

MTA ÁLLATORVOS-TUDOMÁNYI BIZOTTSÁGA
ÁTE ÁLLATORVOSTUDOMÁNYI DOKTORI ISKOLA

AKADÉMIAI BESZÁMOLÓK
(2021. JANUÁR 27.)

**ÁLLATHIGIÉNYIA
ÁLLATTENYÉSZTÉS
GENETIKA
TAKARMÁNYOZÁSTAN**

2020. évi 47. füzet

ELŐSZÓ

Kedves Kolleganók és Kollegák!

Az MTA Állatorvos-tudományi Bizottsága és az Állatorvostudományi Egyetem Állatorvostudományi Doktori Iskolája 2021. január 27-én, online tartja a legújabb kutatási eredményeink bemutatására szolgáló **Akadémiai Beszámolók** ülésorozatot, amelyre idén 47. alkalommal kerül sor az Állatorvostudományi Egyetemen.

Az előző évek gyakorlatának megfelelően a beszámolókon PhD-hallgatók és a kiemelkedő munkát végző TDK-hallgatók szereplését külön is szorgalmazzuk, és reméljük, hogy a rendezvény jó alkalmat nyújt a különböző tudományos-szakmai műhelyeket és korosztályokat képviselő, egymás munkája iránt érdeklődő szakemberek találkozására.

Az előadások összefoglalóit – szekciófüzetekbe csoportosítva – elektronikus úton adjuk közre. A beszámoló füzetek anyaga az MTA ATK Állatorvos-tudományi Intézet honlapján (http://aoti.atk.hu/mta_beszamolok) megtalálható.

Tekintettel az érvényben lévő járványügyi korlátozásokra, a lebonyolítás on-line formában történik. Az előadások időtartama legfeljebb 10 perc. Kérjük, hogy a megadott időtartamot senki ne lépje túl. Az előző évek gyakorlatának megfelelően, nem az előadások számára, hanem azok szakmai-tudományos értékére helyezzük a súlyt.

A szekciók titkárokat arra is kérjük, hogy a szekcióülésről február végéig készítsenek és juttassanak el az Állatorvos-tudományi Bizottság titkárához (magyar.tibor@atk.hu) egy-egy rövid, közérthető formában megírt, a szekció elnökökkel egyeztetett tájékoztatót (a Magyar Állatorvosok Lapjában való közlés céljából), amely tartalmazza az előadások legfontosabb megállapításait.

Kérjük az intézetek vezetőit, hogy az elektronikus úton megküldött anyagot továbbítsák munkatársaik és érdeklődő nyugdíjasaik számára is. Kérjük, továbbá, hogy tegyék lehetővé munkatársaik online részvételét az üléseken.

Előre is köszönjük a szekció elnökök, a titkárok, a bizottsági tagok és valamennyi előadó munkáját.

Kívánunk mindenkinek eredményes előadást.

Gálfi Péter
MTA ÁTB elnöke

Sótonyi Péter
Rektor, TDK elnök

Bartha Tibor
ÁODI elnöke

Magyar Tibor
MTA ÁTB titkára

MTA Állatorvos-tudományi Bizottság és az ÁTE Állatorvostudományi DI akadémiai beszámolóinak programja és szekcióbizottságai
(2021. január 27.)

A szekció megnevezése	A szekcióülés időpontja	Szekcióülés ID	Társelnökök	Titkár	Bizottsági tagok
Élettan és biokémia Patológia Gyógyszertan és toxikológia Morfológia	8:30-11.10	A	Bartha Tibor Jerzsele Ákos Neogrady Zsuzsanna Sótonyi Péter	Farkas Orsolya Mátis Gábor	Csikó György Halasy Katalin Kutas Ferenc Rác Bence Zsarnovszky Attila
Klinikumok	12.00-14.00	A	Bakos Zoltán Bodó Gábor Cseh Sándor Németh Tibor	Becker Zsolt Szelényi Zoltán	Biksi Imre, Gál János Szenci Ottó Vajdovich Péter
Állathigiénia Állattenyésztés Genetika Takarmányozástan	14.00-15.10	A	Könyves László Szabó József	Bersényi András	Brydl Endre, Cseh Sándor Fekete Sándor, Gáspárdy András Jakab László Rafai Pál, Zöldág László
Bakteriológia	8:30-10.30	B	Fodor László Magyar Tibor	Kreizinger Zsuzsa	Hajtós István, Bernáth Sándor Gyuranecz Miklós Makrai László, Tenk Miklós
Viroológia Immunológia	10.30-12.10		Harrach Balázs	Kaján Győző	Benkő Mária, Dán Ádám Péntes Zoltán, Rusvai Miklós Soós Tibor, Zádori Zoltán
Élelmiszer-higiénia Állategészségügyi Igazgatás	13:00-14:10	B	Lacza Péter Ózsvári László	Darnay Livia	Józwiak Ákos Kovács Sándor Lehel József, Szita Géza
Parazitológia Állattan Halkórtan	14:10-15.00	B	Baska Ferenc Farkas Róbert	Eszterbauer Edit Hornung Erzsébet Sréter Tamás	Békési László, Csaba György Hornok Sándor, Kassai Tibor Molnár Kálmán Majoros Gábor, Varga István

