

A termékenyítési eredmények alakulása ivarzás-szinkronizálást követő cerviko-uterinális inszeminálás alkalmazása során kecskéknél

Mihályfi Sándor¹ – Németh Attila¹ –
Németh Szabina²

¹PharmaGene-Farm Géntechnológiai Kutató,
Fejlesztő és Szolgáltató Kft., Mosonmagyaróvár

²Nyugat-Magyarországi Egyetem
Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar,
Állattudományi Intézet, Mosonmagyaróvár
mihalyfisandor@chello.hu

ÖSSZEFOGLALÁS

A mesterséges termékenyítés segítségével gyorsabban és hatékonyabban lehet adott tenyésztési célokat elérni, a nagyobb tenyészértékű, drágább bakok jobb kihasználtsága lehetővé teszi a jövedelmezőbb gazdálkodást. Mindemellett nem elhanyagolható a mesterséges termékenyítés állategészségügyi jelentősége sem. Az általunk alkalmazott technológia segítségével mindezek az előnyök elérhetővé válnak a gazdák számára üzemi körülmények között is.

Kulcsszavak: kecske, ivarzásszinkronizálás, mesterséges termékenyítés

SUMMARY

Breeding aims can be more efficiently and faster achieved by using AI. AI allows higher selection intensities for male selection, adequate genetic evaluation with efficient buck using and profitable farming. Moreover, the AI has very important advantages in animal health, especially in goats. By using our AI technology, these benefits can help the farmers in the practical life.

Keywords: goat, estrus synchronization, artificial insemination

BEVEZETÉS

A hazánkban fellelhető kecskeállomány nagyon heterogén, mely önmagában is akadályozza a jövedelmező termelést. Néhány tenyésztő törekszik az egységes képet mutató állomány kialakítására, de legtöbbjük tenyészetében szinte megállapíthatatlan a kecskenyáj genetikai összetétele. Az állományok fajta-átalakító keresztezéssel történő homogenizálása megoldást jelentene a gazdaságosabb termelés érdekében is. Ennek legegyszerűbb és legkézenfekvőbb megoldása a mesterséges termékenyítés bevezetése a gazdaságokban, eleinte csak helyben vett hígított spermával, majd később igény szerinti központi spermaellátással. A mesterséges termékenyítés széles körű alkalmazásával, a tejtermelés szempontjából nagy tenyészértéket hordozó, jó „örökítő erővel” rendelkező bakok használatával az állományok átalakítása akár öt éven belül kivitelezhető.

A természetes fedeztetésre használt bakok hatásához viszonyítva a mesterséges termékenyítés

alkalmazásával egy-egy tenyészbak hatása időben és térben is kitolódhat. Így sokkal nagyobb figyelmet kell szentelni az apaállatok tenyészértékére, javító-rontó hatásaira. Ezért nagyon fontosak az ivadékvizsgálatok, ami a természetes fedeztetéssel ellentétben ezen eljárás használatával könnyebben megvalósítható. Előbbi alkalmazásakor, mire az adott bakok lányainak, unokáinak termeléséről valós képet kapnánk, nagy valószínűséggel az adott apaállat már nem is él. Fontos szempont még az is, hogy egy-egy baktól sokkal több utód termelésének adata áll rendelkezésünkre, így pontosabb képet kapunk a használt bak tenyészértékéről. Mivel hazánkban nem igazán található stabil genetikai állományú gazdaságokat, így bakokat sem, ezért érdemes megfontolni külföldi bakok behozatalát és hazai használatát. Miután a kísérleteink színhelyeül szolgáló gazdaság tulajdonosai néhány import bakot szereztek be tenyészetük számára, többek között az előbbiekből felsorolt szempontok készítették őket a mesterséges termékenyítés tenyészetükben történő bevezetésére.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A mesterséges termékenyítés története egészen a XIV. századig nyúlik vissza. A hazai mesterséges termékenyítő hálózat kifejlesztésében Mészáros (1952) és Cseh (1973) munkásságát kell kiemelni. Hazánkban a mesterséges termékenyítést országosan elsőként a lótenyésztésben (1947), majd a szarvasmarha-tenyésztésben (1948), juh-tenyésztésben (1953), később pedig a sertés-tenyésztésben (1970) vezették be (Haraszi és Zöldág, 1993).

