

VADÁLLATOK SZAPORODÁSBIOLÓGIÁJA, ÁLLATKERTI TENYÉSZPROGRAMOK

REPRODUCTION BIOLOGY OF ZOO ANIMALS, CAPTIVE BREEDING PROGRAMMES

Magyar Vad- és Állatkerti Állatorvosok Társasága
Fővárosi Állat- és Növénykert

Budapest, 2005. március 18-20.

Szerkesztette / Edited by

Molnár Viktor
Sós Endre

Szerzők / Authors

Andréka György	Hidas András	Ochs, Andreas
Bailey, Leonard	Hildebrandt, Thomas B.	P. Tardy Erika
Barna Judit	Hofer, Heribert	Papp Antal
Beregi Attila	Hofmann, Reinhold R.	Pappné Horváth Hajnalka
Blottner, Steffen	Huszenicza Gyula	Pintér Ágnes
Bogsch Ilma	Jeager Judit	Proháczik Angella
Chen, Phillip	Jewgenow, Katarina	Quandt, Sybille
Corselli, Johannah	Király Balázs	Révay Tamás
Cseh Sándor	Kovács András	Sátorhelyi Tamás
Dávid Gergő	Kőhalmi Barbara	Schwarzenberger, Franz
Dinnyés András	Kukovics Sándor	Sós Endre
Edviné Meleg Erika	Kulcsár Margit	Szőke Zsuzsanna
Erdélyi Károly	Lennert Lidia	Tomasova, Kristina
Fodor László	Liptói Krisztina	Trigg, Timothy E.
Gál János	Meyer, Heinrich H. D.	Varga Ákos
Göritz, Frank	Mezősi László	Várkonyi Eszter
Gósi Gábor	Molnár András	Végi Barbara
Gustavsson, Ingemar	Molnár Viktor	Vincze Zoltán
Hegedűs Tibor	Molnár Zoltán	Walzer, Christian
Hermes, Robert	Nándorfi Zoltán	Zsolnai Attila



Levezető elnök: Mezősi László

Fővárosi Állat- és Növénykert

9⁰⁰ Bogsch Ilma
főigazgató
Fővárosi Állat- és Növénykert

Megnyitó

9¹⁵ Hermes, Robert
IZW, Berlin

Assisted reproduction and artificial insemination in rhinoceroses

10⁰⁰ Hildebrandt, Thomas B.
IZW, Berlin

Artificial insemination in elephants

10⁴⁵ Kávészünet

Levezető elnök: Beregi Attila

Szent István Egyetem

11¹⁵ Göritz, Frank
IZW, Berlin

Contraception in elephants

12⁰⁰ Mezősi László
Fővárosi Állat- és Növénykert

Állatkerti állatok fogamzásgátlása

12²⁰ Huszenicza Gyula
Szent István Egyetem

Endokrin diagnosztikai módszerek alkalmazása állatkerti emlősökben

12⁴⁰ Ebédészünet

13³⁵ A konferencia résztvevőinek fényképezése

Levezető elnök: Graf Zoltán

Graf-Med Kft.

13⁴⁵ Poszterszekció

14⁴⁵ Fodor László
Szent István Egyetem

Emlősállatok szaporodásbiológiai zavart okozó fertőző betegségei

15⁰⁵ Sós Endre
Fővárosi Állat- és Növénykert

Főemlősök szaporodásbiológiai zavarai

15²⁵ Kávészünet

Levezető elnök: Sátorhelyi Tamás

Ófalu Állatorvosi Rendelő

15⁵⁵ Beregi Attila
Szent István Egyetem

A kistrágyásállatok szaporodásbiológiája

16¹⁵ Prohász Angéla
Kittenberger Kálmán Állatkert

A vadászgörény ivari működésének jellemzői és befolyásolásának lehetőségei

16³⁵ Dinnyés András
Mezőgazdasági Biotechnológiai
Kutatóközpont

"Lefagyasztott állatkert" és klónozott veszélyeztetett állatok: hogyan illeszthetők be az új technológiák a fajmegőrzési programokba