TARTALOMJEGYZÉK

Állathigiénia, Állattenyésztés, Genetika, Takarmányozástan

1. A VÁLASZTÁS KÖRÜLI IDŐSZAK TARTÁSTECHNOLÓGIÁJÁNAK HATÁSA A BORJAK REDOX STÁTUSÁRA
Hejel Péter, Sáfár János, Kiss László, Bognár Barbara, Jurkovich Viktor, Brydl Endre, Könyves László
2. EGY SZENZOROS ÁLLATMEGFIGYELŐ RENDSZER BEVEZETÉSÉNEK GAZDASÁGOSSÁGRA GYAKOROLT HATÁSA
Ivanyos Dorottya, Ózsvári László
3. HOLSTEIN-FRÍZ BORJAK EGYES LÉGZŐSZERVI VÍRUSOKKAL SZEMBENI MATERNÁLIS VÉDELEMÉNEK IDŐBELI VÁLTOZÁSA
Sáfár János*, Hejel Péter, Kiss László, Könyves László
4. A HEMATOLÓGIAI PARAMÉTEREK VÁLTOZÁSA SZARVASMARHÁK HASMENÉSES KÓRKÉPEIBEN, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A KLINIKAI PARATUBERCULOSIS ELŐFORDULÁSÁRA – ELŐZETES EREDMÉNYEK
Vass-Bognár Barbara, Jurkovich Viktor
5. EGÉR PREANTRÁLIS FOLLIKULUSOK IN VITRO TENYÉSZTÉSE ÉS VITRIFIKÁCIÓJA
Bordás Lilla, Török Dóra, Somoskői Bence, Cseh Sándor
6. KUTYA SPERMA ELTARTHATÓSÁGI VIZSGÁLATOK KÜLÖNBÖZŐ HÍGÍTÓKBAN, 5 °C-ON TÖRTÉNŐ TÁROLÁSSAL
Török Dóra, Somoskői Bence, Müller Linda, Cseh Sándor
7. AZ EXOGÉN PACAP HATÁSA A VITRIFIKÁLT EMBRIÓK FEJLŐDÉSÉRE ÉS BEÁGYAZÓDÉSI KÉPESSÉGÉRE
Török Dóra, Somoskői Bence, Tamás Andrea, Fülöp Balázs Dániel, Reglódi Dóra, Cseh Sándor
8. FORENZIKUS CÉLÚ GENETIKAI MARKERKÉSZLET FEJLESZTÉSE A MAGYARORSZÁGON ELŐFORDULÓ TRÓFEÁS KÉRŐDZŐKRE
Zorkóczy Orsolya Krisztina, Lehotzky Pál, Zenke Petra
9. EGY MAGYARORSZÁGI MÉNESBEN ALKALMAZOTT TAKARMÁNYOZÁS KIÉRTÉKELÉSE A NÖVEKEDÉS SORÁN KIALAKULÓ ORTOPÉDIAI BETEGSÉGEK (DEVELOPMENTAL ORTHOPEDIC DISEASE: DOD) HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐINEK SZEMPONTJÁBÓL
Fehér Orsolya, Tolnai Csenge, Andrásovszky Emese, Korbacska-Kutasi Orsolya

A VÁLASZTÁS KÖRÜLI IDŐSZAK TARTÁSTECHNOLÓGIÁJÁNAK HATÁSA A BORJAK REDOX STÁTUSÁRA

Hejel Péter*¹, Sáfár János¹, Kiss László², Bognár Barbara¹, Jurkovich Viktor¹, Brydl Endre¹, Könyves László¹

A tejítatásos időszak lezárása a választás, ami jelentős stresszor és hajlamosít az oxidatív stressz kialakulására. Mivel a választás megkerülhetetlen technológiai elem, a negatív hatások csökkentése helyes technológiával és magas szintű higiéniával lehetséges.

A redox-paraméterek (dROM, PAT, OSI) és az eltérő választási környezet (mikro-klimatikus tényezők, mint hőmérséklet, relatív páratartalom; a levegőminőség, mint CO₂, PM_{2,5}, PM₁₀ koncentráció; illetve a környezet élőcsira terhelése) közötti kapcsolatot vizsgáltuk.

A 2019. szeptembertől 2020. februárig tartó üzemi kísérletben véletlenszerűen kiválasztott holstein-fríz üsző borjából kísérleti (n=12) és kontroll (n=16) csoportot hoztunk létre. A kísérleti csoportot a modern kor igényeihez igazodó műanyag kiscsoportos borjúházban és fedett kifutóban, a kontroll csoportot egy hagyományos, téglalapépítésű, 60x10m kifutós istállóban elkerített részen, azonos alapterületen (1,58m²/állat) helyeztük el. Kétnaponta klinikai vizsgálatot végeztünk, illetve környezethigiéniai adatokat gyűjtöttünk és ezt 3 alkalommal vér-, orr tampon és bélsár mintavétellel, illetve testtömegméréssel egészítettük ki. A dROM és PAT és OSI értékek átlagait ANOVA modellel hasonlítottuk össze.

