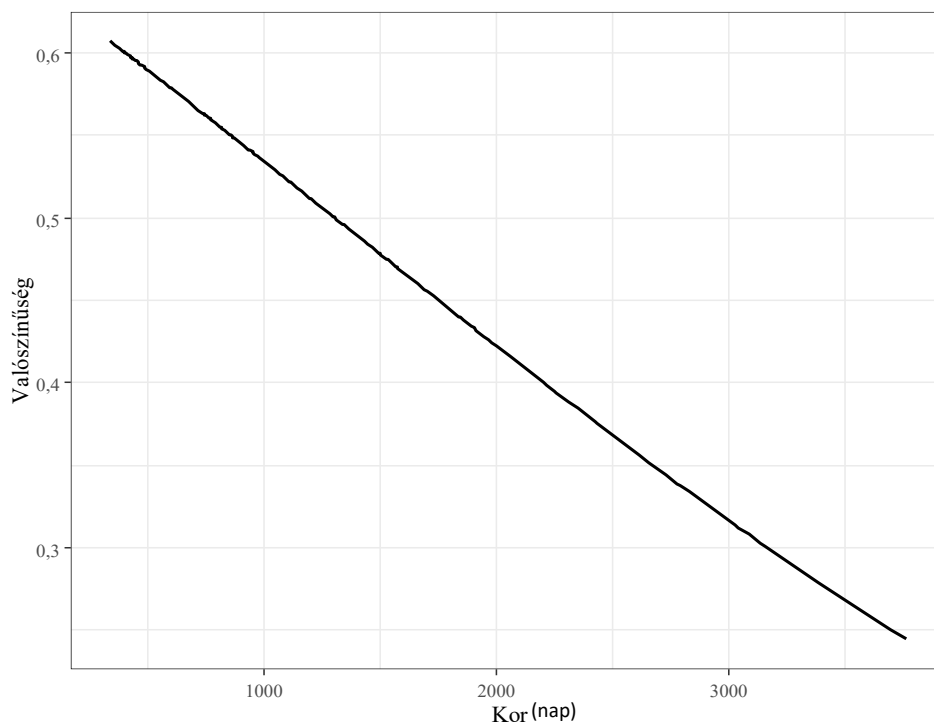
A fent leírt paraméterek közül az évszak befolyásolta leginkább az ikervemhességek arányát (9. melléklet). A tavaszi termékenyítések során szignifikánsan magasabb volt az ikervemhességek száma (29,23%) az őszi termékenyítésekhez képest (12,73%) ($p=0,00613$). A holdfázisok közül 10%-os szignifikancia mellett elmondható, hogy a fogyó hold időszakában kevesebb (21,90%) volt az ikervemhességek száma a növő 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 növő 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). A termékenyítés ideje befolyásolhatja az utódok nemét. Juhokban 5 órával az ovuláció előtt történt MT során magasabb volt a jerke bárányok születése, míg 5 órával az ovuláció utáni termékenyülés során a kos bárányok aránya volt magasabb (GUTIÉRREZ-ADÁN és mtsai, 1999).

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 tavaszi ellések esetében nagyobb volt az alomnagyság, mint a téli és a nyári bárányozások időszakában. Az alomnagyságot a szezonon kívül befolyásolhatja a szülők fajtája és az anya életkora is (DIMSOSKI és mtsai, 1999). A nemek arányát tekintve 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.

4.2.3. Az anya életkora és a 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 (10. melléklet). Az anyák életkora és a termékenyítés sikeressége között negatív kapcsolat áll fenn, tehát a kor előrehaladtával csökken a vemhesség valószínűsége ($p=0,0227$) (4. ábra).

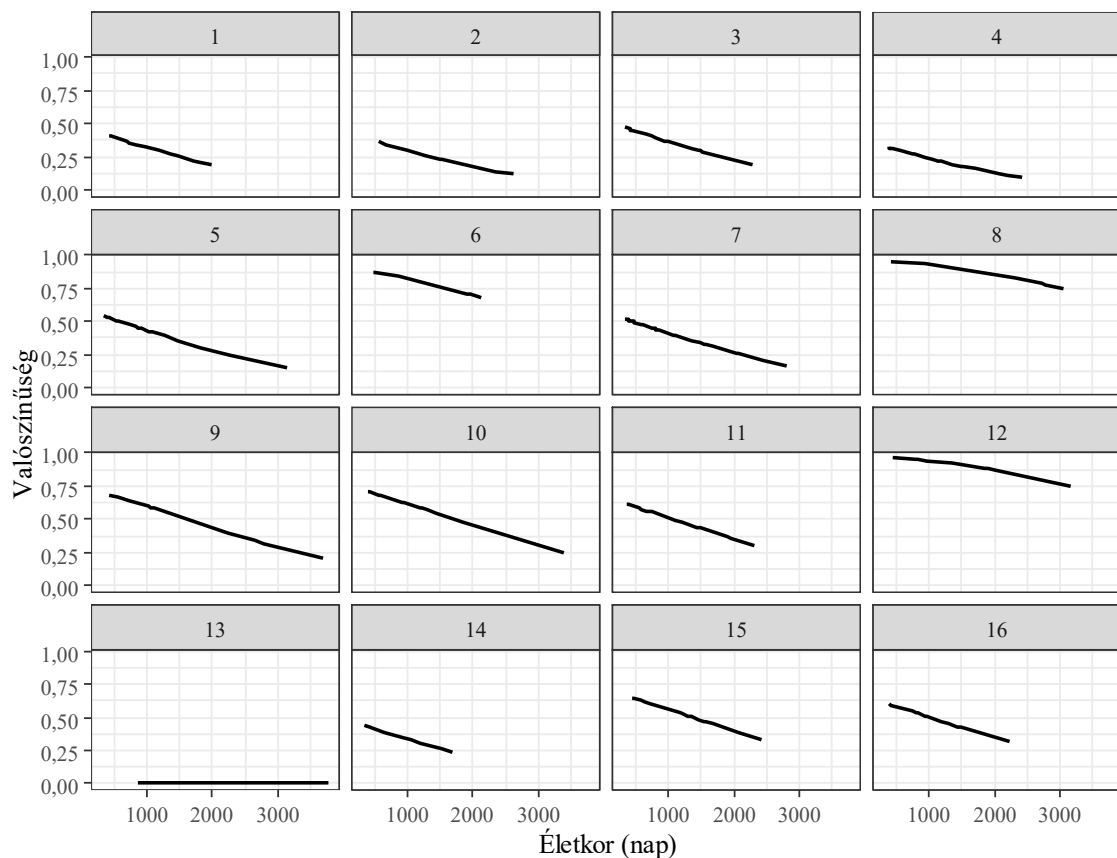


4. ábra: Az anyák életkora és a termékenyülés valószínűsége közötti összefüggés

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) (11. melléklet). Az ábrán kosenként is feltüntettük az anyák életkora és a vemhességek valószínűségei közötti összefüggést (5. 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).



5. ábra: A termékenyülés valószínűsége kosonként az anyajuh életkorának összefüggésében

4.2.4. A vizsgálatban részt vevő gazdaságok szaporodásbiológiai menedzsmentje

A telepi menedzsment vizsgálata 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 (12. melléklet).

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 (13. melléklet). A vizsgált változók közül egyik sem volt hatással a vemhességre (5. táblázat).

5. táblázat: Telepi menedzsment egyes paramétereinek hatása a termékenyítés sikerességére

Csoportok Vizsgált változók	Korábban már vemhes anyajuhok (n=140)	Jerke (n=55)
Anya MT-ből született	p=0,888	p=0,958
Bárány leválasztásának időpontja	p=0,632	-
Korábbi MT száma	p=0,272	p=0,988
Sikeres MT száma	p=0,111	-

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). Kutatási eredményünk hasonló összefüggést mutatott, mivel a jerke bárányok csoportjában magasabb volt a vemhességi százalék (58,18%), mint a korábban már ellett anyajuhoknál (48,57%). Ez az eredmény azonban nem volt szignifikáns a két csoport között. Palacín és mtsai (2012) vizsgálatait azt mutatták, hogy 240 napnál hosszabb ellés-MT intervallum, illetve ötnél több korábbi vemhesség csökkenti a fertilitást (PALACÍN és mtsai, 2012). Kecskek esetében legalább 150 nap választási idő javasolnak az MT előtt (ARRÉBOLA és mtsai, 2016). Statisztikai elemzésünk a szakirodalommal szemben nem mutatott ki szignifikáns összefüggést a vizsgált faktorok fertilitásra kifejtett hatásáról.

5. KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

5.1. Az embrióátültetés okozta stressz értékelése

A vizsgálatunk célja az volt, hogy a minimál invazív laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embrióátültetési technikák által okozott stressz mértékét nem invazív módon tanulmányozzuk és hasonlítsuk össze a nyál kortizol mintavételek eredményeivel és a fekvési viselkedés monitorozásával.

Az állattenyésztésben használt technológiák dinamikusan fejlődnek. Ezek az új módszerek pozitív vagy akár negatív hatással is lehetnek az állatjólétre. Fontos, hogy a technikák alkalmazása ne jelentsen fájdalmat, valamint a lehető legkisebb stresszt vagy szorongást okozza az állatoknak. Ezek vizsgálata és szabályozása szükséges ahhoz, hogy sem a fejlődés, sem az állatok jólléte ne sérüljön (CLARK és HARDING, 2006). Az asszisztált reprodukciós beavatkozások előtt sokszor elkerülhetetlen az állatok éheztetése, hogy csökkentsük a műtéti komplikációkat. Az éheztetési stressz hatással van a homeosztázisra, így bizonyos vérparaméterek (pl. vörsejtek, vérglükóz, totál protein, albumin) és fiziológiai paraméterek (rektális hőmérséklet, légzésszám) változását eredményezik, melyeket a vizsgálatok alkalmával figyelembe kell vennünk. A fajták között azonban eltérő lehet a rezisztencia a takarmány megvonásra (BINEV és mtsai, 2006; ABDEL KHALEK, 2007). Amennyiben további vizsgálatokat végzünk a beavatkozások során, izolációra is szükség lehet, hogy az állatokat egyedenként tudjuk monitorozni. A juhok nyájban élő állatok, ezért kifejezetten érzékenyek arra, ha leválasztják a fajtársaiktól. Az izoláció stressz hatást jelent a juhok számára, amely a kortizol koncentrációjának emelkedéséhez vezethet a szervezetben, valamint megváltozik a viselkedésük is. Szeparáció során a juhok sokkal figyelmesebbek a környezetükre, kevesebbet fekszenek vagy alszanak, csökken az evéssel és kérődzéssel töltött idő (PIERZCHAŁA és mtsai, 1985; COCKRAM és mtsai, 1994). Ezért tapasztalataink és eredményeink alapján a különböző beavatkozások által okozott stressz vizsgálatokor, az éheztetésre és az izolációra adott eltérő válaszreakciók megnehezíthetik az eredmények kiértékelését. Az állatok hozzászoktatása az izolációhoz, valamint a társas viselkedések korlátozásának minimalizálása csökkenthetik az emelkedett kortizol szintet és a reaktív állási-fekvési viselkedést. Érdeemes a későbbiekben olyan kísérletek beállítása, amellyel vizsgálni tudjuk külön-külön és együtt is a műtétekhez szükséges éheztetésre és izolációra adott stresszválaszokat.

Kutatásunk során a nyál kortizol koncentráció változásának mérésével vizsgáltuk az L és az SL embrióbeültetési technikák által okozott fájdalom és stressz mértékét. Eredményeinkből azt a következtetést tudtuk levonni, hogy az állatok lefogása és a műtéti beavatkozások stresszel jártak az anyajuhok számára, mivel a beavatkozás után 1 és 2 órával szignifikánsan magasabb átlagos nyál kortizol koncentrációt mértünk, mint a beavatkozás előtti és utáni 24 órában. A csoportokat külön vizsgálva szintén jelentős emelkedés volt látható a beavatkozás utáni első 2 órában a kiinduló koncentrációhoz képest. A nyál kortizol szintben azonban az egyes mérési időpontokban nem volt különbség a csoportok között, tehát a laparoszkópos és a fél-laparoszkópos műtét nem okozott szignifikánsan magasabb stresszt, mint az állatok lefogása és laparoszkópos kocsiba helyezése (kontroll csoport). Ahhoz, hogy pontosan meg tudjuk határozni az egyes csoportokban az okozott stressz szint csökkenésének alakulását, a későbbiekben érdemes a műtét utáni 24 órában több (legalább 2 óránkénti) nyál mintavételt beiktatni. A nyál kortizol szint vizsgálata eredményesnek bizonyult, így elkerülhető volt az ismételt vérvétel a szérum kortizol szint méréséhez. A nyál mintavétel nem invazív, könnyen kivitelezhető, kis mértékű lefogás mellett elvégezhető, ezért stressz vizsgálatokhoz alkalmasabb módszer. Hátránya, hogy kellően sok nyálminta (min. 1,5 ml) szükséges a kortizol szint méréséhez.

A különböző beavatkozásoknál fontos azonban az, hogy a műtét típusának megfelelően figyelmet fordítsunk a megfelelő anesztéziára és fájdalomcsillapításra. A szakma szabályai szerint ezért használtunk eltérő anesztéziát és biztosítottuk a postoperatív fájdalomcsillapítást a beavatkozás invazívitásának megfelelően. A detomidin jól használható laparoszkópos beavatkozásokhoz fájdalomcsillapító és szedatív hatása miatt. Juhokban kisebb műtétekhez a ketamint alkalmazzák kombinációban izomrelaxánsokkal, kihasználva a ketamin fájdalomcsillapító és disszociatív tulajdonságát. Az SL technika invazívabb műtét és hosszabb ideig tart, ezért használtuk már a ketamint is kombinációban az anesztéziához. Posztoperatív fájdalomcsillapításra pedig a nemszteroid gyulladáscsökkentő gyógyszerek alkalmasak, melyhez a meloxicám hatóanyagot választottuk (EWING, 1990; STAFFORT és mtsai, 2006; GALATOS, 2011; COHEN és mtsai, 2024). A tapasztalataink alapján a detomidin és a detomidin-ketamin kombinációja biztonságosan használható a laparoszkópos és fél-laparoszkópos MT és embrióbeültetés során. Az említett rövid beavatkozásokhoz ezen anesztetikumokat ajánljuk.