16⁵⁵ Vita

Állatkerti tenyésztés vs. in situ fajmegőrzés vs. „frozen zoo”
(vitaindító: Dinnyés András, Mezősi László)

17⁵⁵ Vacsora

18³⁵ MVÁÁT Közgyűlés

2005. március 19., szombat

Levezető elnök: Sós Endre

Fővárosi Állat- és Növénykert

9⁰⁰ Hermes, Robert
IZW, Berlin

Semen preservation in non-domestic species

9⁴⁵ Göritz, Frank
IZW, Berlin

Reproductive biology of the great panda

10¹⁰ Göritz, Frank
IZW, Berlin

Immobilization and transintestinal sonography in cassowary

10³⁵ Kávészünet

Levezető elnök: Andréka György

Xantus János Állatkert, Győr

11⁰⁵ Hildebrandt, Thomas B.
IZW, Berlin

Reproductive assessment in the Komodo dragon

11⁵⁰ Molnár Viktor
Fővárosi Állat- és Növénykert

Madarak szaporodásbiológiai zavarai

12¹⁰ Erdélyi Károly
Országos Állat-egészségügyi Intézet

Tojásvizsgálat, madárembrió-elhalási okok

12³⁰ Ebédészünet

Levezető elnök: Molnár Viktor

Fővárosi Állat- és Növénykert

13³⁰ Hegedűs Tibor
Kútvölgyi úti Kórház

Humán szülészeti ultrahang-diagnosztika

13⁵⁰ Kőhalmi Barbara
Perinatalis Intenzív Centrum

Humán neonatológia, intenzív perinatalis ellátás

14¹⁰ Andréka György
Xantus János Állatkert, Győr

Elárvult emlősállatok mesterséges felnevelése

14³⁰ Molnár Zoltán
Fővárosi Állat- és Növénykert

Állatkerti tenyésztési programok

14⁵⁰ Gősi Gábor
Szegedi Vadaspark

Az állatorvos szerepe az állatkerti tenyésztési programokban

15¹⁰ Kávészünet

Levezető elnök: Prohászki Angéla

Kittenberger Kálmán Állatkert

15⁴⁰ Sátorhelyi Tamás
Ófalu Állatorvosi Rendelő

Gyíkok szaporodásbiológiai zavarai

16⁰⁰ Gál János
Szent István Egyetem

Kígyók és teknősök szaporodásbiológiai zavarai

16²⁰ Vincze Zoltán
Fővárosi Állat- és Növénykert

Tengeri halak és gerinctelenek fogságban történő szaporítása

16⁴⁰ Mezősi László
Fővárosi Állat- és Növénykert

Zárszó

19⁰⁰ Záróbankett (Tropicarium)

2005. március 20., vasárnap

7⁰⁰ Találkozás a Főkapunál
Konferenciakirándulás Bécsbe (Tiergarten Schönbrunn)

20⁰⁰ Tervezett visszaérkezés

KÖSZÖNTŐ

Tisztelt Vendégek, kedves Hölgyeim és Uraim!

Ismét eltelt egy év, és a Magyar Vad- és Állatkerti Állatorvosok Társasága újra megtartja a – most már remélem, haladó hagyománnyá váló – konferenciáját itt, a budapesti Állatkertben, ahol sok szeretettel üdvözlöm mind a kül-, mind a belföldi résztvevőket.

Már a tavalyi év tematikája is rendkívül vonzó volt. Az idén pedig sikerült megint egy nagyon jó, divatos szóval élve: „up to date” témát találni. Ezzel persze nem feltétlenül a szervezőket akarom megdicsérni, hanem a téma: „Vadállatok szaporodásbiológiája, állatkerti tenyésztési programok” kiemelt fontosságára szeretném felhívni a figyelmet.

Emlékeztetek az állatkertek világstratégiájában megírt célokra, feladatokra, amelyek között kiemelt fontosságú azon területek és lehetőségek feltárása, ahol az állatkertek is részt vállalhatnak a természetmegőrzésben, a természeti erőforrások fenntartható hasznosításában. Ennek egyik módszere a fontos tudományos ismeretek megszerzésének támogatása az ismeretek megszerzéséhez szükséges feltételek biztosításával.