A kecskéket világszerte inszeminálják, többnyire cervikálisan, illetve laparoszkóp segítségével, ivarzás-szinkronizálással egybekötve. Tenyészidőszakban és tenyészidőszakon kívül is termékenyítenek különböző eredményességgel.

Leboeuf és mtsai (1998) a mesterséges termékenyítés tenyésztési, utódelőrzési jelentőségét hangsúlyozva számoltak be Franciaországban végzett inszeminálásaik eredményességéről. Tenyészidőszakon kívül ivarzás-indukálással és -szinkronizálással, mélyhűtött spermával termékenyítettek közel 60 ezer anyakecskét. Technológiájukkal 65%-os ellési

százalékot értek el. Szintén ebben az évben, ugyanúgy kiegészítő szezonban Gergátz (1998) folytatott kísérleteket Murciában. Az inszeminálásokat március hónapban végezték, 2-4 °C-ra hűtött, kétnapos spermával kecsketenyésztő kisgazdaságokban. Az állatokat szinkronizálták, s ivarzásuk alatt kétszer termékenyítették őket 8 órással időközrel. A kutatás során 96 anyát termékenyítettek, melyekből első inszeminálásra 65,6% vemhesült.

Ezen kívül a kecskék tenyészszezonon kívüli ivarzás-szinkronizálással egybekötött mesterséges termékenyítésével kapcsolatban csupán néhány kutatócsoport számol be kísérletekről. López-Sebastian és mtsai (2007) kutatásaikban egy, az általuk kidolgozott új módszerrel a termékenyített anyák 64,6%-os vemhesülését írja le. A friss és a mélyhűtött spermával végzett termékenyítések eredményességét egyszeri, illetve kétszeri inszeminálás esetében görög kutatók vizsgálták. Az általuk közölt eredményekben a friss és a mélyhűtött sperma fertilitása között átlagosan 12% eltérés mutatkozott. Friss sperma esetén az anyák 65,5%-a, mélyhűtött termékenyítőanyagnál pedig 53,4%-a ellet meg. Az egyszeri illetve a kétszeri inszeminálás hatékonyságában ennél nagyobb eltérések mutatkoztak. A friss spermával végzett termékenyítések esetén egyszeri inszeminálásra az anyák 48, kétszerire pedig 70,4%-a ellet meg. A mélyhűtött termékenyítőanyag egyszeri használatával 44,9, kétszeri inszeminálással pedig 59,1%-os eredményeket értek el (Karatzas és mtsai, 1997). Baril és Vallet (1990) kutatásai szerint a fent említett eredményeknél jobbakat érhetünk el, ha a kezeléseket tenyészszezonban végezzük.

Greyling és mtsai (2002) által publikált szuperovulátás utáni embrió átültetéshez alkalmazott laparoszkópos mesterséges termékenyítés 60 illetve 67%-os termékenyülést eredményezett.

Leboeuf és mtsai (2000) által két csoporton végzett ivarzás-szinkronizálás és mesterséges termékenyítés esetén 63-74, illetve 61-82%-os ellési arányról számol be, a bejuttatott spermiumok számától függően. Greyling és Nest (2000) nem talált szignifikáns különbséget a kontroll csoport és a különböző mennyiségű progeszteron készítmények eredményessége között az általuk végzett ivarzás-szinkronizálás során.

Ezzel szemben Lehloenya és mtsai (2005) 52 és 53%-os vemhesülési arányról számolnak be tenyészszezonban végzett kísérletek esetén dél-afrikai kecskéknél, 16 napos progeszteron és 300 NE PMSG kezelése után. Romano (2004) szintén tenyészszezonban, de Észak-Amerikában végzett kísérleteinél 63 és 65%-os eredményeket ért el.

SAJÁT VIZSGÁLATOK

Vizsgálatainkat 2008 késő őszén egy Dunasziget és Püski között fekvő gazdaságban végeztük, Győr-Moson-Sopron megyében, Mosonmagyaróvártól 15 km-re.

Az állomány heterogén képet mutatott mind fenotípus, mind genotípus tekintetében. Az állomány 200 anyából és a hozzá tartozó szaporulatból, illetve a 6 tenyészbakból állt, melyek közül a négy legjobbat használtuk kísérleteink alatt.