A stresszvizsgálat másik mérési módszere a recipiensek fekvési és állási viselkedésének nyomon követése volt. A teljes fekvési időben nem szignifikáns növekedés volt látható mind a három csoport esetében. A beavatkozások által okozott stressz hatására a fekvési periódusok száma szignifikánsan csökkent, a fekvési periódusok átlagos hossza azonban szignifikánsan emelkedett mindegyik csoportban összehasonlítva a beavatkozás előtti és utáni 24 órát. A változás oka a stressz mellett az anesztézia is lehet. A detomidin hatástartama az alkalmazott dózisban 0,5-1 óra, a detomidin ketamin kombinációnak a hatásideje legalább 20-30 perc, amely után kezdődik az ébredési periódus (Net5). A csoportok között nem volt szignifikáns különbség a vizsgált paraméterekben a beavatkozás utáni 24 órában. Ez azt bizonyítja, hogy a K csoporttal összehasonlítva, az L és az SL beavatkozás nem járt statisztikailag kimutathatóan olyan jelentős mértékű stresszel vagy fájdalommal az állatok számára, amely eltérően befolyásolta volna a fekvési viselkedésüket. Azonban az SL csoportnál látható tendenciák azt mutatják, hogy az invazívabb beavatkozás nagyobb mértékben befolyásolhatja az állatok műtét utáni 24 órában mutatott aktivitását és stresszel összefüggő viselkedését.

A második statisztikai vizsgálatunkban - amelyben a műtét utáni egy órát nem vettük figyelembe - a fekvési viselkedés elemzésénél azt tapasztaltuk, hogy ez a teljes fekvési időt befolyásolta. Míg a K csoportban a műtét utáni periódusban az állatok tudtak pihenni (nőtt a teljes fekvési idő), addig az L és az SL csoportban a stresszel járó, reaktív viselkedés erősödött (csökkent a teljes fekvési idő). Az anesztetikus szerek hatásának kizárása azonban nem befolyásolta a fekvési periódusok átlagos hosszának és a fekvési periódusok számának szignifikáns változását. A két statisztikai vizsgálat közötti különbséget értékelve elmondható, hogy az anesztetikus szerek csak a teljes fekvési időt befolyásolták. Így mind a két statisztikai számítás használható a viselkedésváltozás elemzésére a fent említett változók esetében, azonban a teljes fekvési idő elemzésekor figyelembe kell venni az altatószerek hatását. A későbbi vizsgálatok során érdemes a beavatkozás előtti periódusban hosszabb ideig megfigyelni az állatok állással és fekvéssel töltött idejét, hogy kizárjuk az egyéni, habitussal járó különbségeket. Emellett a különböző anesztéziái protokollokban használt hatóanyagok eltérően befolyásolhatják az állással és fekvéssel töltött idő változását.

A kortizol szint mérés és a fekvési viselkedés vizsgálat eredményei alapján megállapíthatjuk, hogy a recipiens anyajuhok esetében az embrióbeültető beavatkozások nem okoztak nagyobb fájdalmat és stresszt az állatoknak, mint az ezekhez szükséges

szedáció és rögzítés. Így mind a két módszer alkalmas a sebészi embrióbeültetés kiváltására. A két beavatkozás közül mégis a laparoszópos, minimál invazív módszert javasoljuk a további előnyei, elsősorban a kisebb műtéti seb, a kevesebb szervi manipuláció és a rövidebb beavatkozási idő miatt. Napjainkban a humán gyógyászatban hasonlóan egyre nagyobb teret kapnak a minimál invazív beavatkozások az állatgyógyászatban is. Ezek a beavatkozások nem csak az állatjóléti szempontokból fontosak, hanem csökkenthető az anesztetikus, antimikrobiális gyógyszerek felhasználása, gyorsabb a regeneráció, kevesebb a műtét utáni komplikáció (pl. adhesio). Az előnyeket megismertetve a gazdákkal a cél az, hogy a MOET programokat közelebb hozzuk a tenyésztőkhöz, bátrabban használják ezeket a módszereket, ezáltal fellendülhessen a juhtenyésztésben a külföldi import szaporítóanyagok és embriók behozatala, felhasználása. Ezen programok biztosítják a gyorsabb genetikai előrehaladást és genetikai szelekciót. Ahhoz, hogy a magyarországi juhtenyésztés versenyt tudjon tartani a nyugat-európai fejlődéssel, elengedhetetlen az ART-k széleskörű használata. A fejlődés fenntartása mellett nem feledkezhetünk meg az őshonos fajtáink csökkenő egyedszámáról sem. Ezen fajták fenntartása érdekében a génmegőrzési programok és a génbankok létrehozása elengedhetetlen, amelyek alapját képezik a MOET technikák alkalmazása.

5.2. A mesterséges termékenyítés eredményességét befolyásoló tényezők az ile de france juhfajtában

Szezonon belül (október, november) és szezonon kívül (március, április) összesen 250 db ile de france juh laparoszópos fagyasztott spermás termékenyítését végeztük el. A termékenyítések eredményeit alapul véve vizsgáltuk a különböző tényezők hatását, elsősorban a termékenyítés sikerességére, valamint az ikervemhességek arányára és a születendő bárányok nemére. Az eredményeink alapján az ile de france juhfajtában a tavaszi termékenyítések (51,3 %) sikeresebbek voltak, mint az ősszel (20,0%) végzettek. Ez alátámasztja azt a megállapítást, hogy megfelelő szinkronizációs protokoll és jó minőségű sperma használatával szezonon kívül is magas ellési arány érhető el juhokban (66-85%) (FUKUI és mtsai, 1994). Jelentősége továbbá, hogy a szezonon kívüli termékenyítés során sikeresen alkalmazható az import fagyasztott sperma, így az adott fajta hazájától távol eső országokban is jól alkalmazható az anyai és apai vérvonalak

frissítéséhez (FUKUI és mtsai, 2002). A kapott eredmények alapján véleményünk szerint az ile de france, aszezonális fajta esetében a magyarországi, mérsékeltövi nedves kontinentális éghajlaton a szezonon belüli ivarzás szinkronizáció kevésbé sikeres a belső hormonális működés miatt, mint a szezonon kívüli hormonális indukció és szinkronizáció.

Az évszak megválasztása nem csak a termékenyítés eredményességét, hanem az alomnagyságot is befolyásolhatja. Statisztikai vizsgálataink azt mutatták, hogy a tavaszi termékenyítések során nem csak magasabb a vemhesség aránya, hanem ikervemhességek száma is emelkedett az őszi termékenyítésekhez képest. Emellett az ikervemhességek arányát erősítheti, amennyiben az MT-t a növény holdfázisban végzik.

Az anyák korának hatását vizsgálva a szezonon kívüli termékenyítés sikerességére, azt az eredményt kaptuk, hogy az ile de france fajtában az anyák életkorának növekedésével csökken a termékenyülés valószínűsége. Saját adataink statisztikai elemzése alapján megállapítottuk, hogy az anyák életkorát tekintve átlagosan 1000 naponként 10%-kal romlik az esélye a vemhesülésnek az MT esetében. A kiválasztott kosoktól felhasznált import fagyasztott spermák egy kivételével jó minőségűek voltak, azonban a kosok között egyértelmű különbséget nem tudunk tenni, mivel több tényező is hat a termékenyítés sikerességére (például az anyák életkora).

A tavaszi hónapokban végzett termékenyítések során vizsgáltuk az MT sikerességére ható egyes meteorológiai paramétereket. Saját számításaink alapján a termékenyítés előtti 4 napban - a tüszőfejlődés és a domináns tüsző kialakulásának időszakában - a minimum hőmérséklet szélsőséges változása csökkenti a vemhesség arányát. A termékenyítés utáni időszakban - az érzékeny korai embriófejlődés szakaszában - a napi maximum és minimum hőmérséklet nagymértékű varianciája szignifikánsan csökkentette a vemhesség valószínűségét. Az MT utáni 40 napban a statisztikai vizsgálatok azt mutatták, hogy az átlaghőmérséklet varianciájának növekedésével nagyobb számban lesz sikeres a termékenyítés, azonban szakmailag ezt a megállapítást nem tudjuk alátámasztani. További adatgyűjtés és statisztikai vizsgálat szükséges a Tatl2 valódi hatásának vizsgálatához és a többi meteorológiai paraméter befolyásoló szerepének megítéléséhez.

Saját eredményeink alapján megállapíthatjuk, hogy a jerke bányáknál magasabb volt a vemhességi arány (58,18%), mint a már legalább egyszer ellett anyáknál (48,57%). Azonban ez véleményünk szerint összefüggésben áll az életkorral, tehát a fiatalabb jerke bányáknál magasabb lesz a termékenyülés valószínűsége. A bányák leválasztási

időpontjának nem volt befolyásoló hatása a fertilitásra. Vizsgáltuk azt is, hogy a korábbi MT-k száma vagy az MT-k sikeressége, illetve az, hogy az anya MT-ből született-e milyen hatással vannak a termékenyítés sikerességére. Ezeknek a tényezőknek nem volt kimutatható befolyása. További adatgyűjtés szükséges a fent említett tényezők hatásának vizsgálatához. Emellett további paramétereket is érdemes elemezni, például a farmhatást, anyajuhok esetében a BCS-t, a beavatkozást végző állatorvos személyét vagy a beavatkozás időtartamát (ARRÉBOLA és mtsai, 2013; ARRÉBOLA és mtsai, 2016).

Hazánkban az ile de france anyajuhok tenyésztése során a legjobb eredményeket abban az esetben érhetjük el, ha az ivarzás szinkronizáció és a laparoszópos fagyasztott spermás MT-t tavaszi hónapokban végezzük 1000 nap alatti anyáknál. Az MT sikeressége mellett a tenyésztők növelhetik a születendő bárányok számát is elsősorban a tavaszi hónapok választásával, mert ebben az évszakban az ikervemhességek száma magasabb (kisebb mértékben ugyan, de növeli a nővő holdfázisban történő termékenyítés is). A születendő bárányok nemét azonban eredményeink alapján sem az évszak, sem a holdfázis megválasztásával nem tudjuk befolyásolni. Az eredményes beavatkozások fenntartása érdekében érdemes az állatok számára megfelelő, kiegyensúlyozott tartási és takarmányozási körülményeket biztosítani, valamint megfelelő minőségű fagyasztott spermát választani a termékenyítésekhez. Fontos továbbá az ivarzás szinkronizációs és termékenyítési protokollok pontos teljesítése megfelelő szakképzettséggel és gyakorlattal rendelkező állatorvosi felügyelet mellett. A fent említett feltételek betartása mellett is számítani lehet egyéb faktorok befolyásoló hatására, amelyek kimutatása további vizsgálatot igényelnek annak érdekében, hogy a tenyésztők a lehető legjobb termékenyítési eredményeket érjék el. A vizsgálatokat a jövőben célszerű elvégezni más juhajtásban is ahhoz, hogy az adott fajtára leginkább ható tényezőket felkutassuk és az MT protokollt úgy dolgozzuk ki, hogy a lehető legjobb termékenyítési eredményeket kapjuk.

6. 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 megállapítottam, 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 növény 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.

7. 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 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 bevonni 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.

8. ÖSSZEFOGLALÁS

Az asszisztált reprodukciós technikák (ART) alkalmazása jelentősen javíthatja a szaporodásbiológiai mutatókat, mivel egy genetikailag értékes állattól lényegesen több utód nyerhető, mint természetes körülmények között. Így ezen technikák alkalmazása gyorsítja a genetikai előrehaladást és a szelekciót, valamint a nagyobb földrajzi távolságok is áthidalhatóak. Az ART-ok sikeressége nem mindig kiszámítható, így törekedni kell azoknak a tényezőknek a megismerésére, amelyek leginkább befolyásolják az eredményességet. Emellett szem előtt kell tartani a technikák folyamatos fejlesztését, hogy a kedvező szaporodásbiológiai mutatók elérése mellett a beavatkozások farm körülmények között is kivitelezhetőek legyenek, valamint minél kevesebb fájdalommal és stresszel járjanak az állatok számára.

Kutatásom első felében vizsgáltuk a laparoszkópos és a fél-laparoszkópos embriótranszfer által okozott stressz mértékét 40 recipiens anyajuhban. A stresszvizsgálathoz nyál mintából mértünk kortizol szintet a kísérlet ideje alatt, valamint pedométerrel (HOBO Pendant G logger) monitoroztuk az állatok fekvéssel és állással töltött idejét. Az állatokat egyedi boxokban helyeztük el a kísérlet ideje alatt úgy, hogy egymással kontaktban lehettek. A beavatkozások előtt szükséges volt 24 óra éheztetés, hogy elkerüljük a műtéti komplikációkat. A laparoszkópos embriótranszfer során a recipiens anyajuhok szedációja detomidinnal történt. A beavatkozás során a két trokaron keresztül egy fényforrással ellátott optikával felkerestük a méhszarvakat és a petefészen található sárgatesttel ipszilateralis méhszarvba ültettük az embriót a termékenyítő katéter (Aspic) segítségével. A fél-laparoszkópos csoportba tartozó állatok anesztéziája ketamin és detomidin kombinációval történt. A beavatkozás hasonló volt, mint a laparoszkópos beavatkozás során, de a méhet egy 2-2,5 cm-es metszésen keresztül kiemeltük a hasüregből és az embriót Tomcat katéterrel ültettük be a méh üregébe. A kísérleti csoportok mellett a kontroll csoportban is elvégeztük a műtéti előkészítést és a laparoszkópos csoporttal megegyező anesztéziát, azonban a műtéti kocsiban eltöltött 6 percnél kívül más beavatkozást nem végeztünk rajtuk. A nyálmintákat 4 alkalommal vettük le a kísérlet ideje alatt az állatoktól (1. a kísérlet napján reggel, 2. a beavatkozás után 1 órával, 3. a beavatkozás után 2 órával, 4. a beavatkozás után 24 órával). A tamponminták centrifugálását követően a kortizol mérés direkt RIA módszerrel történt. Az átlagos kortizol koncentráció a 2. és a 3. mérési időpontban magasabb volt, mint az 1.