Visszatérve a témához, a vadállatok szaporodásbiológiájához és az állatkerti tenyésztési programokhoz, bátran mondhatom: mindnyájan tudjuk, ismerjük feladatainkat, és – legfőképpen korlátainkat, amelyeken természetesen igyekszünk túllépni. Ennek a túllépésnek különböző okai lehetnek, akár elismerjük azokat, akár nem. A vizsgálódásnak, a szaporodásbiológiába való „beeszólásnak” oka lehet, pl. hogy egy valamilyen szempontból „értékesnek” tartott faj egyedeit szaporodásra bírjunk; de oka lehet az is, hogy egyszerűen nem értjük: adott minden – és mégsem történik semmi, bár lehet, hogy nem a valamilyen szempontból értékes fajok egyedeiről van szó. De akkor is, miért nem szaporodnak? Ha ez a kíváncsiság, a mit? – miért? – miért nem? – nem lenne meg bennünk, azt hiszem nem is jönnének össze. A kíváncsiság kielégítése nélkül, de előkelőbben mondván a tudományos kutatások és azok eredményeinek ismertetése, elméleti és gyakorlati alkalmazásának el nem mondása esetén csak írott malaszt maradna a természetmegőrzés kapcsán az állatkertek központi feladata a természetmegőrzési világstratégiában. Hiába beszélünk különböző tenyésztési programokról, EEP-kről – bár véleményem szerint lassacskán, némi túlzással már a takarmányállatok szaporodásbiológiájába is majd valamilyen okból beeszólunk – és hiába beszélünk mélyhűtött ivarsejtekről és mesterséges termékenyítésről stb.

Az emberek többségére jellemző a gondolkodás és eredményének alkalmazása. Azért gyűltünk itt most össze, hogy meghallgassuk, ki, mit, hogyan tett le a vadállatok szaporodásbiológiájára, az állatkerti tenyésztési programok elősegítése érdekében. Biztos vagyok benne, hogy nagyon érdekes előadásoknak leszünk fültanúi, és ezek után már nincs más tisztem, mint hogy sok sikert kívánva megnyissam a Fővárosi Állat- és Növénykert, valamint a Magyar Vad- és Állatkerti Állatorvosok Társaságának 2005. évi konferenciáját.

Dr. Bogsch Ilma

főigazgató

Fővárosi Állat- és Növénykert

ASSISTED REPRODUCTION AND ARTIFICIAL INSEMINATION IN RHINOCEROSSES

**Hermes, Robert¹ – Göritz, Frank¹ – Walzer, Christian² – Sós Endre³ –
Tomasova, Kristina⁴ – Molnár Viktor³ – Mezősi László³ – Schwarzenberger, Franz⁵ –
Hildebrandt, Thomas B.¹**

¹Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany

²Zoo Salzburg, Austria

³Budapest Zoo and Botanical Garden, Hungary

⁴Zoo Dvůr Králove, Czech Republic

⁵University of Veterinary Medicine, Vienna, Austria

hermes@izw-berlin.de

Problems attributable to long-term captivity have been identified and are responsible for the difficulties in establishing successful reproduction in captive populations of wildlife and, specifically rhinoceroses. Historically, non-reproductive periods of 10-15 years in nulliparous female rhinoceroses have not been considered problematic. New evidence suggests that prolonged exposure to endogenous sex steroids and long stretches of non-reproductive periods induce asymmetric reproductive aging in captive animals. The consequences result in reduced fertility, shortened reproductive life-span and, eventually, irreversible acyclicity. Since human and domestic animal models have already indicated that early pregnancy provides natural protective mechanism against asymmetric reproductive aging processes and premature senescence, it is imperative that appropriate counter measures such as artificial insemination are developed to ensure early pregnancy in captive animals for their preservation and to ensure increased genetic diversity of the captive populations. A newly developed reproductive strategy involving ovulation induction protocol, the application of ultrasonography and non-surgical AI has been implemented. These efforts in rhinoceros management programs at 15 European and North American zoos resulted so far in one stable pregnancy in a southern white rhinoceros due in summer 2005 at the Budapest Zoo.