Előző évi előkísérleteink alapján döntöttünk az ivarzás-szinkronizálással egybekötött mesterséges termékenyítés technológia mellett, sikerünk esetén megoldható lesz tejfeldolgozójuk egész éves programszerű tejellátása.

Az anyakecskék ivarzás-szinkronizálása egy spanyol-angol fejlesztésű technológián alapult. Az eljárás során Chronogest CR [20 mg cronolone vag. spong. (Intervet)] hüvelyspongyákat használtunk, melyeket 12 nap múltán távolítottunk el. A 10. napon 500 NE PMSG [i.m. (Werfaser)] és 0,5 ml prosztoglandin F₂α [i.m. (Enzaprost)] tartalmú injekciókat kaptak a kijelölt állatok. Az inszeminálásokra a 14. nap délelőttjén és délutánján került sor.

A kísérlet megtervezésekor oda kellett figyelniünk a telep helyi adottságaira, a munkaerő kapacitására és az elvégzendő feladat nagyságára. A 150 nappal későbbi ellési munkacsúcs széthúzása érdekében 12 csoportba soroltuk a termékenyítendő 144 állatot. A kísérleti állomány egyszáma és a használandó bakok kis létszáma miatt fontos volt még szem előtt tartani a bakok kihasználhatóságát, azaz hogy mindegyik bak legalább egy napot pihenhessen az ugrások között. Ezt is sikerült megoldanunk a csoportnagyságok kialakításával (akár 20-25 anyakecskét is minden probléma nélkül le tudtunk volna termékenyíteni egy bak egy adag hígtott spermájával).

A különböző veszteségek miatt (spongya elhagyás, gennyes hüvely, stb.) a kísérlet időtartama alatt összesen 124 állatot sikerült három ismétlésben a négy baktól származó termékenyítőanyaggal inszeminálnunk, így apaállatonként egy 11 és két 10 nőivart tartalmazó csoport után állt rendelkezésünkre adat az eredmények értékeléséhez. Alapvető elvárás volt, hogy megfelelő minőségű termékenyítőanyagot tudjunk gyűjteni, és 2-4 °C-on tárolni, illetve a spermavételeket, a kezeléseket és az inszeminálásokat sikerüljön beilleszteni a telep napi munkájába, hogy később a telep dolgozói, a megfelelő tanfolyam elvégzése után maguk is el tudják majd végezni a technológia egyes lépéseit.

Munkánk kezdetén figyelmet szenteltünk a bakok felkészítésére. Lenyírtuk a tasak körüli, valamint a bakok jobb oldalán található hosszabb szőrszalakat, így akadályozva meg ezek hímvessző és a műhüvely bejáratí nyílása közé kerülését, illetve az utólokéskor ebből keletkező esetleges sérüléseket (az így károsodott bak hetekig nem ugrana, illetve nem ejakulálna). Az apaállatok vétagjait egyenként átnéztük. Stressz mentes körülményeket biztosítottunk számukra. Kiemelt figyelmet szenteltünk annak, hogy a termékenyítések kezdete előtt már két hónappal is csak kiváló minőségű takarmányt kapjanak. Ez a 49 napos spermio genesis miatt volt fontos.

Ezt követte a bakok tréningje a spermagyűjtéshez. A spermát műhüvely segítségével nyertük. A spermavételhez a bakokat már az előző évben végzett előkísérleteink során hozzászoktattuk. Fontos volt, hogy a spermavevő személyt a bakok jól ismerjék, ne féljenek tőle. Az ugratás helyén az állatokat csak kellemes ingerek érték, így ott hangoskodni, a bakokkal durván bánni nem volt szabad. Ha a bak nem akart ugrani, úgy vettük észre, hogy egy másik bak jelenlétével ösztönözni lehetett. Fontosnak találtuk, hogy termékenyítésre csak a második ejakulátumot használjuk, mivel az első ejakulátum általában több elhalt spermiumot tartalmazott.

A spermavételhez szabványosított juh-műhüvelyt, valamint kettősfalú, alultöltős spermavételi poharat használtunk. A műhüvely összerakását a tervezett felhasználása előtt legalább fél nappal végeztük. Összeszereléskor gondoskodnunk kellett a sterilizálásról, és hogy a gumbelsőn haránt ráncok ne keletkezzenek, megfelelően feszes legyen.