1. táblázat: A dROM, PAT és OSI redox-indikátorok alakulása mintavételenként

Csoport/OS paraméter	Mintavétel 1		Mintavétel 2		Mintavétel 3	
	Kísérleti	Kontroll	Kísérleti	Kontroll	Kísérleti	Kontroll
	85,83 (sd 4,73)	85,94 (sd 4,12)	119,83 (sd 4,73)	119,94 (sd 4,12)	158,83 (sd 6,53)	158,94 (sd 6,20)
	napos	napos	napos	napos	napos	napos
dROM [uCARR]*	107,33 (sd 18,25)	99,50 (sd 11,76)	100,00 (sd 20,85)	95,06 (sd 13,26)	89,08 (sd 13,08)	73,81 (sd 10,02)
<i>P-érték</i>		0,18		0,45		0,02
PAT [U.Cor]	2541,17 (sd 177,62)	2488,88 (sd 221,45)	2598,42 (sd 137,82)	2509,38 (sd 128,31)	2591,58 (sd 118,20)	2528,63 (sd 128,40)
<i>P-érték</i>		0,51		0,09		0,20
OSI	4,44 (sd 0,80)	4,04 (sd 0,72)	3,84 (sd 0,74)	3,79 (sd 0,49)	3,45 (sd 0,57)	2,92 (sd 0,40)
<i>P-érték</i>		0,18		0,82		0,01

Az eredmények a dROM, PAT és OSI kevésbé érzékenyen jelzik a felsorolt környezeti tényezők különbségét, mivel csupán a harmadik mintavételnél találtunk szignifikáns különbséget a dROM és OSI értékekben. Ennek magyarázata lehet, hogy ezek az indikátorok elsősorban a lipid-peroxidációt jelzik és ebben az intenzív növekedéssel jellemezhető időszakban inkább a fehérje peroxidációs folyamatok dominálnak, ezért az ezt kimutató indikátorok (pl. AOPP) használata lehet a megfelelő.

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.1-16-2016-00024).

EGY SZENZOROS ÁLLATMEGFIGYELŐ RENDSZER BEVEZETÉSÉNEK GAZDASÁGOSSÁGRA GYAKOROLT HATÁSA

Ivanyos Dorottya*, Ózsvári László

Napjainkban az intenzív tejtermelő gazdaságokban az információs technológia alkalmazása kulcsszerepet tölt be a megfelelő napi rutin munkamenet támogatásában és az állatjólét ellenőrzésében.

A vizsgálatunk célja, hogy kimutassuk egy szenzoros állatmegfigyelő rendszer (AfiMilk™) 2019. évi bevezetése hogyan változtatta meg a főbb termelési mutatókat és azok gazdaságosságra gyakorolt hatását egy 1500 holstein-fríz tehenet tartó tehenészetben a 2017-2018. évi értékekhez képest.

A gazdasági számítások során a rész kalkuláció módszerét használtuk és számszám szerűsítettük a klinikai tőgygyulladások, az idő előtti selejtezések és a két ellés közti idő változása, illetve az eredménytelen termékenyítések által okozott veszteségeket egy átlag tehen esetén az új rendszer bevezetését megelőző két évben (2017-2018) és a bevezetést követő évben (2019).

A bevezetést követően a klinikai tőgygyulladások okozta veszteségek csökkentek, a fejési átlag 2,4 kg-mal, az istálló átlag pedig 1,5 kg-mal nőtt, míg a szomatikus sejtszám közel 65.000 sejt/ml-rel, a két ellés közötti idő pedig 13,6 nappal csökkent. A gazdasági elemzés során megállapítottuk, hogy a csökkent klinikai tőgygyulladás okozta veszteség és a rövidebb két ellés közötti idő miatt az éves nettó tejbevétel jelentősen nőtt. Ezzel szemben az idő előtti selejtezés és a többlet inszeminálások költsége nőtt 2019-ben, de ezek a negatív gazdasági tételek jóval kisebbek, mint a gazdaság teljes bevételének növekedése. Összességében a szenzoros állatmegfigyelő rendszer bevezetése után az egy tehenre számított éves jövedelem több, mint 44.000 forinttal emelkedett.

A telep adottságainak megfelelő szenzoros állatmegfigyelő rendszer az állategészségügyre gyakorolt pozitív hatása mellett a telep gazdasági mutatóit is pozitívan befolyásolja. Annak ellenére, hogy ezen technológiák bevezetésének beruházási költsége magas, már a működés első évében jelentős többletjövédelmet eredményeznek, így a befektetés akár néhány éven belül megtérülhet.

A projekt az „Európai Mezőgazdasági Vidékfejlesztési Alap: a vidéki térségekbe beruházó Európa - European Agricultural Fund for Rural Development: Europe investing in rural areas” VP3 programnak a „Cirkuláris modellek precíziós rendszer-támogatása tejtermelő gazdaságokban” projektje (azonosító: 1906020653) támogatásával valósult meg.

HOLSTEIN-FRÍZ BORJAK EGYES LÉGZŐSZERVI VÍRUSOKKAL SZEMBENI MATERNÁLIS VÉDELEMÉNEK IDŐBELI VÁLTOZÁSA

Sáfár János^{1*}, Hejel Péter¹, Kiss László², Könyves László¹

A szarvasmarhák légzőszervi betegségkomplexe (BRDC) kialakulásában a fertőző ágenseken és az állatok egyedi ellenállóképességén túl mikroklimatikus, technológiai és menedzsment eredetű környezeti faktorok is szereppel bírnak, általában már az élet első hónapjaiban terhelve a borjak szervezetét. Az immunszuppresszált állatoknál ilyenkor fellépő virális és/vagy bakteriális fertőzések könnyen klinikai megbetegedéshez vezethetnek.