ARTIFICIAL INSEMINATION IN ELEPHANTS

Hildebrandt, Thomas B. – Hermes, Robert – Göritz, Frank

Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany
hildebrand@izw-berlin.de

The development of assisted reproduction programmes in elephants will greatly enhance the potential for creating self-sustaining populations in captivity. For elephants, it is critical that methods for evaluation of reproductive capacity be developed, including development and status of genital tract and integrity of the gonads. AI is one of the most effective methods for improving the breeding success of domestic species. But in over 25 years, different AI methods have never produced a confirmed elephant pregnancy. A new AI technology was developed at Institute for Zoo Biology and Wildlife Research (IZW) in collaboration with several international zoological institutions, which incorporates ultrasonographical and endoscopic imaging techniques combined with a patented catheter system.

Potential AI candidates and semen donors were examined for a pre-selection by transrectal ultrasound. Healthy tractable female elephants with nulliparous or multiparous breeding status were chosen as candidates for the AI programmes. Ear-vein blood was sampled weekly, biweekly and finally daily as ovulation approached. Samples were processed for analysis of P4 and LH. The AI were scheduled 20 days after the first LH surge or/and if the Graafian follicle reached a size of 20.0 mm in diameter measured by transrectal ultrasound. Semen samples were collected from non-sedated pre-selected elephant bulls by rectal palpation of the accessory sex gland complex with manual stimulation. The fractionated samples of the ejaculate were collected into rectal gloves placed directly on the penis or into a modified fish catching net (required no direct contact with the bull). Ejaculate parameters were assessed at collection, the sample was extended in specific elephant semen extender, cooled to 4°C and flown to the institution kept the female AI candidate. Thirty minutes prior to insemination, the semen was warmed to 36°C and parameters were re-assessed. The AI procedure consisted of: catheterisation of the vestibulum vaginae (1.3 m); endoscopic visualisation of the vaginal openings; catheterisation of the vagina (1.5 m) and ultrasonographic verification of the AI catheter position; ultrasonographically-guided insemination into the vagina (nulliparous females) or uterus (multiparous females). After an AI blood will be sampled weekly to assess serum P4. In addition, ultrasonography can be used to prove the success of the AI and to monitor the embryonic development.

HORMONAL IMPLANTS – A SUPERIOR CONTRACEPTIVE IN ELEPHANTS

Göritz, Frank¹ – Hildebrandt, Thomas B.¹ – Hermes, Robert¹ – Quandt, Sybille¹ –
Jewgenow, Katarina¹ – Hofmann, Reinhold R.¹ – Hofer, Heribert¹ –
Meyer, Heinrich H. D.²

¹Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany

²Institute of Physiology, TU Munich, Freising, Germany
goeritz@izw-berlin.de

We tested whether hormonal contraceptives are an alternative to culling in the control of elephant populations. Single applications of implants releasing low doses of the sexual hormone 17 β -oestradiol prevented ovulation and resulted in a 100% inhibition of fertility, in contrast to 80% by immunocontraception as described recently¹. Hormonal contraception is also superior in terms of long-term efficacy, reduced disturbance because a single application is sufficient, and lower costs. Hormonal contraception had no side-effects and there was no evidence of aberrant behaviour.

Both hormonal and immunological contraception programmes were part of a joint field project conducted in the Kruger National Park (KNP) supported by South African National Parks. Localisation, immobilisation and recapture of free-ranging elephants were performed by KNP staff¹. Initially, we examined 66 female elephants by transrectal ultrasonography² to determine reproductive health and to exclude pregnancies. In addition, we evaluated ovarian activity³ by assessing serum concentrations of 17 β -oestradiol and the gestagene dihydroprogesterone. Although all pre-selected cows were supposed to be “non-pregnant”¹, 14 out of 66 females were pregnant as determined by ultrasound (Fig. 1). The remaining 52 cows were allocated either to treatment with hormonal implants (n=10), to immunocontraception¹ (n=21), or served as controls for both treatments (n=21). Two early-pregnant cows as detected later by ultrasonography had been allocated, one each, to both treatments, effectively reducing treatment sample sizes to 9 and 20, respectively. Thus, our field pregnancy diagnosis by ultrasound was accurate in 97% (64/66) of cases, and the key to monitoring treatment effects correctly.