Az előkészített műhüvelybe megfelelő mennyiségű vizet töltöttünk a beöntő nyíláson a külső- és belső gumi által bezárt térbe. Nagyon vigyáztunk arra, hogy a belső által bezárt henger alakú térbe, különösen pedig a pohár belső üregébe ne jusson víz. Az összeszerelt, vízzel megtöltött és felfújtt műhüvely szabad végét fóliával zártuk le, s az egészet 38-40 °C-ra beállított termosztátba tettük. Spermavétel előtt a műhüvely szabad végéről a fóliát levettük, tiszta fehér vazelint kentünk steril kémcsővel a belső gumi belső felületére.

A bakoktól levett nyers sperma bírálata, hígítása, ismételt bírálata, hűtése laboratóriumban történt. Mivel a baksperma – a bikaspermához viszonyítva – nagyon érzékeny a hőmérsékleti változásokra, nagyon kellett arra vigyáznunk, hogy a helyiség hőmérséklete szinte állandó legyen. Csak ilyen külső körülmények közt lehetett az állandó hőmérsékletet biztosító készülékek (tárgyasztal melegítő, Wassermann-vízfürdő) reguláló berendezéseit pontosan beállítani és működtetni. A laborba bekerült sperma bírálata során leolvastuk a pohár belső falán lévő beosztásról az ejakulátum mennyiségét. Néztük színét, konzisztenciáját, szemmel látható tömegmozgását. A jó ejakulátum sárgás-fehér színű, sűrű, tejszínszerű konzisztenciájú, benne gomolygó tömegmozgás látható szabad szemmel is. Steril, egyszer használatos 0,25 ml-es műszalmával néhány cseppnyi mennyiséget felszívunk, s a mikroszkóp 38 °C-ra beállított tárgyasztal-melegítőjén már átmelegedett tárgylemezre 1-2 cseppet rácseppentünk, s a műszalmával kicsit a cseppet szétszélesztettük, kis nagyítás mellett bíráltuk.

A spermavételi napló vezetése a bakok spermatermelés szerinti osztályozása, szakmai munkánk reális értékelése és továbbfejlesztése érdekében volt fontos. A napló adatait folyamatosan, a kapott vizsgálati eredmények alapján töltöttük ki. A sperma tömegmozgását: 5 M – 4 M – 3 M – 2 M – 1 M jelzésekkel osztályoztuk. Az ejakulátum sűrűségét ugyancsak kis nagyítással bíráltuk, és 5 S – 4 S – 3 S – 2 S – 1 S jelzéssel osztályoztuk.

Kísérleteink első részét a mikroszkóp segítségével végzett motilitás-vizsgálat jelentette friss, illetve 2-4 °C-ra hűtött termékenyítőanyag esetén. Az élő, jól mozgó spermiumok százalékos arányát a fedőlemez alatti néhány látótér bírálatával állapítottuk meg, amely során az élénk, előre haladó mozgást mutató sejtek megoszlását figyeltük. A jó ejakulátum legalább 70% élő, jól mozgó spermiumot tartalmazott, mellyel már nyugodtan termékenyítettünk. A napi gyakorlat számára ez a bírálat elegendő volt ahhoz, hogy a hígítás mértékét meghatározzuk, illetve döntsünk az ejakulátum sorsáról.

A vizsgálataink második részében a bakok minősítése érdekében a Jaskowski-féle festési eljárással is ellenőriztük az ejakulátumok minőségét. A spermiumokat öt kategóriába soroltuk festődésük alapján: 1. Nem festődött, görbült farkú spermiumok; 2. Nem festődött, egyenes farkú spermiumok; 3. Festődött, egyenes farkú spermiumok; 4. Festődött, görbült farkú spermiumok; 5. Egyéb képletek. Ozmotikus sokk hatására az ép, élő spermium farka legtöbbször a mitokondriális hüvely végénél nagyon élesen visszahajlik, és a fej nem festődik (1.). Az elpusztult, illetve a farkánál már degenerálódott spermium ezt a visszahajlási reakciót már nem mutatja (2.), illetve a degeneráció fokától függően a feje festődhet (3.).