és a 4. mintavétel során. Szignifikáns volt ez az emelkedés az első mérési időponthoz képest a kontroll csoportban 1 órával a beavatkozás után és a laparoszkópos csoportban 1 és 2 órával a beavatkozás után. A fél-laparoszkópos csoportban szintén magasabb kortizol koncentráció volt mérhető a 2. és 3. mintavétel alkalmával. A csoportok között nem volt szignifikáns különbség az egyes mérési időpontokban.

A fekvési viselkedést két periódusra osztottuk, a beavatkozás előtti 24 órára és a beavatkozás utáni 24 órára. Szignifikáns különbség mutatkozott a fekvési periódusok átlagos hosszát illetően, amely mindhárom csoportnál szignifikánsan nőtt a beavatkozás utáni 24 órában, ezzel párhuzamosan a fekvési periódusok száma pedig csökkent. A fekvéssel töltött összes idő nőtt a csoportokban a műtét utáni 24 órában. A leghosszabb fekvéssel töltött idő szintén nőtt minden csoportban a műtét utáni időszakban. Vizsgáltuk továbbá az fekvési viselkedés változását abban az esetben, amikor a műtét utáni egy óra mérési adatait figyelmen kívül hagytuk, így kizárva az anesztetikus szerek hatását. A teljes fekvési időben változást tapasztaltunk, mivel a kontroll csoport esetében ez továbbra is nőtt a műtét utáni 24 órában, a kísérleti csoportokban azonban csökkenés mutatkozott. A fekvési periódusok átlagos hossza és a fekvési periódusok száma ebben az esetben is az első statisztikai számításoknak megfelelően, szignifikánsan változott. A kapott eredmények alapján megállapítottuk, hogy az állatok lefogása és műtéti előkészítése is stresszel jár, mivel fekvési viselkedésváltozást eredményezett minden csoportban. A laparoszkópos, valamint a fél-laparoszkópos beavatkozás által okozott stressz statisztikailag nem volt magasabb, mint a kontroll csoportban mért. Azonban a tendenciákat figyelembe véve, a kísérleti beavatkozások, ezen belül is a fél-laparoszkópos technika alkalmazása nagyobb befolyással volt az állatok viselkedésére. Ezért a két módszer közül inkább a laparoszkópos embriótranszfer technikát javasoljuk állatjóléti szempontból.

A kutatásom második szakaszában összesen 250 ile de france anyajuh import fagyasztott spermás laparoszkópos mesterséges termékenyítésének eredményeit dolgoztuk fel. A termékenyítéseket három ile de france tenyészetben (Hajdúszoboszló, Polgár, Kunhegyes) végeztük el 2017-2023 között. Vizsgáltuk a termékenyítés sikerességét, valamint az ikervemhességet és a bárányok nemét befolyásoló tényezőket. Ile de france juhajtában sikeresebbek voltak a tavasszal végzett ivarzás szinkronizációk és mesterséges termékenyítések (51,3%), mint az őszi (20,0%). A tavaszi időszakban emellett magasabb volt az ikervemhességek (29,23%) száma, mint az őszi szezónban

(12,73%). Fontos befolyásoló tényező volt az anyák életkora, mert az életkor előrehaladtával folyamatosan csökkent a vemhesülés valószínűsége. Így a legjobb eredményeket a 1000 napos kor alatti anyák termékenyítése során érhetjük el.

A holdfázisok csak az ikervemhességek arányára voltak hatással, a növény holdfázisban magasabb volt ez az arány (28,47%).

A tavaszi hónapokban az időjárási paraméterek közül a minimum és maximum hőmérsékletek szélsőséges változása csökkentheti a vemhességi százalékot kifejezetten a termékenyítés utáni (korai embriófejlődés) időszakban. A többi vizsgált paraméter (koshatás, bárány leválasztásának időpontja, az anya fogantatásának módja, a korábbi mesterséges termékenyítések száma és a mesterséges termékenyítésből született bárányok száma) nem volt hatással a mesterséges termékenyítés eredményességére.

A kapott eredményeink segítséget nyújthatnak az *ile de france* tenyésztőknek, mivel a fagyasztott spermás termékenyítéseket hazánkban érdemes szezonon kívülre, tavaszra időzíteni. Az eredményesség fokozása érdekében előnyösebb, ha fiatalabb (3 év alatti) anyajuhokon végezzük el. A szélsőséges hőmérsékletingadozások negatívan befolyásolják a termékenyítés sikerességét ezért lehetőség szerint ezt a meteorológiai előrejelzések alapján érdemes elkerülni. Magasabb alomszám várható a tavaszi termékenyítések során, így ebben az évszakban érdemes felkészülni a tartási és takarmányozási technológia fejlesztésével az ikervemhességek magasabb arányára. További vizsgálatok javasoltak az egyéb tényezők felmérésére (pl. szinkronizációs protokoll, farm hatás, takarmányozás, termékenyítést végző személy), amelyek befolyással lehetnek a termékenyítés sikerességére.

9. SUMMARY

In the first part of my doctoral research, we investigated the level of stress caused by laparoscopic or semi-laparoscopic embryo transfer in 40 recipient ewes. This topic is timely as the aim of the veterinarians and farmers to minimize the stress for the animals during using high-level reproductive and biotechnological techniques. During the experiment, saliva samples were collected to measure the cortisol concentration, and the standing and lying behaviour of the sheep was monitored using a pedometer (HOBO Pendant G logger). In the laparoscopic group, the operation was performed through two 1 cm incisions, and the embryos were transferred using an insemination catheter (Aspic). In the semi-laparoscopic procedure, one of the incisions was widened to 2-2.5 cm, and the uterine horn was exteriorized. The embryo was transferred using a Tomcat catheter. In the control group, the pre-surgical preparation for the same operations (fasting and anaesthesia) was performed but these animals spent only 5 minutes in the laparoscopic cradle without any surgical intervention. Saliva samples were collected four times from the ewes during the experiment (1. on the morning of the operation, 2. one hour after the operation, 3. two hours after the operation, 4. 24 hours after the operation). After the cotton swabs were centrifuged, the cortisol concentration was measured by RIA. The average cortisol concentration was elevated at the second and third sampling time in all three groups compared to the first and fourth sampling. These increases were significant in the control group 1 hour after the operation and in the laparoscopic group 1 and 2 hours after the operation compared to the first sampling. Also higher cortisol concentration was measured in the semi-laparoscopic group 1 and 2 hours after the operation. However, no significant differences were found among the groups in the sampling times.

Lying behaviour was monitored for 24 hours before and after the interventions. The mean length of lying bouts (min) increased significantly and the number of lying bouts decreased significantly 24 hours after the operations in all three groups. Total lying time (min) increased non-significantly in all three groups. The longest lying bout (min) increased in all three groups; however, this increasing was pronounced in the semi-laparoscopic group. Interestingly, when the first hour after the operations – during which the anaesthetic drugs influenced lying behaviour – was excluded from the statistical analysis, changes were observed in total lying time. In this case, total lying time did not

changed (it remained increased) in the control group, whereas it decreased (non-significantly) in both the laparoscopic and semi-laparoscopic groups. However, the number of lying bouts and the mean length of lying bouts changed significantly in the same manner as in the previous statistical analysis. Based on our result we concluded that handling and preparation of the animals also induced stress in the ewes. Laparoscopic and semi-laparoscopic embryo transfer did not cause statistically higher stress to the animals than the handling procedures applied in the control group. Nevertheless, considering the observed trends we recommend the minimally invasive laparoscopic technique for embryo transfer from an animal welfare perspective.

In the second part of my doctoral research, we evaluated the results of the laparoscopic artificial insemination (AI) using import frozen semen in 250 Ile de France ewes. In sheep, the most successful way for utilize frozen sperm is the laparoscopic intrauterine insemination. However, oestrus synchronisation, frozen semen importation, and the laparoscopic technique are associated high cost; therefore, the aim is to maximize the number of the lambs. We investigated the factors influencing the success of the artificial insemination, the number of the twin pregnancy and the sex of the offspring. In the Ile de France breed, oestrus synchronisations and artificial insemination were more successful in spring (51.3%), than in autumn (20.0%). In the spring season there were more twin pregnancy (29.23%) than in autumn (12.73%). We found that ewe age had a significant effect on fertility. The probability of the pregnancy was decreased in direct proportion with the increasing age of the ewes. The best results were achieved when ewes younger than 3 years were inseminated. Moon phase had a minor effect on twin pregnancy rate, which was higher during the waxing moon than during the waning moon. The moon phase did not influence the success of the insemination and the sex of the offspring. The effect of the meteorological parameters (minimum, maximum and average temperature, rainfall and humidity) on pregnancy rate were also examined under temperate seasonal climate. In spring, the extreme variance of the minimum and maximum temperature reduced the pregnancy rate. The other factors (ram effect, the lambing-AI interval, the ewe conception method, the number of the previous AI, the number of the lambs born from previous AI), contrary to findings reported in the literature, had no effect on insemination success. These results may help to the farmers and breeders in improving pregnancy rates following laparoscopic AI. In Hungary, for the Ile de France breed, the laparoscopic AI should be performed out of season (in spring) using ewes younger than 3 years of age.

10. IRODALOMJEGYZÉK

1. ABDEL KHALEK, T. M. M. (2007): Thermoregulatory responses of sheep to starvation and heat stress conditions. *Egyptian Journal of Animal Production*. 44. 2. 137-150.
2. ABDEL-KHALEK, A. E., KHALIL, W. A., EL-SAIDY, B. E., YOUSSEF, A. I. (2014): Estrus synchronization in ewes using sponges with PMSG or ram effect with or without progesterone injection. *Journal of Animal and Poultry Production*. 5. 4. 173-185.
3. ABECIA, J. A., FORCADA, F., GONZÁLEZ-BULNES, A. (2012): Hormonal control of reproduction in small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130. 173-179.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. ABRIL-SÁNCHEZ, S., CROSIGNANI, N., FREITAS-DE-MELO, A., TERRAZAS, A., DAMIÁN, J. P., BERACOCHEA, F., SILVEIRA, P., UNGERFELD, R. (2018): Sedation or anaesthesia decrease the stress response to electroejaculation and improve the quality of the collected semen in goat bucks. *Animal*. 12. 12. 2598-2608.
8. ACHKAKANOVA, E., STAYKOVA, G. (2019): Evaluation of the main productive traits of Ile de france sheep in Bulgaria. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 25. 1. 69-72.
9. AGHAMIRI, S. M., SAMIMI, A. S., HAJIAN, M., SAMIMI, A. M., OROUMIEH, A. (2022): Effect of xylazine, detomidine, medetomidine and

- dexmedetomidine during laparoscopic SCNT embryo transfer on pregnancy rate and some physiological variables in goats. *BMC Veterinary Research*. 18. 98.
10. 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.
 11. 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.
 12. ALHAMADA, M., DEBUS, N., LURETTE, A., BOCQUIER, F. (2016): Validation of automated electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation. *Small Ruminant Research*. 134. 97-104.
 13. ALHAMADA, M., DEBUS, N., LURETTE, A., BOCQUIER, F. (2017): Automatic oestrus detection system enables monitoring of sexual behaviour in sheep. *Small Ruminant Research*. 149. 105-111.
 14. ÁLVAREZ, M., CHAMORRO, A., KAABI, M., ANEL-LÓPEZ, L., BOIXO, J. C., ANELA, E., ANELA, L., PAZA, P. (2012): Design and “in vivo” evaluation of two adapted catheters for intrauterine transcervical insemination in sheep. *Animal Reproduction Science*. 131. 153-159.
 15. ALVAREZ, M., ANEL- LOPEZ, L., BOIXO, J. C., CHAMORRO, C., NEILA-MONTERO, M., MONTES-GARRIDO, R., PAZ, P., ANEL, L (2019): Current challenges in sheep artificial insemination: A particular insight. *Reproduction in Domestic Animals*. 54. 4. 32-40.
 16. AMIRI, B. E., RAHIM, A. (2024): Exploring endogenous and exogenous factors for successful artificial insemination in sheep: A global overview. *Veterinary Science*. 11. 2. 86.
 17. AMIRIDIS, G. S., VALASI, I., MENEGATOS, I., REKKAS, C., GOULAS, P., PAPANIKOLAOU, T., DELIGIANNIS, C. (2005): Luteal stage dependence of pituitary response to gonadotrophin-releasing hormone in cyclic dairy ewes subjected to synchronisation of ovulation. *Reproduction, Fertility and Development*. 17. 769–774.
 18. AMIRIDIS, G. S., CSEH S. (2012): Assisted reproductive technologies in the reproductive management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 131. 152-161.

19. ANDANSON, S., BOISSY, A., VEISSIER, I. (2020): Conditions for assessing cortisol in sheep: the total form in blood v. the free form in saliva. *Animal*. 14. 9. 1916-1922.
20. 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.
21. AQUILANI, C., CONFESSORE, A., BOZZI, R., SIRTORI, F., PUGLIESE, C. (2022): Review: Precision Livestock Farming technologies in pasture-based livestock systems. *Animal*. 16. 1. 100429.
22. ARMSTRONG, D. T., EVANS, G. (1983): Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*. 19. 31–41.
23. ARRÉBOLA, F., GONZÁLES, O., TORRES, R., ABECIA, J. A. (2013): Artificial insemination in Payoya goats: factors affecting fertility. *Animal Reproduction Science*. 54. 3. 356-362.
24. ARRÉBOLA, F., GONZÁLES, O., TORRES, R., ABECIA, J. A. (2014): Artificial insemination in Payoya goats: factors affecting fertility. *Animal Production Science*. 54. 3. 356-362.
25. 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.
26. ASANO, K., TAKAMATSU, E., NUMATA, H., NITTA, M., ISHIDA, M. (2021): Effect of climatic factors on urinary cortisol and peripheral blood leukocytes in lambs grazing on a semi-natural grassland in the Hokuriku District of Japan. *Animal Science Journal*. 92. e13536.
27. AZAWI, O. I. (2011): A new technique for nonsurgical embryo recovery in superovulated ewes treated with estradiol and oxytocin. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*. 10. 2. 36-44.
28. BALISTRIERI, M., CORTAT, P. R., CORREIA, L. F. L., ROCHA, M. S., MORAIS, M. C. C., RIBEIRO, A. C. S., BRANDÃO, F. Z., OLIVEIRA, C. A., SOUZA-FABJAN, J. M. G. (2023): Enhancing welfare and reducing stress in surgical embryo collection in sheep: Effects of flunixin and flunixin-dipyrone postoperative protocols in Dorper ewes. *Small Ruminant Research*. 229. 107144.