A megelőzés egyik alappillére a megfelelő maternális immunitás kialakítása. Azt várjuk, hogy szorosabb kontrollálás és monitoring mellett a gyengébb védettségű borjak detektálhatók, de a maternális ellenanyagok kiürülésének időszaka, így az esetleges vakcinázások ideje is becsülhető.

Egy IBR és BVDV mentes, légzőszervi kórokozók ellen nem vakcinázott állományban 28 holstein-fríz üsző borjú maternális védelmét vizsgáltuk születéstől 159 ($\pm 6,23$) napos életkorig. Vizsgáltuk az elfogyasztott kolosztrum és a borjak szérum Brix-értékét (%), valamint a tartás-technológiai változásokat lekövető 6 alkalommal a szérum PI-3 és BRSV VN-titer értékeit. Meghatároztuk a maternális ellenanyagok felezési idejét és a szeronegatívvá válásig eltelt időt.

A főcstejre 27,89 ($\pm 3,00$) Brix%, míg az 1,71 ($\pm 0,66$) napos életkorban vett szérummintákra 9,45 ($\pm 1,13$) Brix%, illetve 6,93 ($\pm 1,31$) PI-3 és 6,4 ($\pm 3,7$) BRSV \log_2 maternális ellenanyag-titer volt jellemző. A PI-3 ellenanyagok felezési ideje az utolsó pozitív ($83,3 \pm 26,2$) és az első negatív ($116,0 \pm 35,0$) titerérték detektálásáig eltelt napok szerint sorrendben $18,2 \pm 6,3$, illetve $17,5 \pm 6,4$ nap volt. A BRSV ellenanyagok felezési ideje az utolsó pozitív ($73,5 \pm 18,4$) és első negatív ($83,8 \pm 36,6$) titerig eltelt napok szerint sorrendben $21,7 (\pm 18,0)$ és $10,6 (\pm 4,9)$ nap volt. A kétféleképpen számolt felezési idő egyik vírus esetén sem tért el szignifikánsan és a vizsgálatok során előforduló légzőszervi megbetegedéseket követően sem volt érdemi PI-3 és BRSV ellenanyag-titer-emelkedés. Továbbá pozitív korreláció állt fenn a szérum Brix% és a kiindulási PI-3 ($p=0,0042$, $\rho=0,49$), illetve BRSV ($p=0,0135$, $\rho=0,42$) titerértékek, valamint a PI-3 kezdeti titer és az utolsó pozitív titerű mintavételi nap között ($p=0,0038$, $\rho=0,50$).

A vizsgált borjak jó minőségű főcstejet fogyasztottak, melyek Brix-értéke meghaladta az ajánlott 22%-t, illetve a mért szérum Brix-értékek is felülmúlták az elvárt 8,4%-t. A PI-3 vírussal szemben a borjak háromnegyede a választás és átcsoportosítás idején még szeropozitív volt, míg a BRSV-vel szembeni ellenanyagok egyes borjaktól már az első alkalommal sem voltak kimutathatók, a választás idejére pedig többségük szeronegatívvá vált. Bár az előforduló légzőszervi problémák háttérben bakteriális ágenseket azonosítottunk, a választás és különösen az idősebb állatokkal egy légtérbe (pl. hagyományos borjúnevelő) történő átcsoportosítás az ekkorra eliminálódó maternális immunitás tükrében különös kockázattal bírnak, így a menedzsmentbeli beavatkozások mellett szükség szerint a specifikus védekezés (vakcinázás) megfontolandó.

A kutatás finanszírozása az EFOP-3.6.2-16-20017-00012 projekt révén valósult meg.

A HEMATOLÓGIAI PARAMÉTEREK VÁLTOZÁSA SZARVASMARHÁK HASMENÉSES KÓRKÉPEIBEN, KÜLÖNÖS TEKINTETTEL A KLINIKAI PARATUBERCULOSIS ELŐFORDULÁSÁRA – ELŐZETES EREDMÉNYEK

Vass-Bognár Barbara*¹, Jurkovich Viktor¹

A *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* baktérium által okozott paratuberculosis napjainkban a tejelő szarvasmarha állományokban előforduló egyik legnagyobb gazdasági kárt okozó fertőző betegség, amely a hazai tehenészetek nagy százalékát érinti. Állományon belül a legnagyobb fertőzési nyomást a bélsárral a baktériumot nagy mennyiségben ürítő állatok jelentik, amelyeknél a betegség gyakran már klinikai tünetekben is megnyilvánul. A fertőzés klinikai stádiumában eleinte hígabb bélsárürítés, majd súlyosbodó bűzös-profúz hasmenés figyelhető meg, majd a fehérjevesztés következtében testszerte ödémák is kialakulnak. Tejelő szarvasmarha állományokban a közepes-illetve súlyos hasmenés viszonylag gyakori betegségnek mondható, azonban a kiváltó ok gyakran ismeretlen marad.