A levett sperma hígításához szintetikus hígítót használtunk. A hígítás folyamán végig vigyáztunk, hogy az ejakulátumhoz adott hígító hőmérséklete egyezzen a sperma hőmérsékletével, ezért a hígítót mindig a duplafalú spermavételi pohár belső oldalán végigcsurgatva adagoltuk a nyers spermához. A hígítás után mintegy 2,5-3 óra alatt hűtöttük a termékenyítőanyagot 2-4 °C-ra. Itt ügyeltünk az egyenletes hűtési sebességre, mivel az akroszóma károsodások akkor jönnek létre, ha időhiány miatt gyorsítunk a hűtésen.

Az aznap ivarzott anyákat a lehűtött spermával termékenyítettük. A cerviko-uterinális inszemináláshoz módosított Milovanov-féle katétert használtunk. Az anyát egy ember a két hátulsó lábánál fogva felemelve rögzítette, míg a másik nyugodtan elvégezte a termékenyítést, rögzítette az adatokat. Vizsgálataink befejező részében az egyes bakok után kapott ellési százalékokat elemeztük következő év tavaszán.

Az adatok rögzítéséhez és eredményeink feldolgozásához, értékeléséhez Microsoft Excel 2003 és Microsoft Access 2003 programokat használtunk.

EREDMÉNYEK ÉRTÉKELÉSE

A motilitás-vizsgálat (1. táblázat) és a Jaskowski-féle festési eljárás (2. táblázat) egy olyan bakra derített fényt, amelynek spermája meglátásunk szerint nem volt teljes mértékben alkalmas a termékenyítésekhez.

Az inszeminálások során észrevettük, hogy az anyák eltérően reagáltak az ivarzás-szinkronizálási technológiára, az ivarzás időpontja nem pontosan

akkorra esett, mikorra azt az eljárás leírásából vártuk volna.

2009 tavaszán az inszeminált állatok 59,67%-a ellett meg. Ez az eredmény valamivel rosszabb, mint a legtöbb szakirodalmi adat. Ez következhetett a fentebb leírt ivarzás-időpont eltolódásból, illetve néhány bak spermájának a technológiával szemben tanúsított érzékenységéből.

1. táblázat

A motilitás-vizsgálat eredménye friss és 2-4 °C-ra lehűlt sperma esetén 3-3 spermavétel átlagában

Bak sorszáma(1)	Motilitás (%) (2)	
	Friss sperma(3)	2-4 °C-ra hűtött sperma(4)
1	80	70
2	75	60
3	75	70
4	55	50

Table 1: Results of motility examination of fresh and cooled (2-4 °C) semen in average of 3 sperm-collection

Number of buck(1), motility(2), fresh semen(3), cooled semen(4)

2. táblázat

A Jaskowski-féle festési eljárás során kapott eredmények friss és 2-4 °C-ra lehűlt sperma esetén 3-3 spermavétel átlagában

Típus(1)	Festődési típusok aránya bakonként (%) (2)							
	Friss sperma(3)				2-4 °C-ra hűtött sperma(4)			
	1	2	3	4	1	2	3	4
1.	73,2	59,5	76,3	38,7	64,9	55,5	72,4	33,1
2.	16,3	29,1	15,4	33,4	18,1	31,5	19,7	34,2
3.	10,1	11,2	8,1	27,3	16,6	12,8	7,6	32,3
4.	0,3	0,1	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1	0,3
5.	0,1	0,1	0,0	0,2	0,2	0,1	0,2	0,1

Table 2: Results of sperm staining method of fresh and cooled semen (2-4 °C) in average of 3 sperm-collection

Type(1), rates of different types of stained sperm cells(2), fresh semen(3), cooled semen(4)

Az 1. ábrából kitűnik, hogy a 4-es sorszámú bak spermája mutatta a legnagyobb érzékenységet az eljárással szemben, a vele termékenyített anyák csupán 45,2%-a ellett meg.

Míg a legjobb eredményt – 70,9%-os ellési százalékot – a 3-as sorszámú bak termékenyítőanyagával értük el.