29. BANNER, M., BULFIELD, G., CLARK, S., GORMALLY, L., HIGNETT, P., KIMBALL, H., MILBURN, C., MOFFITT, J. (1995): Breeding techniques and animal welfare. In: Report of the Committee to Consider the Ethical Implications of Emerging Technologies in the Breeding of Farm Animals. Szerk. BANNER, M., Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (MAFF), HMSO, London, 19-40.
30. BARI, F., KHALID, M., HARESIGN, W., MERRELL, B., MURRAY, A., RICHARDS, R. I. W. (1999): An evaluation of the success of MOET in two breeds of hill sheep maintained under normal systems of hill flock management. *Animal Science*. 69. 367-376.
31. BARI, F., KHALID, M., HARESIGN, W., MURRAY, A. MERREL, B. (2000): Effect of mating system, flushing procedure, progesterone dose and donor ewe age on the yield and quality of embryos within a MOET program in sheep. *Theriogenology*. 53. 3. 727-742.
32. BARI, F., KHALID, M., HARESIGN, W., MURRAY, A., MERREL, B. (2003): Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program. *Theriogenology*. 59. 1265-1275.
33. BARIL, B., CASAMITJANA, G. P., PERRIN, J., VALLET, J. C. (1989): Embryo production, freezing and transfer in Angora, Alpine and Saanen goats. *Zuchthygiene*. 24. 101-115.
34. BARWICK, J., LAMB, D. W., DOBOS, R., WELCH, M., TROTTER, M. (2018a): Categorising sheep activity using a tri-axial accelerometer. *Computers and Electronics in Agriculture*. 145. 289-297.
35. BARWICK, J., LAMB, D., DOBOS, R., SCHNEIDER, D., WELCH, M., TROTTER, M. (2018b): Predicting lameness in sheep activity using tri-axial acceleration signals. *Animals*. 8. 1. 12.
36. BERG, A. K. AAMDAL, J. (1991): Artificial insemination with frozen semen in ewes at different times of the breeding season. *Reproduction in Domestic Animals*. 26. 1. 27-30.
37. BERGSTEIN-GALAN, T. G., BUSATO, E. M., ABREU, A. C. M. R., WEISS, R. R. (2017): Artificial insemination and embryo transfer in small ruminants. In: *Reproduction Biotechnology in Farm Animals*. Szerk. BERGSTEIN-GALAN, T. G. Avid Science. 181-199.
38. BINEV, R., SLAVOVA, P., LALEVA, S. (2006): Effects of fasting on blood cells from lambs of various breeds. *Trakia Journal of Science*. 4. 3. 37-43.

39. BLACHE, D., MALONEY, S. K. (2017): New physiological measures of the biological cost of responding to challenges. In: Ferguson, D. M., Lee, C., Fisher, A. *Advances in Sheep Welfare*. Woodhead Publishing. Unites States. 73-104.
40. BODÓ SZ. (2022): Reprodukció biotechnológiai módszerek bemutatása. In: Juhtenyésztés haladóknak az extenzívtől a precíziósig. Szerk. JÁVOR A., Debreceni Egyetem, Juh TermékTanács, Debrecen, 215-224.
41. BOLAND, M. P., CROSBY, T. F., GORDON, I. (1981): Effect of mating management and PMSG dose on lambing outcome in ewes bred in late anoestrus. *The Journal of Agriculture Science*. 97. 2. 445–447.
42. 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.
43. BORELL, E., LANGBEIN, J., DESPRÉS, G., HANSEN, S., LETERRIER, C., MARCHANT-FORDE, J., MARCHANT-FORDE, R., MINERO, M., MOHR, E., PRUNIER, A., VALANCE, D., VEISSIER, I. (2007): Heart rate variability as a measure of autonomic regulation of cardiac activity for assessing stress and welfare in farm animals — A review. *Physiology & Behavior*. 92. 3. 293–316.
44. BRUNO-GALARRAGA, M., CUETO, M., GIBBONS, A., PEREYRA-BONNET, F., SUBIABRE, M., GONZÁLEZ-BULNES, A. (2015): Preselection of high and low ovulatory responders in sheep multiple ovulation and embryo transfer programs. *Theriogenology*. 84. 5. 784-790.
45. CAJA, G., CASTRO-COSTA, A., SALAMA, A. A. K., OLIVER, J., BARATTA, M., FERRER, C., KNIGHT, C. H. (2020): Sensing solutions for improving the performance, health and wellbeing of small ruminants. *Journal of Dairy Research*. 87.1. 34–46.
46. CALLESEN, H., BØGH, I. B., GREVE T. (2019): Embryo transfer and other assisted reproductive technologies. In: *Veterinary Reproduction & Obstetrics*. Szerk. NOAKES, D. E., PARKINSON, T. J., ENGLAND G. C. W., Saunders Ltd., United States, 778-805.
47. CANDAPPA, I. B. R., BARTLEWSKI, P. M. (2011): A review of advances in artificial insemination (AI) and embryo transfer (ET) in sheep, with the special reference to hormonal induction of cervical dilation and its implications for controlled animal reproduction and surgical techniques. *The Open Reproductive Science Journal*. 3. 162-175.

48. CANDAPPA, I. B. R., BARTLEWSKI, P. M. (2014): Induction of cervical dilation for transcervical embryo transfer in ewes. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 12. 8.
49. CARCANGIU, V., VACCA, G. M., PARMEGGIANI, A., MURA, M. C., PAZZOLA, M., DETTORI, M. L., BINI, P. P. (2008): The effect of shearing procedures on blood levels of growth hormone, cortisol and other stress haematochemical parameters in Sarda sheep. *Animal*. 2. 4. 606-612.
50. CARNEIRO, R. P. B., MACEDO, G. G., DEROSI, R., COSTA-E-SILVA, E. V., SOUZA, M. I. L. (2019): Welfare and pregnancy rate of ewes undergoing transcervical artificial insemination with ketamine subarachnoid anesthesia. *Tropical Animal Health and Production*. 51. 5. 1179-1186.
51. CAROPRESE, M., ALBENZIO, M., MARZANO, A., SCHENA, L., ANNICCHIARICO, G., SEVI, A. (2010): Relationship between cortisol response to stress and behavior, immune profile, and production performance of dairy ewes. *Journal of Dairy Science*. 93. 6. 2395–2403.
52. CASALI, R., PINCZAK, A., CUADRO, F., GUILLEN-MUNOZ, J. M., MEZZALIRA, A., MENCHACA, A. (2017): Semen deposition by cervical, transcervical and intrauterine route for fixed-time artificial insemination (FTAI) in the ewe. *Theriogenology*. 103. 30-35.
53. CHROUSOS, G. P., TORPY, D. J., GOLD, P. W. (1998): Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Annals of Internal Medicine*. 129. 3. 229-240.
54. 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.
55. COCKRAM, M. S., RANSON, M., IMLAH, P., GODDARD, P. J., BURRELLS, C., HARKISS, G. D. (1994): The behavioural, endocrine and immune responses of sheep to isolation. *Animal Science*. 58. 3. 389-399.
56. COGNIÉ, Y., POULIN, N., LOCATELLI, Y., MERMILLOD, P. (2004): State-of-the-art production, conservation and transfer of in-vitro-produced embryos in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development*. 16. 437-445.
57. COHEN, S., FOSS, E., BETHS, T., MUSK, G. C. (2024): An exploration of analgesia options for Australian sheep. *Animals*. 14. 990.

58. CONTRERAS-AGUILAR, M. D., ESCRIBANO, D., QUILE, A., LÓPEZ-ARJONA, M., CERÓN, J. J., MARTÍNEZ-SUBIELA, S., HEVIA, M. L., TECLES, F. (2019). Evaluation of new biomarkers of stress in saliva of sheep. *Animal*. 13. 6. 1278-1286.
59. COSTA, V. G. G., VIEIRA, A. D., SCHNEIDER, A., ROVANI, M. T., GONÇALVES, P. B. D., GASPERIN, B. G. (2018): Systemic inflammatory and stress markers in cattle and sheep submitted to different reproductive procedures. *Ciência Rural*. 48. 12. e20180336.
60. CSEH S., SEREGI J. (1993): Practical experiences with sheep embryo transfer. *Theriogenology*. 39. 1. 207.
61. CSEH S., BÉNYEI B., SEREGI J., TREUER Á., TÖRÖK M. (1994): A juhembrió- átültetés gyakorlati tapasztalatai. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 49. 5. 290-294.
62. CSEH S., SOLTI L. (2001): Studies on factors affecting superovulation and embryo transfer in Hungarian merino ewes. *Acta Veterinaria Hungarica*. 49. 4. 431-441.
63. CSEH S., VASS N., BRYDL E., JURKOVICS V., SOLTI L., FAIGL V. (2012): Juh embrióátültetés aktuális kérdései és lehetőségei. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 61. 3. 271-277.
64. 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.
65. DAS, S., SHAJI, A., NAIN, D., SINGHA, S., KARUNAKARAN, M., BAITHALU, R. K. (2023): Precision technologies for the management of reproduction in dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*. 55. 5. 286.
66. 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.
67. DIAS, J. H., PUPIN, M. A., DUARTE, G. S., BRAIR, V. L., CARVALHO DE PAULA, C. J., PAULA DE SOUSA, M. A., BATISTA, R. I. T. P., SOUZA-FABIAN, J.M. G., OLIVEIRA, M. E. F., FONSECA, J. F. (2020): Successful transcervical uterine flushing can be performed without or reduced dose of

- oestradiol benzoate in cervical relaxation protocol in Dorper. *Reproduction in Domestic Animal*. 55. 7. 844-850.
68. 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.
 69. DOBSON, H., SMITH, R. F. (2000): What is stress, and how does it affect reproduction? *Animal Reproduction Science*. 60-61. 743-752.
 70. DOBSON, H., FERGANI, C., ROUTLY, J. E., SMITH, R. F. (2012): Effects of stress on reproduction in ewes. *Animal Reproduction Science*. 130. 3-4. 135-140.
 71. DOHY J. (2000): Biotechnológia és állattenyésztés- új eredmények, kihívások, kilátások. *Állattenyésztés és takarmányozás*. 49.3. 285-288.
 72. DOVENSKI, T., TROJACANEC, P., PETKOV, V., POPOVSKA-PERCINIC, F., KOCOSKI, L., GRIZELJ, J. (2012): Laparoscopy-promising tool for improvement of reproductive efficiency of small ruminants. *Macedonian Veterinary Review*. 35. 1. 5-11.
 73. ĐURIČIĆ, D, DOBOS, A., GRBAVAC, J., STILES, C., BACAN, I., VIDAS, Z., MARKOVIĆ, F., KOČILA, P., SAMARDŽIJA, M. (2022): Climate impacts on reproductive performance of Romanov sheep in the moderate climate. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*. 10. 1. e2201.
 74. DUTT, R. H., CASIDA, L. E. (1948): Alteration of the estrual cycle in sheep by use of progesterone and its effect upon subsequent ovulation and fertility. *Endocrinology*. 43. 4. 208-217.
 75. EWING, K. K. (1990): Anesthesia techniques in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 6. 3. 759-778.
 76. FAIGL V., VASS N., JÁVOR A., KULCSÁR M., SOLTÍ L., AMIRIDIS, G., CSEH S. (2012): Artificial insemination of small ruminants – a review. *Acta Veterinaria Hungarica*. 60. 1. 115-129.
 77. FALCHI, L., ZEDDA, M. T., PAU, S., LEDDA, M., MELOSU, V., RASSU, S. P. G. (2021): The design of a new catheter for transcervical artificial insemination in ewes. *Animals*. 11. 3348.
 78. FERNANDEZ-NOVO, A., PÉREZ-GARNELO, S. S., VILLAGRÁ, A., PÉREZ-VILLALOBOS, N., ASTIZ, S. (2020): The effect of stress on reproduction and reproductive technologies in beef cattle—A review. *Animals*. 10. 11. 2096.

79. FIGUEIRA, L. M., ALVES, N. G., MAIA, A. L. R. S., SOUZA-FABJAN, J. M. G., BATISTA, R. I. T. P., ARRAIS, A. M., LIMA, R. R., OLIVEIRA, M. E. F., FONSECA J. F. (2020a): In vivo embryo production and recovery in Lacaune ewes after imposing a superovulation treatment regimen is related to pFSH dose. *Animal Reproduction Science*. 223. 106625.
80. FIGUEIRA, L. M., ALVES, N. G., MAIA, A. L. R. S., SOUZA-FABJAN, J. M. G., BATISTA, R. I. T. P., MORAIS, M. C. C., LIMA, R. R., OLIVEIRA, M. E. F., FONSECA, J. F. (2020b): Embryo yield and quality are associated with progestogen treatment during superovulation protocol in lactating Lacaune ewes. *Theriogenology*. 155. 132-138.
81. FINDLATER, R. C. F., HARESIGN, W., CURNOCK, R. M., BECK, N. F. G. (1991): Evaluation of intrauterine insemination of sheep with frozen semen: effects of time of insemination and semen dose on conception rates. *Animal Production*. 53. 1. 89-96.
82. FOGARTY, E. S., SWAIN, D. L., CRONIN, G., TROTTER, M (2018): Autonomous on-animal sensors in sheep research: A systematic review. *Computers and Electronics in Agriculture*. 150. 245-256.
83. FOGARTY, E. S., SWAIN, D. L., CRONIN, G. M., MORAES, L. E., TROTTER, M. (2020): Can accelerometer ear tags identify behavioural changes in sheep associated with parturition? *Animal Reproduction Science*. 216. 106345.
84. FONSECA, J. F., SOUZA-FABJAN, J. M., OLIVEIRA, M. E. F., LEITE, C. R., NASCIMENTO-PENIDO, P. M. P., BRANDÃO, F. Z., LEHLOENYA, K. C. (2016): Nonsurgical embryo recovery and transfer in sheep and goats. *Theriogenology*. 86. 1. 144-151.
85. FONSECA, J. F., ZAMBRINI, F. N., GUIMARÃES, J. D., SILVA, M. R., OLIVEIRA, M. E. F., BARTLEWSKI, P. M., SOUZA-FABJAN, J. M. G. (2019a): Cervical penetration rates and efficiency of non-surgical embryo recovery in estrous-synchronized Santa Inês ewes after administration of estradiol ester (benzoate or cypionate) in combination with d-cloprostenol and oxytocin. *Animal Reproduction Science*. 203. 25-32.
86. FONSECA, J. F., ZAMBRINI, F. N., GUIMARÃES, J. D., SILVA, M. R., OLIVEIRA, M. E. F., BRANDÃO, F. Z., BARTLEWSKI, P. M., SOUZA-FABJAN, J. M. G. (2019b): Combined treatment with oestradiol benzoate, d-