Oestrogens, rather than gestagens, were chosen as contraceptives, because in elephants oestrogens are regulated at very low levels. Moreover, our commercial oestradiol implants are approved, effective and safe⁴. Five implants per individual were applied subcutaneously and released 250 – 300 μ g of 17 β -oestradiol daily. Twelve months after application of implants, none of the probands were sonographically diagnosed as pregnant compared with 94% pregnant controls. After 22 months, the success rate of contraception was still at 88.9% (8/9). All controls were pregnant. Serum analysis revealed that oestradiol concentrations of treated animals (2.9 ± 2.1 pg ml⁻¹; mean \pm s.d.; range 0.09 – 9.1 pg ml⁻¹) were within the range of non-pregnant (1.8 ± 2.4 pg ml⁻¹; range 0.03 – 10.5 pg ml⁻¹) and pregnant animals (3.4 ± 0.6 pg ml⁻¹; range 1.1 – 15.5 pg ml⁻¹). Hormone implants down-regulated ovarian function, as documented by three ultrasound examinations throughout the study and by serum analysis for dihydroprogesterone (early post-partum: 0.8 ± 1.9 ng ml⁻¹; treatment first year: 1.7 ± 2.3 ng ml⁻¹; pregnant: 8.5 ± 5.9 ng ml⁻¹, Mann-Whitney U test, early post-partum vs treatment U=337.5, p=0.02, treatment vs pregnant U=112.5, p<0.0001).

Because there were fears expressed that contraception may cause social problems for treated females, a high-resolution video camera was used to document social interactions between treated and untreated members of the herd. The analysis of these tapes recorded by KNP staff during the critical period of January to February 1997 showed no evidence of any aberrant behaviour. The analysis of blood samples (see above) also showed no evidence of

unphysiological oestradiol or gestagen levels. Repeated ultrasound examinations did not reveal any pathological alterations of the urogenital tract, nor did a careful external examination show any signs of injuries from sexual harassment. Throughout the study milk samples were collected from all treated cows, confirming the presence of suckling calves throughout 1997.

In conclusion, hormonal contraception was highly effective, safe and without side-effects. With only a single treatment it is marginally stressful, but further developments of remote application techniques and drug compositions are required before it can be used for large populations as in KNP.

Literature cited

1. Fayrer-Hosken, R. A., Grobler, D., van Altena, J. J., Bertschinger, H. J., Kirkpatrick, J. F. *Nature* **407**, 149 (2000)
2. Hildebrandt, T. B., Göritz, F. in *Zoo & Wild Animal Medicine: Current Therapy* **4**, (ed. M.E. Fowler, R.E. Miller, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999).
3. Meyer, H. H. D., Sauerwein, H., Mutayoba B.M. *J.steroid.Biochem.* **35**, 263-269 (1990).
4. Wagner, J. F in *Anabolics in Animal Production: public health aspects, analytical methods and regulation* (ed. E. Meissom, Office Internat. des Epizooties, Paris, 1983)

ÁLLATKERTI ÁLLATOK FOGAMZÁSGÁTLÁSA

Mezősi László

SZIMBA Állatorvosi Rendelő
mezosilaszlo@freestart.hu

CONTRACEPTION IN ZOO ANIMALS

Contraception is an important issue in zookept animals. There are several reasons, what justifies these efforts. There are permanent and reversible methods. Several factors should be considered by choosing the proper method. Among the reversible methods most frequently used are synthetic progestins (MGA implant, feed or liquid form; medroxy-progesterone acetat injection; levonorgestrel acetat implants; megestrol acetat tablets; altrenogest solution), synthetic progestin plus estrogen combination in pill form, Porcine Zona Pellucida vaccine, GnRH agonists (injection or implants). The use of these products must be considered experimental as there are no sufficient data on efficacy and safety in zoo animals.