A kutatásunk célja annak megállapítása, hogy egy egyszerű, és költséghatékony hematológiai vizsgálat lehet-e hasmenés esetében a kezelési protokoll alapja. Szeretnénk kideríteni, hogy vannak-e olyan hematológiai mutatók, amivel a paratuberculosis gyanúja megalapozható és a költséges (bélsár RT-PCR), illetve időigényes (bélsár tenyésztés) vizsgálatok körét le lehet szűkíteni és gyors selejtezési döntést lehet megalapozni a fertőzési nyomás csökkentése céljából.

A vizsgálat helyszíne 2 kelet-magyarországi tehenészet volt. Mindkét tehenészet jelentősen fertőzött (6-8 % ELISA pozitivitás) a baktériummal, illetve hasmenéses kórképek is gyakran jelentkeznek. A telepi látogatás során hasmenéses teheneket keresünk, majd az állatok kiválasztása után alapos fizikális vizsgálatot végzünk. Az állatoktól bélsár mintát vettünk paratuberculosis PCR vizsgálatának céljából, natív és EDTAs csőbe pedig vérmintát a biokémiai és hematológiai vizsgálatokhoz. A hematológia vizsgálatok Abott cell-dyn 3500 hematológiai automatával készültek a Vet-Med-Labor Zrt-nél.

10 db takarmányozási okból és 10 db klinikai paratuberculosis miatt hasmenéses állat mintáit hasonlítottuk össze. A vizsgált paratuberculosisos állatok mindegyike magas ürítő volt a bélsár RT-PCR vizsgálat alapján. 4 állat esetében emelkedett mind a neutrophil granulocytá szám és csökkent a lymphocytá szám, 3 állatnál csak a neutrophil szám volt emelkedett, 3 esetben pedig a hematológiában semmilyen eltérést nem találtunk. A takarmányozási eredetű hasmenések esetében 6 esetben nem volt eltérés a vérképben 2 esetben a neutrophil szám, másik 2 esetben pedig a lymphocytá szám emelkedett.

Az egyértelmű diagnózis felállításában nem adott megbízható eredményt a hematológiai vizsgálat. A paratuberculosis elkülönítésére a neutrophil granulocyták magas száma lehet alkalmas, azonban statisztikai összefüggések megállapításához a mintaszámot emelni szükséges.

Köszönjük a Normatív Kutatásfinanszírozási Bizottság (NKB) támogatását.

EGÉR PREANTRÁLIS FOLLIKULUSOK IN VITRO TENYÉSZTÉSE ÉS VITRIFIKÁCIÓJA

Bordás Lilla*, Török Dóra, Somoskői Bence, Cseh Sándor

Az asszisztált reprodukción belül az utóbbi évtizedben egyre nagyobb figyelmet kap a preantrális tüszők felhasználása, mint a megtermékenyíthető petesejtek kinyerésének egyik alternatívája. Az állattenyésztésben olyan fajokban lehet jelentősége a módszereknek, amelyekben a szuperovulációs technikák kevésbé működnek, a kinyerhető petesejtek mennyisége kevés. A humán gyógyászatban pedig a kemoterápiás kezelést megelőző fertilitás megőrzésben nyújthat segítséget. A petefészekből kinyerhető -és mélyhűthető - a preantrális tüszők, majd *in vitro* tenyésztés során a petesejtek ovuláltathatóak és *in vitro* termékenyíthetőek. A vizsgálatunk célja, hogy kidolgozzunk egy olyan protokollt, amely megbízhatóan működik az *in vitro* tenyésztés során, valamint olyan mélyhűtési eljárás bevezetése a laboratóriumunkban, amely a lehető legtöbb felhasználható tüszőt eredményezi.

A preantrális tüszőket (80-120 μm átmérő) BDF1 egerek 8-12 hetes egyedeiből nyertük ki, mechanikus izolálással. A morfológiai bírálaton átesett tüszőket speciális mediumban tenyésztettük (Ultra-MEM + 5% FBS + 100 mIU/ml eCG), 20 μl -es cseppekben, olajjal fedve, inkubátorban (36.5 $^{\circ}\text{C}$, 6.5% CO_2). A tápfolyadék felét minden második nap frissre cseréltük. A tüszők növekedését a 3., 5. és 11. napon dokumentáltuk.

Sikeresen kialakítottunk egy jól működő protokollt a preantrális tüszők tenyésztésére. Miután a tüszők fejlődése elérte az antrális stádiumot, ovulációt indukáltunk 1.5 IU/ml hCG hozzáadásával, amely MI petesejteket eredményezett. A tápfolyadék felét minden második nap frissre cseréltük, majd a lecserélt tápfolyadék ösztradiol (E2) koncentrációját RIA módszerrel meghatároztuk. A fejlődő tüszők E2 szekréciója szorosan követte a granulosa sejtek proliferációjánál tapasztalt növekedést.

A kinyert folliculusok egy részét vitrifikáltuk, védőanyagként etilén-glikolt, dimetil-szulfoxidot és szukrózt alkalmazva. A fagyasztás megkezdése előtt 30 percig speciális kiegészítést tartalmazó tápfolyadékban inkubáltuk a tüszőket. Az alap médium kiegészítése szerint három csoportot hoztunk létre: (1) Alap médiumot tartalmazó csoport (kontroll), (2) Alap médium és retinol kiegészítést tartalmazó csoport, (3) Alap médium és cytochalin B kiegészítést tartalmazó csoport.