- cloprostenol and oxytocin permits cervical dilation and nonsurgical embryo recovery in ewes. *Reproduction in Domestic Animals*. 54. 118-125.
87. FORCADA, F., AMER-MEZIANE, M. A., ABECIA, J. A., MAUREL, M. C., CEBRIÁN-PÉREZ, J. A., MUIÑO-BLANCO, T., ASENJO, B., VÁZQUEZ, M. I., CASAO, A. (2011): Repeated superovulation using a simplified FSH/eCG treatment for in vivo embryo production in sheep. *Theriogenology*. 75. 769-776.
88. FUKUI, Y., TABUCHI, K., YAMADA, A., HAYASHI, N., TANAKA, K. (1994): Effect of insertion periods of controlled internal drug release device (CIDR[®]) on conception rate by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anestrus ewes. *Journal of Reproduction and Development*. 40. 3. 221-226.
89. FUKUI, Y., IIDA, K., OKADA, A., ZYOUZYOU, Y., WACHI, S., TOGAWA, M. (2002): Effect of insertion periods of controlled internal drug release device (CIDR[®]) on conception rate by fixed-time intrauterine insemination with frozen semen in seasonally anestrus ewes. *Journal of Reproduction and Development*. 48. 5. 485-488.
90. 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.
91. GALATOS, A. (2011): Anesthesia and analgesia in sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 27. 1. 47–59.
92. GAROUSSI, M. T., MAVADATI, O., BAHONAR, M., RAGH, M. J. (2020): The effect of medroxyprogesterone acetate with or without eCG on conception rate of fat-tail ewes in out of breeding season. *Tropical Animal Health and Production* 52. 3-4. 1617–1622.
93. GASKINS, C. T., SNOWDER, G. D., WESTMAN, M. K., EVANS, M. (2005): Influence of body weight, age, and weight gain on fertility and prolificacy in four breeds of ewe lambs. *Journal of Animal Science*. 83. 7. 1680-1689.
94. GEBREHIWOT, H. W., TSEGAYE, Y., GEBREKIDAN, B. (2018): A review on current status of embryo transfer technology in sheep and goats. *EC Veterinary Science*. 3. 1. 250-259.
95. GHASSEMI NEJAD, J., LOHAKARE, J. D., SON, J. K., KWON, E. G., WEST, J. W., SUNG, K. I. (2014): Wool cortisol is a better indicator of stress than blood

- cortisol in ewes exposed to heat stress and water restriction. *Animal*. 8. 1. 128-132.
96. GIBBONS, A., CUETO, M. (2011): Embryo transfer in sheep and goats- A training manual. Szerk. GIBBONS, A., CUETO, M. National Institute for Agricultural Technology, Argentina. 1-33.
 97. GONZALES-BULNES, A., MENCHANA, A., MARTIN, G. B., MARTINEZ-ROS, P. (2020): Seventy years of progestagen treatments for management of the sheep estrous cycle: where we are and where we should go. *Reproduction, Fertility and Development*. 32. 5. 441-452.
 98. GOUGOULIS, D. A., KYRIAZAKIS, I., FTHENAKIS, G. C. (2010): Diagnostic significance of behaviour changes of sheep: A selected review. *Small Ruminant Research*. 92. 1-3. 52-56.
 99. GOULET, F., CASTONGUAY, F. W. (2002): Influence of lambing-to-rebreeding interval on ewe reproductive performance in the anestrus season. *Canadian Journal of Animal Science*. 82. 3. 453-456.
 100. GOURLEY, D. D., RIESE, R. L. (1990): Laparoscopic artificial insemination in sheep. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 6. 3. 615-633.
 101. GURULE, S. C., TOBIN, C. T., BAILEY, D. W., GIFFORD, J. A. H. (2021): Evaluation of the tri-axial accelerometer to identify and predict parturition-related activities of Debouillet ewes in an intensive setting. *Applied Animal Behaviour Science*. 237. 105296.
 102. GURULE, S. C., FLORES, V. V., FORREST, K. K., GIFFORD, C. A., WENZEL, J. C., TOBIN, C. T., BAILEY, D. W., GIFFORD, J. A. H. (2022): A case study using accelerometers to identify illness in ewes following unintentional exposure to mold-contaminated feed. *Animals*. 12. 3. 266.
 103. GUTIÉRREZ-ADÁN, A., PÉREZ-GARNELO, S. S., GRANADOS, J., GARDE, J. J., PÉREZ-GUZMÁN, M., PINTADO, B., DE LA FUENTE, J. (1999): Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational state of oocyte. *Zygote*. 7. 1. 37-43.
 104. HÄGER, C., BIERNOT, S., BUETTNER, M., GLAGE, S., KEUBLER L. M., HELD, N., BLEICH, E. M., OTTO, K., MÜLLER, C. W., DECKER, S., TALBOT, S. R., BLEICH, A. (2017): The Sheep Grimace Scale as an indicator of post-operative distress and pain in laboratory sheep. *PLoS ONE*. 12. 4. e0175839.

105. HALBERT, G. W., DOBSON, H., WALTON, J. S., BUCKRELL, B. C. (1990): The structure of the cervical canal of the ewe. *Theriogenology* 33. 5. 977-992.
106. HARESIGN, W., WILLIAMS, R. J., KHALID, M., RODWAY, R. (1995): Heart rate responses and plasma cortisol and β -endorphin concentrations in ewes subjected to laparoscopy and its associated handling procedures. *Animal Science*. 61. 1. 77-83.
107. 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.
108. HASLER, J. F., MCCAULEY, A. D., LATHROP, W. F., FOOTE, R. H. (1987): Effect of donor-embryo-recipient interactions of pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*. 27. 1. 139-168.
109. HEMPSTEAD, M. N., WAAS, J. R., STEWART, M., CAVE, V. M., SUTHERLAND, M. A. (2018): Evaluation of alternatives to cautery disbudding of dairy goat kids using behavioural measures of post-treatment pain, *Applied Animal Behaviour Science*. 206. 32-38.
110. HERLIN, A., BRUNBERG, E., HULTGREN, J., HÖGBERG, N., RYDBERG, A., SKARIN, A. (2021): Animal welfare implications of digital tools for monitoring and management of cattle and sheep on pasture. *Animals*. 11. 3. 829.
111. 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.
112. HOUDEAU, E., RAYNAL, P., MARNET, P. G., GERMAIN, G., MORMÈDE, P., ROSSANO, B., MONNERIE, R., PRUD'HOMME, M. J. (2002): Plasma levels of cortisol and oxytocin, and uterine activity after cervical artificial insemination in the ewe. *Reproduction Nutrition Development*. 42. 4. 381-392.
113. HUMAIDAH, N., TRISUNUWATI, P., IHSAN, M. N., CIPTADI, G. (2022): Stress evaluation and stress response of goat's intracervical insemination in indonesia smallholder farms. *International Research Journal of Advanced Engineering and Science*. 7. 3. 32-36.
114. IKURIOR, S. J., POMROY, W. E., SCOTT, I., CORNER-THOMAS, R., MARQUETOUX, N., LEU, S. T. (2020): Gastrointestinal nematode infection affects overall activity in young sheep monitored with tri-axial accelerometers. *Veterinary Parasitology*. 283. 109188.

115. JABBOUR, H. N., RYAN, J. P., EVANS, G., MAXWELL, W. M. C. (1991): Effects of season, GnRH administration and lupin supplementation on the ovarian and endocrine responses of Merino ewes treated with PMSG and FSH-P to induce superovulation. *Reproduction, Fertility and Development*. 3. 699-707.
116. JÁVOR, A., KUKOVICS, S. (2021): A bárány és juhhús fenntarthatóságát alátámasztó érvek. In: *A bárány- és juhhús fenntarthatósága*. Szerk. KUKOVICS, S., *Juh TermékTanács- Interovic*, Budapest, 16-19.
117. KAABI, M., ALVAREZ, M., ANEL, E., CHAMORRO, C. A., BOIXO, J. C., PAZ, P., ANEL, L. (2006): Influence of breed and age on morphometry and depth of inseminating catheter penetration in the ewe cervix: A postmortem study. *Theriogenology*. 66. 1876–1883.
118. KALER, J., MITSCH, J., VÁZQUEZ-DIOSDADO, J. A., BOLLARD, N., DOTTORINI, T., ELLIS, K. A. (2020): Automated detection of lameness in sheep using machine learning approaches: novel insights into behavioural differences among lame and non-lame sheep. *Royal Society Open Science*. 7. 1. 190824.
119. KARAGIANNIDIS, A., VARSAKELI, S., KARATZAS, G., BROZOS, C. (2001): Effect of time of artificial insemination on fertility of progestagen and PMSG treated indigenous Greek ewes, during non-breeding season. *Small Ruminant Research*. 39. 1. 67-71.
120. KERSHAW, C. M., KHALID, M., MCGOWAN, M. R., INGRAM, K., LEETHONGDEE, S., WAX, G., SCARAMUZZI, R. J. (2005): The anatomy of the sheep cervix and its influence on the transcervical passage of an inseminating pipette into the uterine lumen. *Theriogenology*. 64. 1225-1235.
121. 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.
122. KILGOUR, R., LANGEN, H. (1970): Stress in sheep resulting from management practices. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 30. 65-76.
123. KLEEMANN, D. O., WALKER, S. K. (2005): Fertility in South Australian commercial Merino flocks: sources of reproductive wastage. *Theriogenology*. 63. 8. 2075-2088.

124. KOLLERSTROM, N., POWER, C. (2000): The influence of the lunar cycle on fertility on two Thoroughbred studfarms. *Equine Veterinary Journal*. 32. 1. 75-77.
125. KOVÁCS K., KÉZÉR F. L., RUFF F., JURKOVICH V., SZENCI O. (2018): Assessment of heat stress in 7-week old dairy calves with non-invasive physiological parameters in different thermal environments. *PLoS ONE* 13. 7. e0200622.
126. KOVÁCS K., KÉZÉR F. L., PÓTI P., JURKOVICH V., SZENCI O., NAGY K. (2019): Short communication: Heart rate variability, step, and rumination behavior of dairy cows milked in a rotary milking system. *Journal of Dairy Science*. 102. 6. 5525-5529.
127. KUKOVICS S., GYÖKÉR E., NÉMETH T., GERGÁTZ E. (2011): Artificial insemination of sheep - Possibilities, realities and techniques at the farm level. In: *Artificial Insemination in Farm Animals*. Szerk. MANAFI M. Intech Open, 27-50.
128. KUKOVICS S. (2021): Előszó. In: *A bárány- és juhhús fenntarthatósága*. Szerk. KUKOVICS S., Juh Terméktanács- Interovic, Budapest, 10-13.
129. KUKOVICS S. (2022): A tenyésztett fajták és a fajtapolitikát befolyásoló tényezők. In: *Juhtenyésztés haladóknak az extenzívtől a precíziósig*. Szerk. JÁVOR A., Debreceni Egyetem, Juh Terméktanács, Debrecen, 78-161.
130. LAMY, E., HARTEN, S., SALES-BAPTISTA, E., MANUELA, M., GUERRA, M., ALMEIDA, A. M. (2012): Factors Influencing Livestock Productivity. In: *Environmental Stress and Amelioration in Livestock Production*. Szerk. SEIJAN, V., NAQVI, S. M. K., EZEJI, T., LAKRITZ, J., LAL, R. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, 19-51.
131. LEDGERWOOD, D. N., WINCKLER, C., TUCKER, C. B. (2010): Evaluation of data loggers, sampling intervals, and editing techniques for measuring the lying behavior of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*. 93. 11. 5129-5139.
132. 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*.
133. MACEDO, G. G., ZÚCCARI, C. E. S. N., ABREU, U. G. P., NEGRÃO, J. A., SILVA, E. V. C. (2011): Human-animal interaction, stress, and embryo production in *Bos indicus* embryo donors under tropical conditions. *Tropical Animal Health and Production*. 43. 6. 1175-1182.

134. MACFARLANE, M. S., BREEN, K. M., SAKURAI, H., ADAMS, B. M., ADAMS, T.E. (2000): Effect of duration of infusion of stress-like concentrations of cortisol on follicular development and the preovulatory surge of LH in sheep. *Animal Reproduction Science*. 63. 3-4. 167-175.
135. MACKENZIE, A. J., THWAITES, C. J., EDEY, T. N. (1975): Oestrous, ovarian and adrenal response of the ewe to fasting and cold stress. *Australian Journal of Agricultural Research*. 26. 3. 545-551.
136. MAGYAR K., KOMLÓSI I., VERESS L. (1989): Laparoscopic intrauterine insemination of sheep with deep-frozen semen. Preliminary Report. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 44. 8. 475-477.
137. 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.
138. MARTINEZ-ROS, P., GONZALES-BULNES, A., GARCIA-ROSELLO, E., RIOS-ABELLAN, A., ASTIZ, S. (2019): Effects of short-term intravaginal progestagen treatment on fertility and prolificacy after natural breeding in sheep at different reproductive seasons. *Journal of Applied Animal Research*. 47. 1. 201-205.
139. MAXWELL, W. M. C. (1986): Artificial insemination of ewes with frozen-thawed semen at a synchronised oestrus. 1. Effect of time of onset of oestrus, ovulation and insemination on fertility. *Animal Reproduction Science*. 10. 4. 301-308.
140. MCKELVEY, B. (1999): AI and embryo transfer for genetic improvement in sheep: the current scene. In *Practice*. 21. 4. 190-195.
141. MCKELVEY, W. A. C., ROBINSON, J. J., AITKEN, R. P., ROBERTSON, I. S. (1986): Repeated recoveries of embryos from ewes by laparoscopy. *Theriogenology*. 25. 6. 855-865.
142. MCMILLAN, W. H., HALL, D. R. H. (1994): Laparoscopic transfer of ovine and cervine embryos using the transpic technique. *Theriogenology*. 42. 1. 137-146.
143. MENCHACA, A., RUBIANES, E. (2004): New treatments associated with timed artificial insemination in small ruminants. *Reproduction, Fertility and Development* 16. 403-413.