Állatkerti állományok szaporodásának, illetve nemi működésének végleges vagy időszakos leállítására egyre gyakrabban van szükség. Ennek sokféle indoka lehet (pl. túlszaporodás, az elhelyezés törvényi szabályozása, beltenyésztés megelőzése, nem alfajtiszta egyedek szaporodásból való kizárása, az ivararány megfelelő kialakítása, az állatok közötti agresszió csökkentése). A beavatkozás során mérlegelni kell az állat korát, az alkalmazandó módszer hatékonyságát, biztonságát, a mellékhatások lehetőségét, az egyed reprodukív állapotát, a közösségben elfoglalt helyét.

Végleges fogamzásgátlás

Ivartalanítás (hím vagy nőstény)

Vasectomia

Visszafordítható fogamzásgátlás

A két nem egyedeinek az elkülönítése

A. Szintetikus szteroid hormonok

A szintetikus progeszteron készítmények az ovuláció megakadályozásával szolgálnak a vemhesség megelőzésére. A méhnyak nyálkahártyájának a megvastagodását, a petesejt mozgásának lelassulását, a termékenyülés vagy a beágyazódás megakadályozását okozzák. Nem szüntetik meg a tüsző növekedést és az ivarzás tüneteinek jelentkezését, sőt ovuláció is előfordulhat (vemhesség nélkül).

1. Melengestrol acetát (MGA)

Leggyakoribb formája a szilikonba ágyazott implantátum. Hatékonysága általában két év. Különböző nagyságban készülnek. Fertőtlenítés után a két lapocka közötti izomzatba történik a behelyezés. Ilyenkor 1-3 nap alatt teremti meg a hatékony hormonszintet, bőr alá ültetve egy héten belül. Ha ovuláció előtti állapotban kerül beültetésre, ezen folliculusok elnyomása nehéz. Ilyenkor inkább 1-2 hét múlva éri el a biztos hatást. Szezonálisan ivarzó állatokban a kezelést egy hónappal (kutyaféléknél 2 hónappal) a várható ivarzás előtt kell elkezdni. Vemhes és nem ivarérett állatokban nem ajánlott a kezelés.

Takarmányban is adható (Mazuri ADF-16 növényevő pellet MGA-val) főleg patásoknak. MGA folyadék forma is használatos. Szájon keresztül adagolva az ajánlott dózist minden nap el kell fogyasztania az állatnak.

Az implantátum eltávolítása, illetve a takarmányban vagy ivóvízben adott hatóanyag megszüntetése után néhány nappal bekövetkezhet ovuláció és fogamzás, de ezt sok egyéb tényező is befolyásolja.

2. Depo-Promone (Medroxyprogesteron acetát – Pharmacia) injekció

Főleg szezonálisan ivarzó állatoknak ajánlott. Hatékonysága nagyon változó (6 héttől 2 évig), általában 2-3 hónap. Az injekció beadása után kettő, (de legalább egy) hét várakozás után biztos a hatás. Szezonálisan ivarzóknál legalább 1 hónappal (kutyafélékben 2 hónappal) a várható ivarzás előtt kell a kezelést elkezdeni. Az utolsó injekció beadása után jelentkező első ovuláció rendkívül változó lehet egyedenként, 6 héttől akár 2 évig is terjedhet. Vemhes és nem ivarérett állatok esetében nem ajánlott az alkalmazás.

3. Norplant (Levonorgestrel acetát – Wyeth-Ayerst) implantátum

Főemlősöknél, néhány húsevőnél használatos. Általában a kúra elkezdése után 1-2 hét várakozás szükséges a megfelelő hatás eléréséhez. Szezonálisan ivarzó állatokban legalább 1 hónappal (kutyaféléknél 2 hónappal) a várható ivarzás előtt kell a kezelést elkezdeni.

Emberben egészen 5 évig hatásos lehet. Egyéb fajoknál nincsenek megbízható adatok. Vemhesség alatt és nem ivarérett egyedeknél nem ajánlott a használata.