Élő/elhalt fluorescens eljárással megállapítottuk, hogy a retinol kiegészítést tartalmazó előinkubáló tápfolyadék szignifikánsan magasabb túlélésirátát eredményezett a cytochalin B kiegészítéshez képest, azonban a megbízható minőségbiárlathoz a felolvaszott tüszők *in vitro* tenyésztése szükséges.

A kutatás a NKFIH TÉT_15_IN-1-2016-0082 sz. forrásból valósult meg.

KUTYA SPERMA ELTARTHATÓSÁGI VIZSGÁLATOK KÜLÖNBÖZŐ HÍGÍTÓKBAN, 5 °C-ON TÖRTÉNŐ TÁROLÁSSAL

Török Dóra*, Somoskői Bence, Müller Linda, Cseh Sándor

Kutyák mesterséges termékenyítésénél friss, friss - hűtött, valamint fagyasztott spermát használnak. Az első két technika esetében a hagyományos eljárást alkalmazva a hüvelybe juttatják a termékenyítő anyagot. Mélyhűtött sperma esetében, a fagyasztott-felolvasztott spermiumok rövid élettartamára való tekintettel javasolt az ondót közvetlenül a méhbe fecskendezni. Az intrauterin termékenyítés meglehetősen bonyolult eljárás, ezért a vaginális termékenyítési eljárást használják gyakrabban. A hüvelyi inszeminálásnál azonban csak friss (általában nem hígított, ezért 10-20 percen belül fel kell használni), vagy friss - hűtött spermát lehet használni, fagyasztott ondó esetében nagyon alacsony a vemhesülés esélye.

A fentiek miatt a friss – hűtött sperma alkalmazása népszerű a szakemberek körében, hiszen a minta 5 °C-ra történő lehűtése több napos tárolást tesz lehetővé (3-4 nap), ami alatt a minta nagyobb távolságra is szállítható és akár a kontinensek közötti mozgatása is megoldható. Kevés adat áll azonban rendelkezésre azzal kapcsolatban, hogy a hígító összetételétől függően milyen eltérések lehetnek a tárolás hosszában a különböző oldatok között.

Vizsgálatainkban 5 hígító (Andromed LT /ALT/, Andromed ST /AST/, Bovidyl, Canipro, Triladyl) hatékonyságát hasonlítottuk össze, 5°C-on történő tárolás mellett. Beagle fajtájú kutyákat használtunk sperma donorként. A mintákat 37 °C-on szállítottuk a laboratóriumba, hígítatlan állapotban ellenőriztük a spermiumok koncentrációját és mozgását CASA berendezéssel. Ezután következett 1 : 4 - ben a hígítás a tesztelésre kiválasztott hígítóval, majd megismételtük a motilitás vizsgálatot. Végül a hígított mintát 5 °C-ra hűtöttük és naponta ellenőriztük a spermiumok mozgását.

A spermagyűjtést követően az ondósejtek 70-80%-a mozgott a mintákban. Eredményeink azt mutatják, hogy a 3. napig a Bovidyl kivételével mindegyik hígító 50% feletti motilitási arányt biztosított és csak kb. 0-15%-os csökkenést tapasztaltunk a mozgó spermiumok arányában. A Bovidyl esetében csaknem 50%-os csökkenést mértünk. A 6. napon az ALT, AST és a Triladyl kb. 30 – 40%-os motilitási arányt biztosítottak, míg a Canipro 60-70%-os motilitást. A 8. napon a Canipro-ban és az AST-ben 40-50%-os, az ALT-ben 20-30%-os, a Triladyl-ban 10-20%-os motilitást mértünk, míg a Bovidylban 0%-ot.

Összegezve megállapítható, hogy az eltarthatósági teszt során a Canipro bizonyult a leghatékonyabbnak, hiszen még a 7. napon is a spermiumok 70-80%-a mozgott a mintában. Ugyanakkor a 8. napra egy nagyobb, 20%-os csökkenést tapasztaltunk a motilitásban. Érdekességképpen említhető meg, hogy a Triladyl, amit bika sperma fagyasztásra fejlesztettek ki és ezért glicerint is tartalmaz, egészen jól megőrizte a kutya spermiumok mozgásképességét a 3. napig, majd folyamatosan csökkent a mozgó spermiumok aránya (feltételezhetően a glicerin toxikussága miatt). A Bovidylban, ami szinten bika sperma hígító, gyorsan és folyamatosan csökkent a mozgó ondósejtek aránya. Az AST egészen a 8. napig biztosította a kb. 40%-os motilitást. Az ALT hatékonysága a 7. napig nagyjából megegyezett az AST-jével, majd a 8. napon 20-30%-ra csökkent.

A vizsgálatok a VEKOP-2.3.2-16-2016-00012 pályázat keretéből valósultak meg.