144. MENCHACA, A., VILARIÑO M, PINCZAK, A., KMAID, S., SALDAÑA, J. M. (2009): Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 Protocol for MOET programs in sheep. *Theriogenology*. 72. 477-483.
145. MORMÈDE, P., ANDANSON, S., AUPÉRIN, B., BEERDA, B., GUÉMÉNÉ, D., MALMKVIST, J., MANTECA, X., MANTEUFFEL, G., PRUNET, P., REENEN, C. G., RICHARD, S., VEISSIER, I. (2007): Exploration of the hypothalamic–pituitary–adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiology & Behavior*. 92. 3. 317–339.
146. MORTON, D. B., GRIFFITHS, P. H. M. (1985): Guidelines on the recognition of pain, distress and discomfort in experimental animals and an hypothesis for assessment. *The Veterinary Record*. 116. 431-436.
147. MOTTRAM, T. (2015): Animal board invited review: precision livestock farming for dairy cows with a focus on oestrus detection. *Animal*. 10. 10. 1575–1584.
148. MÖSTL, E., MAGGS, J. L., SCHRÖTTER, G., BESENFELDER, U., PALME, R. (2002): Measurement of cortisol metabolites in faeces of ruminants. *Veterinary Research Communication*. 26. 2. 127-139.
149. MUHAMMAD, M., STOKES, J. E., MANNING, L. (2022): Positive aspects of welfare in sheep: current debates and future opportunities. *Animals*. 12. 3265.
150. NÁBRÁDI A., CEHLA B., SZIGETI O., SZAKÁLY Z. (2012): A magyar juhtenyésztés gazdasági és piaci helyzete. *Állattenyésztés és Takarmányozás*. 61. 3. 294-312.
151. NAKAO, T., SATO, T., MORIYOSHI, M., KAWATA, K. (1994): Plasma cortisol response in dairy cows to vaginoscopy, genital palpation per rectum and artificial insemination. *Zentralbl Veterinarmed A*. 41. 1. 16-21.
152. NAPOLITANO, F., ARNEY, D., MOTA-ROJAS, D., DE ROSA, G. (2020): Reproductive technologies and animal welfare. In: *Reproductive Technologies in Animals*. Szerk. Presicce, G. A., Academic Press, United States, 275-286.
153. NARAYAN, E., SAWYER, G., HOSKINS, N., CURREN, G. (2021): Reproductive Rates of Merino Ewes and Offspring Quality under AI Program. In: *Sheep Farming - Herds Husbandry, Management System, Reproduction and Improvement of Animal Health*. Szerk. RONQUILLO, M. G., RIOCEREZO, C. P., IntechOpen Limited, London, 1-15.
154. NELLENSCHULTE, E., NIEMANN, H. (1991): Collection and transfer of ovine embryos by laparoscopy. *Animal Reproduction Science*. 27. 293-304.

155. NIEZGODA, J., WRÓŃSKA, D., PIERZCHAŁA, K., BOBEK, S., KAHL, S. (1987): Lack of adaptation to repeated emotional stress evoked by isolation of sheep from the flock. *Journal of Veterinary Medicine A*. 34. 734-739.
156. OLIVEIRA, F. C., HAAS, C. S., FERREIRA, C. E. R., GOULARTE, K. L., PEGORARO, L. M. C., GASPERIN, B. G., SCHNEIDER, A., MONDADORI, R. G., LUCIA JR., T., VIEIRA, A. D. (2018): Inflammatory markers in ewes submitted to surgical or transcervical embryo collection. *Small Ruminant Research*. 158. 15-18.
157. OZYURTLU, N., KUCUKASLAN, I., CETIN, Y. (2010): Characterization of oestrous induction response, oestrous duration, fecundity and fertility in Awassi ewes during the non-breeding season utilizing both CIDR and intravaginal sponge treatments. *Reproduction in Domestic Animals*. 45. 3. 464–467.
158. PAJOR F., LÁCZÓ E., ERŐS O., PÓTI P. (2009): Effects of crossbreeding Hungarian Merino sheep with Suffolk and Ile de france on carcass traits. *Archiv Tierzucht*. 52. 2. 169-176.
159. 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.
160. PALACIOS, C., ABECIA, J. A. (2011): Lunar cycle and the frequency of births in sheep. *Biological Rhythm Research*. 42. 4. 283-286.
161. PALACIOS, C., ABECIA, J. A. (2014): Does lunar cycle affect lamb production after artificial insemination in sheep? *Biological Rhythm Research*. 45. 6. 869-873.
162. PALACIOS, C., ABECIA, J. A. (2015): Meteorological variables affect fertility rate after intrauterine artificial insemination in sheep in a seasonal-dependent manner: a 7-year study. *International Journal of Biometeorology*. 59. 5. 585–592.
163. PALME, R., MÖSTL, E. (1997): Measurement of cortisol metabolites in faeces of sheep as a parameter of cortisol concentration in blood. *International Journal of Mammalian Biology*. 62. 2. 192-197.
164. PIERZCHAŁA, K., NIEZGODA, J., BOBEK, S. (1985) The effect of isolation on plasma cortisol, glucose and free fatty acids in sheep. *Zentralbl Veterinarmed A*. 32. 2. 140-145.

165. RIBEIRO, A. C. S., TAIRA, A. R., SANTOS, V. C., BRAIR, V. L., LOPES, M. P. F., BALARO, M. F. A., SOUZA-FABJAN, J. M. G., FONSECA, J. F., UNGERFELD, R., BRANDÃO, F. Z. (2023): Use of meloxicam with or without dipyrone in non-surgical embryo recovery in hair sheep: Effects on animal welfare. *Reproduction in Domestic Animals*. 58. 7. 972-981.
166. ROBERTS, E.M., (1968): Endoscopy of the reproductive tract of the ewe. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*. 7. 192.
167. ROGER, P. A. (2012): Welfare issues in the reproductive management of small ruminants. *Animal Reproduction Science*. 130. 141-146.
168. 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.
169. SANTOS, J. D. G., UNGERFELD, R., BALARO, M. F. A., SOUZA-FABJAN, J. M. G., COSENTINO, I. O., BRAIR, V. L., SOUZA, C. V., PINTO, P. H. N., BADE, A. L. C., FONSECA, J. F., BRANDÃO, F. Z. (2020): Transcervical vs. laparotomy embryo collection in ewes: The effectiveness and welfare implications of each technique. *Theriogenology*. 153. 1. 112-121.
170. SANTOS-NETO, P. C., GARCÍA-PINTOS, C., PINCZAK, A., MENCHACA, A. (2015): Fertility obtained with different progestogen intravaginal devices using Short-term protocol for fixed-time artificial insemination (FTAI) in sheep. *Livestock Science* 182. 125-128.
171. SATHE, S. R. (2018): Laparoscopic artificial insemination technique in small ruminants - A procedure review. *Frontiers in Veterinary Science*. 5. 266.
172. SCHIEWE, M. C., BUSH, M., STUART, L. S., WILDT, D. E. (1984): Laparoscopic embryo transfer in domestic sheep: A preliminary study. *Theriogenology*. 22. 6. 675-682.
173. SCHILLINGS, J., BENNETT, R., ROSE, D. C. (2021): Exploring the potential of precision livestock farming technologies to help address farm animal welfare. *Frontiers in Veterinary Science*. 2:639678.
174. SHIN, S. T., JANG, S. K., YANG, H. S., LEE, O. K., SHIM, Y. H., CHOI, W. I., LEE, D. S., LEE, G. S., CHO, J. K., LEE, Y. W. (2008): Laparoscopy vs. laparotomy for embryo transfer to produce transgenic goats (*Capra hircus*). *Journal of Veterinary Science*. 9. 1. 103-107.

175. 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.
176. SILVA, N. E. O. F., TRINDADE, P. H. E., OLIVEIRA, A. R., TAFFAREL, M. O., MOREIRA, M. A. P., DENADAI, R., ROCHA, P. B., LUNA, S. P. L. (2020): Validation of the Unesp-Botucatu composite scale to assess acute postoperative abdominal pain in sheep (USAPS). *PLoS ONE*. 15. 10. e0239622.
177. SILVA, S. R., ARAUJO, J. P., GUEDES, C., SILVA, F., ALMEIDA, M., CERQUEIRA, J.M. (2021): Precision technologies to address dairy cattle welfare: focus on lameness, mastitis and body condition. *Animals*. 11, 2253
178. SLAVOVA, S., ACHKAKANOVA, E. (2021): Study on some economic indicators, characterizing the production efficiency of raising Ile de france sheep. I. Comparative analysis of economic results in different production units. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*. 27. 5. 838–845.
179. SMITH, R. F., GHUMAN, S. P. S., EVANS, N. P., KARSCH, F. J., DOBSON, H. (2003): Stress and the control of LH secretion in the ewe. *Reproduction Supplement*. 61. 267-282.
180. SMITH, S. M., VALE, W. W. (2006): The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues in Clinical Neuroscience*. 8. 4. 383–395.
181. 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.
182. 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.
183. STEAGALL, P. V., BUSTAMANTE, H., JOHNSON, C. B., TURNER, P. V. (2021): Pain management in farm animals: Focus on cattle, cheep and pigs. *Animals*. 11. 1483.
184. STUBSJØEN, S. M., KNAPPE-POINDECKER, M., LANGBEINC, J., FJELDAAS T., BOHLIN J. (2015): Assessment of chronic stress in sheep (part

- II): Exploring heart rate variability as a non-invasive measure to evaluate cardiac regulation. *Small Ruminant Research*. 133. 30-35.
185. 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.
186. SWELUM, A. A., ALOWAIMER, A. N., ABOUHEIF, M. A. (2015): Use of fluorogestone acetate sponges or CIDR for estrus synchronization in ewes: effects of hormonal profiles and reproductive performance. *Theriogenology*. 84. 4. 498-503.
187. SZABADOS T. (2007): A cerviko-uterinális inszeminálás eredményességének vizsgálata juhászatokban. PhD értekezés. Nyugat-Magyarországi Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Mosonmagyaróvár.
188. 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.
189. TERVIT, H. R, GOOLD, P. G., JAMES, R. W. (1984): The insemination of sheep with fresh or frozen semen. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*. 144. 11-13.
190. TORRES, S., SEVELLEC, C. (1987): Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe. *Reproduction Nutrition Developement*. 27. 4. 859-863.
191. VAINTRUB, M. O., LEVIT, H., CHINCARINI, M., FUSARO, I., GIAMMARCO, M., VIGNOLA, G. (2021): Review: Precision livestock farming, automats and new technologies: possible applications in extensive dairy sheep farming. *Animal*. 15. 3. 100143.
192. VASS N. (2014): A juh embrióátültetés eredményességét befolyásoló tényezők. PhD értekezés. Debreceni Egyetem, Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar, Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola, Debrecen
193. 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 Termék Tanács és Szakmaközi Szervezet, Várpalota, 135-144.

194. VASS N., BODÓ SZ., EGERSEGI I., MONORI I., CSEH S., OLÁH J., JÁVOR A. (2018): A juhtenyésztés fejlesztésében alkalmazható biotechnológiai módszerek. *Magyar Juhászat és Kecsketenyésztés*. 27. 8. 6-10.
195. VASS N., BODÓ SZ., CSEH S. (2019): A juh embrióátültetési eljárás felhasználása egy újfajta, a Fehér Suffolk hazai honosítása érdekében. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 141. 63-64.
196. WILLIAMS, E. G., DAVIS, C. N., WILLIAMS, M., JONES, D. L., CUTRESS, D., WILLIAMS, H. W., BROPHY, P. M., ROSE, M. T., STUART, R. B., JONES, R. A. (2022): Associations between gastrointestinal nematode infection burden and lying behaviour as measured by accelerometers in periparturient ewes. *Animals*. 12. 18. 2393.
197. WILLIAMS, M., DAVIS, C. N., JONES, D.L., DAVIES, E. S., VASINA, P., CUTRESS, D., ROSE, M. T., JONES, R. A., WILLIAMS, H. W. (2021): Lying behaviour of housed and outdoor-managed pregnant sheep. *Applied Animal Behaviour Science*. 241. 105370.
198. WOJTAS, K., CWYNAR, P., KOŁACZ, R. (2014): Effect of thermal stress on physiological and blood parameters in merino sheep. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*. 58. 2. 283-288.
199. WRIGHT, J. M. (1981): Non-surgical embryo transfer in cattle embryo-recipient interactions. *Theriogenology*. 15. 1. 43-56.
200. WULSTER-RADCLIFFE, M. C., COSTINE, B. A., LEWIS, G. S. (1999): Estradiol-17 beta-oxytocin-induced cervical dilation in sheep: application to transcervical embryo transfer. *Journal of Animal Science*. 77. 2587-2593.
201. YARDIMCI, M., SAHIN, E. H., CETINGUL, I. S., BAYRAM, I., ASLAN, R., SENHOR, E. (2013): Stress responses to comparative handling procedures in sheep. *Animal*. 7. 1. 143-150.
202. YATES, D. T., ROSS, T. T., HALLFORD, D. M., YATES, L. J., WESLEY, R. L. (2013): Technical note: Comparison of salivary and serum cortisol concentrations after adrenocorticotrophic hormone challenge in ewes. *Journal of Animal Science*. 88. 2. 599-603.
203. ZAPASNIKIENĖ, 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.

204. ZÁSZNLÓŠ T. (2017): Kőszőntő. In: A Kiskérődző Szektor Jelene Éš Jővője. Szerk. KUKOVICS S., Juh- és Kecské Termétkanács és Szakmakőzi Szervezet, Várpalota, 9-10.
205. ZŐLDÁG L. (2012): Tenyésztési eljárások: tenyész kiválasztás, párosítás és szaporítás. In: Állatorvosi Genetika és Állattenyésztés tan. Szerk. ZŐLDÁG L., Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar, Budapest, 260-293.