1. ábra: Az ellési százalék megoszlása bakonként

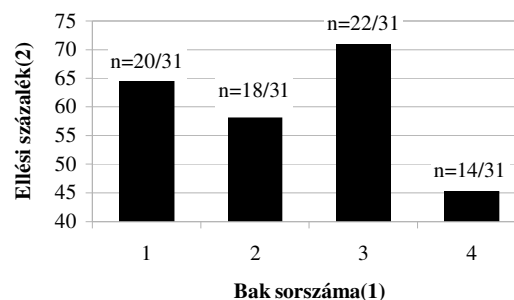


Figure 1: Yeaning rates after used bucks

Number of buck(1), yeaned rate(2)

KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Az inszeminálások során derült ki, hogy az anyakecskék egyedi eltéréseket mutattak a kezelésekkel szemben, illetve a szinkronizálási technológiában az inszeminálás pontos idejének meghatározása hagyott még némi kívánnivalót maga után. Lényeges, hogy a termékenyítés pontos idejét meghatározzuk ezen technológia alkalmazása során, hazai körülmények között. Ennek megfelelően terveztük a 2009. évi újabb ivarzás-szinkronizálással egybekötött mesterséges termékenyítési kísérleteinket.

Fontos a bakok szűrése a technológiával szemben tanúsított egyedi érzékenységük alapján. Sajnos a legrosszabb fertilitást mutató bak tenyésztérteke a legkimagaslóbb, az ő lányai termelnek a legjobban a tenyészetben. A gazdával a következő tenézszezonzban valószínűleg kompromisszumkötésre kényszerülünk, és használnunk kell azt a bakot is, még ha ez az eredményeinket rontani is fogja. A fertilitási érték javítása érdekében a hűtési technológián is szeretnénk javítani, ezáltal kevesebb stressznek kitenni a spermát. A további vizsgálatok és kísérletek feladata az lesz, hogy megoldást találjunk ezekre a problémákra a fertilitási érték javítása érdekében. Többféle festési eljárás segítségével, fázisvizsgálatokkal próbáljuk a kritikus pontokat megtalálni, és azokat kiküszöbölni.

IRODALOM

Baril, G.-Vallet, J. C. (1990): Time of ovulations in dairy goats induced to superovulate with porcine follicle stimulating hormone during and out of the breeding season. *Theriogenology*, 34. 2. 303-311.

Gergátz E. (1998): Az állatszaporítás biotechnikája és biotechnológiája. In: Dudits D.-Dohy J. (összeáll.): *Biotechnológia: lépéstartás Európával*. Magyar Tudományos Akadémia. Budapest

Greyling, J. P. C.-van der Nest, M. (2000): Synchronization of oestrus in goats: dose effect of progestagen. *Small Ruminant Research*. 36. 2. 201-207.

Greyling, J. P. C.-van der Nest, M.-Schwalbach, L. M. J.-Muller, T. (2002): Superovulation and embryo transfer in South African Boer and Indigenous feral goats. *Small Ruminant Research*. 43. 1. 45-51.

Haraszti J.-Zöldág L. (1993): *A háziállatok szülészete és szaporodásbiológiája*. Mezőgazda Kiadó. Budapest

Karatzas, G.-Karagiannidis, A.-Varsakeli, S.-Brikas, P. (1997): Fertility of fresh and frozen-thawed goat semen during the nonbreeding season. *Theriogenology*. 48. 6. 1049-1059.

- Leboeuf, B.-Manfredi, E.-Boue, P.-Piacère, A.-Brice, G.-Baril, G.-Broqua, C.-Humblot, P.-Terqui, M. (1998): Artificial insemination of dairy goats in France. *Livestock Production Science*. 55. 3. 193-203.
- Leboeuf, B.-Restall, B.-Salamon, S. (2000): Production and storage of goat semen for artificial insemination. *Animal Reproduction Science*. 62. 1-3. 113-141.
- Lehloeny, K. C.-Greyling, J. P. C.-Schwalbach, L. M. J. (2005): Reproductive performance of South African indigenous goats following oestrous synchronisation and AI. *Small Ruminant Research*. 57. 2-3. 115-120.
- López-Sebastian, A.-González-Bulnes, A.-Carrizosa, J. A.-Urrutia, B.-Díaz-Delfa, C.-Santiago-Moreno, J.-Gómez-Brunet, A. (2007): New estrus synchronization and artificial insemination protocol for goats based on male exposure, progesterone and cloprostenol during the non-breeding season. *Theriogenology*. 68. 8. 1081-1087.
- Romano, J. E. (2004): Synchronization of estrus using CIDR, FGA or MAP intravaginal pessaries during the breeding season in Nubian goats. *Small Ruminant Research*. 55. 1-3. 15-19.