AZ EXOGÉN PACAP HATÁSA A VITRIFIKÁLT EMBRIÓK FEJLŐDÉSÉRE ÉS BEÁGYAZÓDÉSI KÉPESSÉGÉRE

Török Dóra^{1*}, Somoskői Bence¹, Tamás Andrea², Fülöp Balázs Dániel², Reglödi Dóra², Cseh Sándor¹

A hipofízis adenilát cikláz aktiváló polipeptidet (pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide – PACAP) 1989-ben izolálták először hipotalamuszból. Hipofízis sejt kultúráján figyeltek meg, hogy növeli a ciklikus adenzin monofoszfát (cAMP) szintet, amelyről nevét is kapta. A PACAP egyik legfontosabb élettani hatása, hogy segíti a sejt túlélését. Számos tanulmányból kiderült, hogy antiapoptotikus hatása nem csak az idegsejtekénél, hanem más sejt típusoknál is megfigyelhető. Fontos előfordulási helyei a petefészek, tüdőfolyadék, méh, méhlepény, emlőszövet és hereszövet. Utóbbi az idegszövet után második legnagyobb mennyiségben tartalmazza a PACAP-ot. Ennek felismerése felhívta a figyelmet arra, hogy a PACAP központi szerepet játszhat a szaporodásbiológiai folyamatokban.

A PACAP szervezeten belüli nagymértékű elterjedésének és citoprotektív hatásának ellenére még igen kevés információ áll rendelkezésre az embriók fejlődésére gyakorolt hatásáról. Kutatásunk célja az asszisztált reprodukciós eljárások fejlesztése, kihasználva a PACAP sejtvédő hatását, mindezt úgy, hogy megvizsgáljuk egy beágyazódásra ható növekedési faktor (HB-EGF) és a PACAP kapcsolatát, valamint az embriók fagyasztás utáni túlélését, és beágyazódási képességének mértékét exogén PACAP jelenlétében.

A kísérleteink során BDF1 törzsbe tartozó egerek vizsgálatával modelleztük a PACAP embriófejlődésre kifejtett hatását. A kísérleti embriók előállításához a nőstények szuperovuláltatását követően (PMSG és hCG intraperitoneális injekciója), természetes úton termékenyültek. A párást követő nap kinyert embriókat 4 napig *in vitro* tenyésztettük, ezután vitrifikációs technikával mélyhűtöttük, majd felolvasztás után 24 órán keresztül inkubátorban tenyésztettük őket, és megállapítottuk a továbbfejlődött embriók arányát. A beágyazódásra kész, blasztociszta fejlődési stádiumban lévő embriókon PCR technikával megmértük a beágyazódásra ható növekedési faktor relatív expresszióját. A különböző kezelési csoportokat a kísérlet eltérő lépéseinél kezeltük exogén PACAP1-38-cal, 18 µl, 36 µl, illetve 72 µl-s mennyiségben.

Vizsgálataink során magasabb továbbfejlődési arányt tapasztaltunk annál a kezelési csoportnál, melyet fagyasztás során kezeltünk 72 µl mennyiségű exogén PACAP-pal. Valamint magasabb HB-EGF relatív expressziós szint volt megfigyelhető a PACAP-pal kezelt embriók esetében, a kontroll csoportokhoz képest, függetlenül attól, hogy az exogén PACAP-ot a kísérlet melyik lépése során kapták.

Eredményeink alapján a fagyasztás során hozzáadott magasabb koncentrációjú exogén PACAP csökkenti a fagyasztás során létrejövő stresszt, így elősegítve az embriók túlélését és továbbfejlődését a felolvasztás után. Továbbá a hozzáadott exogén PACAP növeli a fagyasztott embriók felolvasztás után mérhető HB-EGF expressziós szintjét, ezzel növelve a beágyazódás esélyét.

A kutatás az OTKA 115874 pályázat (NKFI Alap) keretéből valósult meg.

FORENZIKUS CÉLÚ GENETIKAI MARKERKÉSZLET FEJLESZTÉSE A MAGYARORSZÁGON ELŐFORDULÓ TRÓFEÁS KÉRŐDZŐKRE

Zorkóczy Orsolya Krisztina*, Lehotzky Pál, Zenke Petra

A trófeával rendelkező vadfajok vadászata során többször fordulnak elő visszaélések. Ilyen esetek például, mikor a bírálatra kerülő tetemek vagy trófeák nem a megjelölt időpontban vagy helyen kerülnek terítékre, nem egyezik meg az ivar a megnevezett egyedével, vagy egy illegálisan elejtett állat maradványainak azonosítása szükséges. Ezek utólagos ellenőrzése, és a bemutatott, krotáliával ellátott, zsigerelt tetemekhez, vagy feltételezett orvvadászhoz kapcsolása hagyományos módszerekkel – a hatósági vizsgálódás során is – csak vitatható módon és megkérdőjelezhető eredménnyel történik. Ezek mellett az állomány beltenyésztési fokáról és ezáltal például fertőző betegségeknek vagy a káros mutációk felszaporodásának való kitétségéről is fontos lenne információval rendelkezni kezelési, esetleg betelepítési tervek kidolgozásához az állományjavítás céljából. Ezekben az esetekben segíthetnek a genetikai vizsgálatok.

A konzervációbiológiában és más területeken eddig használt módszerek, bár jó alapot nyújtanak, nem felelnek meg a törvényszéki genetikai alkalmazás kritériumainak, így a területen való alkalmazáshoz új, megbízhatóbb és az igazságügyi felhasználás igényeinek megfelelően validált markerkészlet fejlesztése és tesztelése indokolt. Célunk ezért egy egyedi, ill. populációs szintű azonosításra alkalmas módszer fejlesztése őz, gím- és dámszarvas, valamint muflon esetében.