Internetes források:

1. Net1: <https://smartplatform.network/> (2025.01.26.)
2. Net2: <https://www.ksh.hu/> (2024.04.25.)
3. Net3: VIANA, J. H. M. (2025): 2024 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. In: Embryo Technology Newsletter, 43. 4. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2024.pdf (2025.12.31)
4. Net4: VIANA, J. H. M. (2024): 2023 Statistics of embryo production and transfer in domestic farm animals. In: Embryo Technology Newsletter, 42. 4. chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://www.iets.org/Portals/0/Documents/Public/Committees/DRC/IETS_Data_Retrieval_Report_2022.pdf (2024.12.09.)
5. Net5: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcgiclfndmkaj/https://mail.tolnagro.hu:7777/wbs2/data/cikk/leiras/101249.pdf (2024.09.12.)

11. 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. Állatorv. Lapja. 145 (2), 103-112, 2023. ISSN: 0025-004X.
DOI: <http://dx.doi.org/10.56385/magyallov.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 báránycs 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., Biszkup, 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 báránycs 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., Rátty, 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.




12. NYILATKOZATOK

NYILATKOZAT

Ezen értekezést a Debreceni Egyetem Állattenyésztési Tudományok Doktori Iskola keretében készítettem, a Debreceni Egyetem doktori (Ph.D.) fokozatának elnyerése céljából.

Debrecen, 2026. 01. 08.



A jelölt aláírása

NYILATKOZAT

Tanúsítom, hogy Dr. Bagi Melinda doktorjelölt 2020-2024 között a fent megnevezett Doktori Iskola keretében irányításommal végezte munkáját. Az értekezésben foglalt eredményekhez a jelölt önálló alkotó tevékenységével meghatározóan hozzájárult, az értekezés a jelölt önálló munkája. Az értekezés elfogadását javaslom.

Debrecen, 2026. 01. 08.



A témavezető aláírása

13. ÁBRÁK, TÁBLÁZATOK JEGYZÉKE

Ábrák jegyzéke

- 1. ábra:** Ile de France telepek (kék kör) és a hozzájuk tartozó meteorológiai állomások (piros kör)
- 2. ábra:** Csoportonkénti átlagos nyál kortizol koncentráció változása
- 3. ábra:** Az átlagos fekvési periódusok hosszának változása a műtét előtti átlaghoz képest
- 4. ábra:** Az anyák életkora és a termékenyülés valószínűsége közötti összefüggés
- 5. ábra:** A termékenyülés valószínűsége kősonként az életkor összefüggésében

Táblázatok jegyzéke

- 1. táblázat:** Átlagos nyál kortizol koncentrációk
- 2. táblázat:** Fekvési viselkedésváltozás a beavatkozás előtti és utáni 24 órában
- 3. táblázat:** A fekvési viselkedésváltozások a műtét előtti és utáni 24 órában (kivéve a műtét utáni 1 órát)
- 4. táblázat:** A meteorológiai paraméterek hatásának vizsgálata a vemhesség valószínűségére
- 5. táblázat:** Telepi menedzsment egyes paramétereinek hatása a termékenyítés sikerességére

14. RÖVIDÍTÉSEK JEGYZÉKE

ACTH: adrenokortikotrop hormon

APP: akut fázisú protein

ART: asszisztált reprodukciós technikák

BCS: body condition score

CIDR: controlled internal drug release

CRH: kortikotropin felszabadító hormon

eCG: equine chorionic gonadotropine

FSH: follikulus stimuláló hormon

GnRH: gonadotropine releasing hormone

HPA: hipotalamusz-hipofízis-mellékvese

HPO: hipotalamusz-hipofízis-petefészek

i.m.: intramuscularis

K: kontroll csoport

L: laparoszópos csoport

LH: luteinizáló hormon

MOET: multiple ovulation and embryo transfer

MT: mesterséges termékenyítés

NSAIDs: nem szteroid gyulladáscsökkentő gyógyszerek

PGF_{2α}: prosztaglandin F_{2α}

PMSG: pregnant mare serum gonadotropine

Prec: csapadékmennyiség

RH: relatív páratartalom

SL: fél-laparoszópos csoport

SR: solar radiation

T_{átl}: átlagos hőmérséklet

T_{dif}: átlagos hőingás

THI: hőmérséklet páratartalom index

T_{max}: maximum hőmérséklet

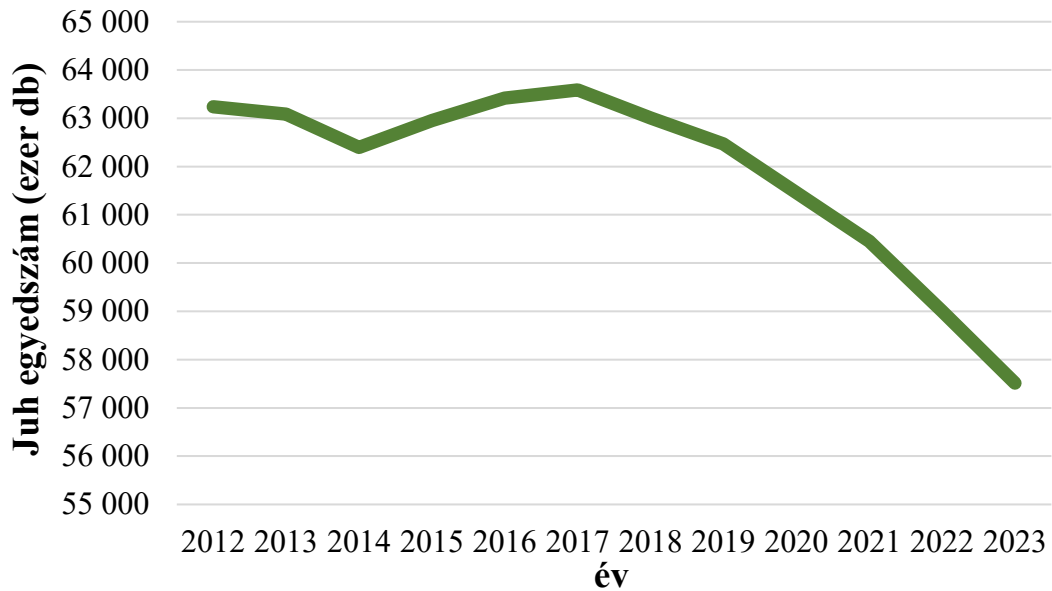
T_{min}: minimum hőmérséklet

USAPS: Unesp-Botucatu sheep acute pain scale

15. MELLÉKLETEK

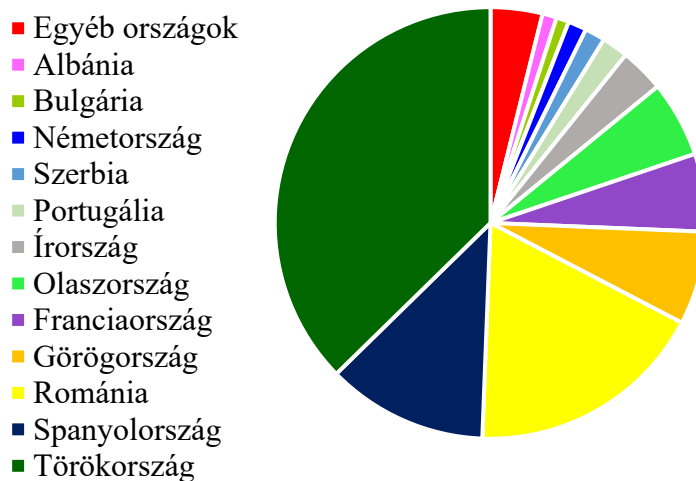
1. melléklet: A juhállomány alakulása az EU tagállamaiban 2012 és 2023 között

Juhállomány alakulása az EU 27 tagállamában

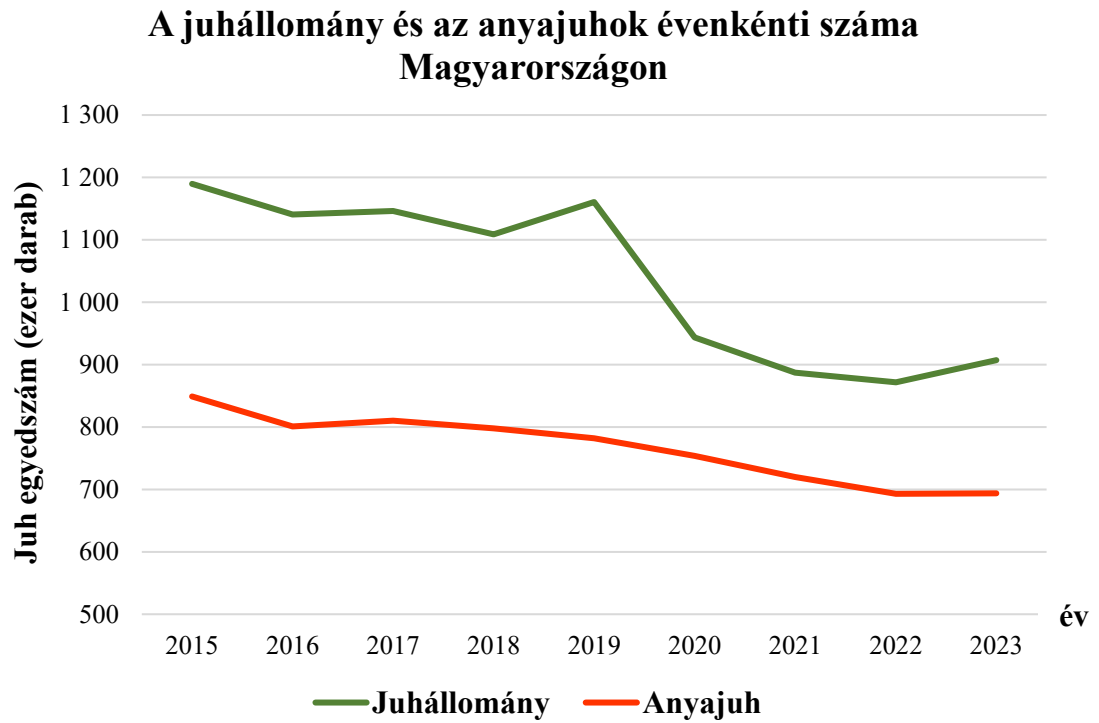


2. melléklet: A juhállomány megoszlása az EU 23 országában

EU 23 országának juhállomány megoszlása

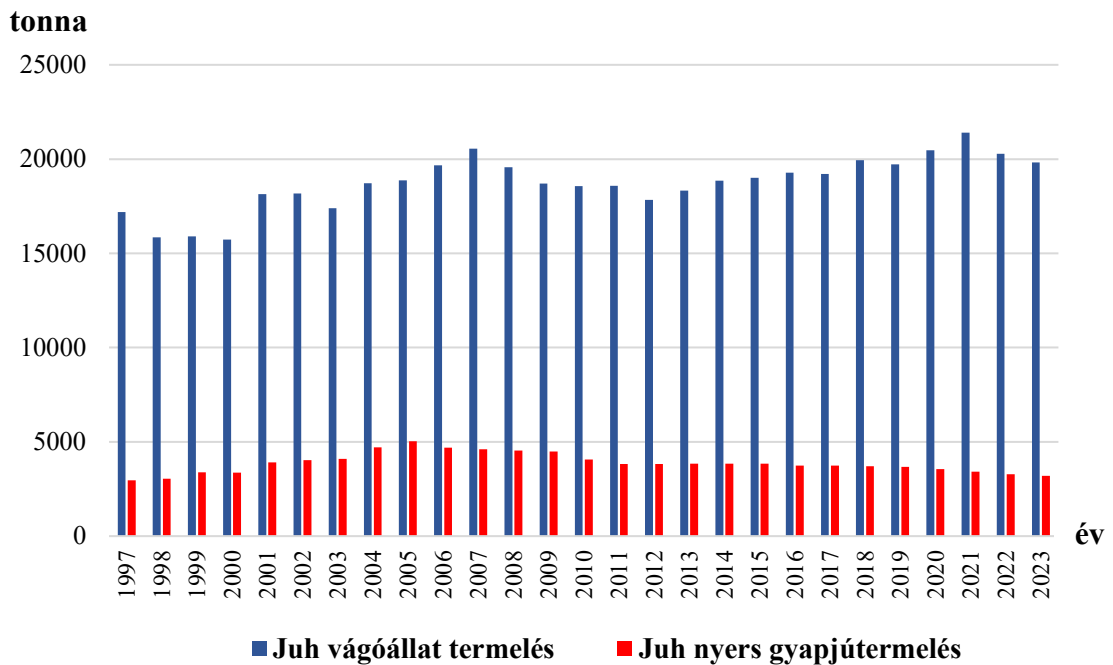


3. melléklet: A teljes juhállomány és ebből az anyajuhok évenkénti száma Magyarországon 2015-2023 között

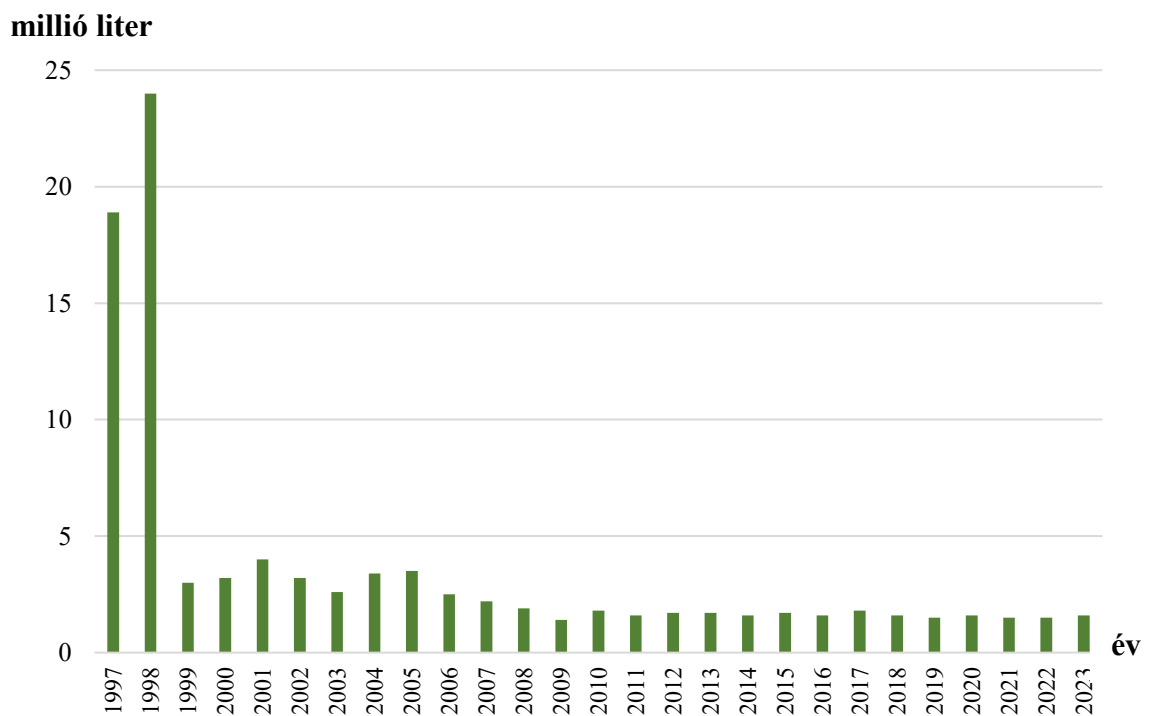


4. melléklet: Magyarországi juh vágóállat, gyapjú-, és tejtermelés 1997-2023 között
(Forrás: Net2)

A juh vágóállat és nyers gyapjútermelés Magyarországon



A juh tejtermelés alakulása Magyarországon



5. melléklet: Kortizol koncentráció mérése ismételt mérési modellel (Duncan-féle teszt)

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Kezelés	2	13,54	6,769	0,809	0,454
Residuals	35	292,88	8,368		

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Kezelés	3	115,1	38,36	11,152	2,06e-06***
Kezelés:mérés	6	3,7	0,61	0,179	0,982
Residuals	105	361,2	3,44		

Kortizol koncentráció (ng/ml) csoport átlagok

Mintavétel időpontja	Átl. kortizol koncentráció	
3	5,65	a
2	4,86	a
1	3,61	b
4	3,60	b

Magyarázat:

Df: szabadságfok

Sum Sq: Négyzetek összege

Mean Sq: Négyzetek átlaga

F value: F érték

Pr: Valószínűség

Residuals: Maradékok

Szignifikancia: *** $p < 0,001$, ** $p < 0,01$, * $p < 0,05$

a,b: az azonos betűk nem szignifikáns különbséget jeleznek

6. melléklet: Az átlagos fekvési idő (perc) elemzése párosított-t próbával

	1	2
K	40,7	62,7
L	35,5	73,2
SL	26,5	55,1

1: átlagos fekvési idő (perc) a műtét előtti 24 órában

2: átlagos fekvési idő (perc) a műtét utáni 24 órában

K csoport:

t = -2,2002

df = 15

p-value = 0,04388

konfidencia intervallum:

-43,28153 -0,68684

sample estimates: mean difference: -21,98418

L csoport:

t = -4,4134

df = 14

p-value = 0,0005894

konfidencia intervallum:

-56,02364 -19,37983

sample estimates: mean difference: -37,70173

SL csoport:

t = -4,0407

df = 9

p-value = 0,002926

konfidencia intervallum:

-44,52354 -12,56356

sample estimates: mean difference: -28,54355

Megjegyzés:

t: próba statisztika értéke

df: szabadságfok

p-value: számított szignifikancia szint

sample estimates: mean difference: becsült átlagos különbség

7. melléklet: A fekvési periódusok számának elemzése párosított-t próbával

	1	2
K	10,9375	7,5
L	14,2000	8,6
SL	11,3000	6,8

1: fekvési periódusok száma a műtét előtti 24 órában

2: fekvési periódusok száma a műtét utáni 24 órában

K csoport:

t = 2,3629

df = 15

p-value = 0,03206

konfidencia intervallum:

0,3366942 6,5383058

sample estimates:mean difference: 3.4375

L csoport:

t = 2,5668

df = 14

p-value = 0,02238

konfidencia intervallum:

0.9206279 10.2793721

sample estimates:mean difference: 5.6

SL csoport:

t = 2,5767

df = 9

p-value = 0,02986

konfidencia intervallum:

0.5493124 8.4506876

sample estimates:mean difference: 4.5

Megjegyzés:

t: próba statisztika értéke

df: szabadságfok

p-value: számított szignifikancia szint

sample estimates: mean difference: becsült átlagos különbség

8. melléklet: A meteorológiai paraméterek korrelációs mátrixa

	Tátl1	Tdif1	Tátl2	Tdif2	Tmax1	Tmin1	Rh1	Prec1	Tmax2	Tmin2	Rh2	Prec2
Tátl1	1,00	-0,12	0,42	-0,05	0,88	0,69	0,69	0,51	0,48	0,25	-0,11	-0,02
Tdif1	-0,12	1,00	-0,07	-0,05	-0,24	-0,04	-0,28	-0,48	-0,05	-0,08	0,38	0,50
Tátl2	0,42	-0,07	1,00	0,38	0,48	0,20	0,23	0,15	0,96	0,87	-0,23	-0,40
Tdif2	-0,05	-0,05	0,38	1,00	0,32	-0,48	-0,42	-0,32	0,26	0,44	-0,40	-0,11
Tmax1	0,88	-0,24	0,48	0,32	1,00	0,30	0,40	0,48	0,49	0,35	-0,32	-0,15
Tmin1	0,69	-0,04	0,20	-0,48	0,30	1,00	0,87	0,32	0,25	0,09	0,11	0,01
Rh1	0,69	-0,28	0,23	-0,42	0,40	0,87	1,00	0,52	0,29	0,10	-0,17	-0,31
Prec1	0,51	-0,48	0,15	-0,32	0,48	0,32	0,52	1,00	0,18	0,12	-0,09	-0,39
Tmax2	0,48	-0,05	0,96	0,26	0,49	0,25	0,29	0,18	1,00	0,74	-0,22	-0,36
Tmin2	0,25	-0,08	0,87	0,44	0,35	0,09	0,10	0,12	0,74	1,00	-0,02	-0,44
Rh2	-0,11	0,38	-0,23	-0,40	-0,32	0,11	-0,17	-0,09	-0,22	-0,02	1,00	0,38
Prec2	-0,02	0,50	-0,40	-0,11	-0,15	0,01	-0,31	-0,39	-0,36	-0,44	0,38	1,00

Megjegyzés: zöld színnel a szoros, sárgával a közepesen szoros összefüggések vannak jelölve

9. melléklet: Az évszak és a holdfázisok hatása az ikervemhességre

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	-1,26967	0,66347	-1,914	0,05566*
Hold1/2	-0,53386	0,32043	-1,666	0,09570*
Hold1/3	-0,06753	0,80992	-0,083	0,93355
Hold2/2	-0,18562	0,40232	-0,461	0,64452
Hold2/3	0,64207	0,39552	1,623	0,10451
Telihold	0,02673	0,05690	0,470	0,63855
Évszak	0,66271	0,24181	2,741	0,00613 **

$$\hat{Y} = b_0 + b_{\text{Hold1/2}} + b_{\text{Hold1/3}} + b_{\text{Hold2/2}} + b_{\text{Hold2/3}} + b_{\text{Telihold}} + b_{\text{Évszak}}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

* p<0,1; ** p<0,01

10. melléklet: A kor hatása a termékenyülés valószínűségére a tavaszi inszeminációk során

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	0,3669567	0,1721637	2,131	0,0331*
Kor	-0,0002817	0,0001237	-2,278	0,0227*

$$\hat{Y} = b_0 + b_{\text{kor}}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

* p<0,05

11. melléklet: A kor és a koshatás vizsgálata a termékenyítések sikerességére

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	-6,229e-02	3,634e-01	-0,171	0,86389
Kos2	-6,062e-02	5,289e-01	-0,115	0,90874
Kos3	1,243e-01	4,229e-01	0,294	0,76887
Kos4	-2,495e-01	4,328e-01	-0,576	0,56433
Kos5	3,015e-01	4,179e-01	0,722	0,47060
Kos6	1,397e+00	5,980e-01	2,336	0,01948*
Kos7	2,455e-01	4,078e-01	0,602	0,54725
Kos8	1,956e+00	7,371e-01	2,654	0,00795 **
Kos9	7,288e-01	4,901e-01	1,487	0,13696
Kos10	7,632e-01	4,690e-01	1,627	0,10367
Kos11	5,010e-01	4,455e-01	1,124	0,26081
Kos12	2,019e+00	6,835e-01	2,955	0,00313 **
Kos13	-4,545e+00	1,315e+02	-0,035	0,97244
Kos14	4,146e-02	5,463e-01	0,076	0,93951
Kos15	6,170e-01	4,408e-01	1,400	0,16156
Kos16	4,704e-01	4,573e-01	1,029	0,30365
Kor	-4,065e-04	1,388e-04	-2,928	0,00341 **

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 + b_2 + b_3 + \dots + b_{16} + b_{kor}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

* p<0,05; **p<0,01

12. melléklet: A telepi menedzsment hatása a tavasszal végzett termékenyítésekre többször ellett anyáknál

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	0,5913481	0,3195971	1,850	0,0643
Kor	-0,0003112	0,0001680	-1,852	0,0640*
AnyamT	-0,0003112	0,0001680	-1,852	0,0640
Báránválasztás	0,0004131	0,0008625	0,479	0,6320
KorábbiMT	-0,2191154	0,1993885	-1,099	0,2718
MTbárányok	0,5327359	0,3343967	1,593	0,1111

$$\hat{Y} = b_0 + b_{kor} + b_{anyamT} + b_{választás} + b_{korábbiMT} + b_{MTbárány}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

* p<0,1

13. melléklet: A telepi menedzsment hatása a tavasszal végzett termékenyítésekre egyszer ellett anyáknál

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
Intercept	5,710e+00	3,768e+02	0,015	0,988
Kor	4,314e-04	1,843e-03	0,234	0,815
AnyamT	2,351e-02	4,442e-01	0,053	0,958
KorábbiMT	-5,686e+00	3,768e+02	-0,015	0,988

$$\hat{Y} = b_0 + b_{kor} + b_{anyamT} + b_{korábbiMT}$$

Megjegyzés:

Intercept: Tengelymetszet

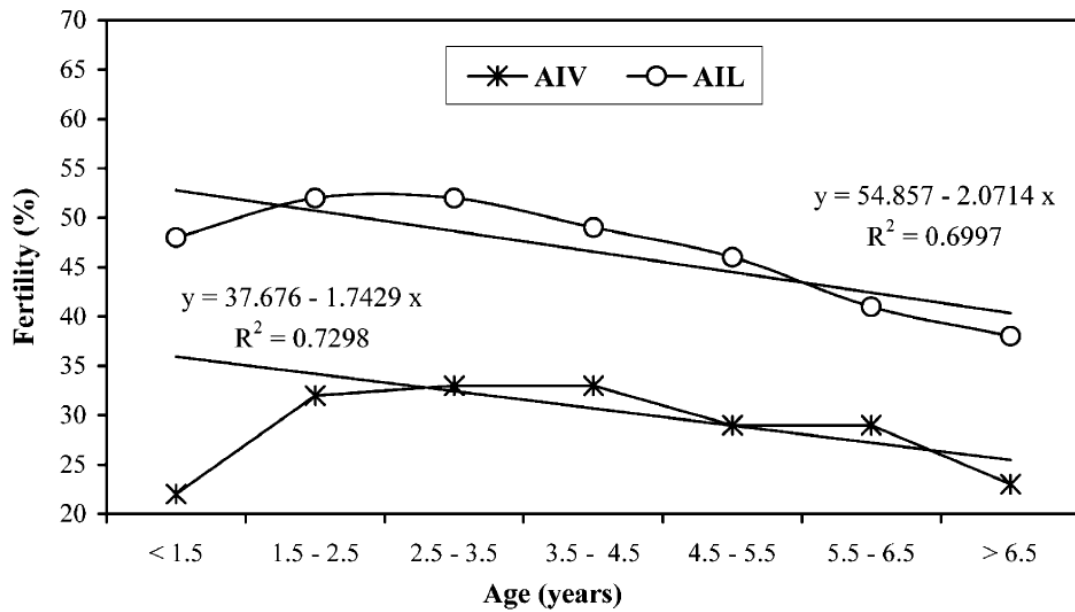
Estimate: érték

Std Error: együttható hibája

z value: z érték

Pr: valószínűség

14. melléklet: A fertilitási százalék a kor összefüggésében a laparoszkópos és hüvelyi termékenyítés során churra fajtában (forrás: ANEL és mtsai, 2005)



Megjegyzés:

AIV: Hüvelyi mesterséges termékenyítés
 AIL: laparoszkópos mesterséges termékenyítés

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Szeretném a köszönetemet kifejezni témavezetőmnek, Dr. Pálfyné Dr. Vass Nórának, aki bevezetett a kutatói világba, megtanított az új technikák alkalmazására és aki által sok új embert ismertem meg, valamint számos élményt szerezhettem a doktori tanulmányaim során, melyek tovább kísérnek majd.

Köszönöm Dr. Oláh Jánosnak, DE Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság Kismacsi Állattenyésztési Kísérleti Telep munkatársainak, a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem munkatársainak: Dr. Kovács Leventének, Dr. Bohák Zsófiának, Balog Lajosnak, Dr. Csízi Istvánnak, valamint az Állatorvostudományi Egyetem munkatársainak a kísérletek során nyújtott munkájukat és értékes meglátásaikat.

Köszönöm továbbá Dr. Jurkovich Viktornak és Dr. Bodó Szilárdnak, hogy segítségükkel és észrevételeikkel javították a kísérletek beállítását, valamint Dr. Huzsvai Lászlónak, Dr. Bakony Mikoltnak a statisztikai vizsgálatok alkalmával nyújtott segítségét.

Hálával tartozom Dr. Harangi Sándornak, Győri Zsoltnak és Angyal Balázsnak, hogy lehetővé tették az ile de france anyajuhok termékenyítését és a vizsgálatokhoz szükséges adatokat biztosították számomra.

Köszönöm az Állattenyésztési Tanszék és az Állattenyésztési Doktori Iskola minden oktatójának a színvonalas képzést.

Mindemellett szeretném megköszönni a férjemnek, a családomnak, a barátaimnak és a munkatársaimnak a támogatását.