Ehhez először új, tetramer szerkezetű mikroszatellitákat választottunk ki az irodalomban az adott vagy rokonfajra létező markerek alapján, majd szükség esetén saját primereket terveztünk, illetve módosítottuk (rövidítettük) a kimutatandó szakasz hosszát. Eddig 18 korábbi irodalomból vett és 13 saját tervezésű mikroszatellita marker tesztelését kezdtük meg a négy kitűzött fajra, ezzel elindítva a vizsgált populációk genetikai adatbázisának felépítését.

A regisztrált kilövésekből biztosított négy faj szövetmintáiból (n=80) először DNS-t izoláltunk, majd ezeken teszteltük egyenként a primereket. Amennyiben specifikus PCR terméket kaptunk, a vizsgálatot több különböző, adott fajból rendelkezésre álló mintán való teszteléssel folytattuk, hogy előzetesen felmérjük a populációban fellelhető, adott lokuszhoz tartozó polimorfizmus szintjét.

Kutatási finanszírozás: KEDH106310 (PhD hallgatók kutatási célú dologi kiadásainak támogatása); (kötelezettségvállalás száma: 1300000120)

EGY MAGYARORSZÁGI MÉNESBEN ALKALMAZOTT TAKARMÁNYOZÁS KIÉRTÉKELÉSE A NÖVEKEDÉS SORÁN KIALAKULÓ ORTOPÉDIAI BETEGSÉGEK (DEVELOPMENTAL ORTHOPEDIC DISEASE: DOD) HAJLAMOSÍTÓ TÉNYEZŐINEK SZEMPONTJÁBÓL

Fehér Orsolya*, Tolnai Csenge, Andrásovszky Emese, Korbacska-Kutasi Orsolya

A növekedés során kialakuló ortopédiai betegségek (Developmental Orthopedic Disease, DOD) fogalmába számos csikókórban kialakuló elváltozás tartozik. A DOD során kialakuló kórképek közé sorolhatjuk a physitist, a cuboidális csontok és a végtagok deformitását, a hajlító inak zsugorodását, az osteochondrosist, a subchondralis cisztát, fiatalkori osteoarthritiszt valamint a nyakcsigolyákat érintő malformatiót is. A leggyakoribb klinikai tünetek közé tartozik az ízületek merevsége, a sántaság és a csökkent aktivitás. A DOD elváltozásokat multifaktoriális körfejlődés jellemzi, melyben kiemelten fontos szereppel bír a takarmányozás, továbbá a gyors növekedés, a biomechanikai stressz és trauma, a hormonális hatások és a genetikai predispozíció. Az elváltozások világszerte eltérő arányban fordulnak elő, azonban megjelenésük gyakran tekinthető. A tüneteket akár kifejezett mozgászavar nélkül is, az állat értékének és hasznos élettartamának csökkenéséhez vezethet, amellyel együttesen jelentős mértékű gazdasági kár is jelentkezik. Napjainkban a megelőzésben a hangsúlyt elsősorban a vemhes kanca, valamint a csikók nevelése során alkalmazott körültekintő takarmányozási programok adják.

Kutatásunk során egy magyarországi ménesben 37 csikó adatait rögzítettük és azok felnevelése során alkalmazott takarmányok beltartalmi összetevőit vizsgáltuk 2019-ben. Vizsgálatunkat az utolsó trimeszterben lévő vemhes kancák kondíciójának felmérésével kezdtük, majd a csikókat születésüktől a választásukig követtük nyomon, rögzítve a születéskori súlyt, a napi súlygyarapodást, a növekedési rátát, valamint az esetlegesen előforduló DOD elváltozásokat. A takarmányokat weendei analízisnek és HPLC vizsgálatoknak vetettük alá. A beltartalmak és a napi adagok alapján kiszámoltuk a bevitelt, melyet összevetettünk a nemzetközi szakirodalomban található adatokkal.

Megállapítottuk a ménesben előforduló fő takarmányozási hibákat: az utolsó trimeszterben lévő kancák túlzott energiabevitele, a laktáló kancák hiányos energia-, fehérje-, kalcium-, és foszforbevitel, valamint a csikók diétájának hiányos és aránytalan energia-, fehérje- és ásványi anyag-tartalma. A választást követően a DOD előfordulása a vizsgált csikók 75%-ában jelentkezett az interphalangealis ízület hajlító inainak zsugorodása (bakpata) formájában. Eredményeink alapján javaslatot tettünk egy optimális takarmányozási programra, amelyet a 2020-as évjárat csikóin alkalmazva a DOD előfordulási aránya 10%-ra csökkent.

Összefoglalóan elmondható, hogy hipotézisünk érvényesült, miszerint a takarmányozásnak kiemelkedően fontos szerepe van a DOD kialakításában és akár apróbb változtatások a takarmányozásban jelentős javulást eredményezhetnek. Eredményeink alapján a jövőben érdemes lenne a kutatásunkhoz hasonló felméréseket nagyobb mintaszámmal, több ménesben és további DOD kórképekre is kiterjedően végezni.

Kutatásunk az Innovációs és Technológiai Minisztérium ÚNKP-19-3-I-ÁTE-4 kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának szakmai támogatásával készült.