4. Ovarid (Megestrol acetát – Schering-Plough) tabletta

Húsevőknél használható. Hatékonysága egy nap, ezért naponta adagolandó. Vemhesség és nem ivarérett egyedek esetében nem ajánlott az alkalmazása.

5. Regu-Mate (Altrenogest – Hoechst-Roussel) oldat

Pzrewalski-csődörök agressziója ellen és néhány tengeri emlősnél alkalmazható. Vemhesség és nem ivarérett egyedek esetében nem ajánlott alkalmazni.

6. Szintetikus progeszteron plusz ösztrogén tabletták

Számos humán készítmény ismert, általános alkalmazási módja: 21 nap szedés, majd 7 nap szünet. Főemlősökön és néhány macskaféléken használták. Nincs pontos dózis megállapítva. Napi tabletta fogyasztás szükséges. Ivarzási tünetek jelentkeznek a placebo időszakban. Vemhesség és szoptatás esetén nem ajánlatos használni.

B. GnRH agonisták

Lupron (Leuprolide acetát – TAP Pharmaceuticals) depo-injekció

A hormontermelést szünteti meg az agyalapi mirigyben és az ivarmirigyekben a kezdeti stimulálás után. Főleg hímeiben a tesztoszteron termelés csökkentésére (spermium termelés elnyomása) használták. Hímeknél a várható tenyészszézon előtt több mint 2 hónappal kell alkalmazni a spermatermelés biztos megelőzése miatt.

Deslorelin (Suplerolin – Peptech Animal Health) implantátum

Makákó hímegek agressziójának csökkentésére használták sikerrel.

Mivel először stimuláló hatást fejtenek ki, ezen időszak alatt fontos az elkülönítés (illetve más fogamzásgátló módszer alkalmazása). Deslorelin adásakor 3 hetes fogékony időszak van. Hímegekben a kezdeti szakasz fokozott agressziót és szexuális érdeklődést válthat ki. Ezek a készítmények vemhesség esetén nem alkalmazhatók, mivel vetélést idézhetnek elő.

C. Vakcina

Porcin zona pellucida vakcina (PZP)

Immunokontracepció útján fejt ki hatását. Megakadályozza a spermiumoknak a petesejtbe történő behatolását. Patásoknál ajánlott. 2-3 évre alkalmas fogamzásgátlásra. Rövid távon, 2-3 hetes intervallumban kell két injekciót beadni. Legalább 2 héttel a második injekció beadása után lehet a nőtényeket a hímekkel összeengedni. Szezonálisan ivarzó állatoknál a kezelést a várható ivarzás előtt legalább 2 hónappal korábban kell elkezdni.

Az ivarzási ciklust nem nyomja el. A tenyésztidőszakot a tipikus időn túl is meghosszabbítja. Emlékeztető adagolás szükséges évente fajtól függően egy, illetve két alkalommal. Húsevőknél nem használható, mivel már egy injekció is visszafordíthatatlan eredményt okoz. Három éven túli alkalmazás egyéb fajoknál is hasonló hatást eredményezhet.

Egyéb módszerek

a./ Méhbe történő eszköz felhelyezés, esetleg emberszabásúakban lehetséges.

b./ Számos gyógyszer (pl. Bisdiamin) a spermatermelést blokkolhatja. Ez idáig hatékonyság igazolódott emberekben, bunderekben, több rágcsálófélében, kutyában, farkasban (kísérletileg hozzáférhető, drága).

A felsorolt módszereket és készítményeket kísérletinek kell tekinteni, mivel az állatkerti állatoknál történő alkalmazás hatékonyságáról és biztonságáról nem áll elegendő adat rendelkezésre.

ENDOKRINOLÓGIAI VIZSGÁLÓMÓDSZEREK ALKALMAZÁSA ÁLLATKERTI ÉS VADON ÉLŐ ÁLLATOKBAN

Proháczik Angella – Kulcsár Margit – Huszenicza Gyula

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar,
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika
Huszenicza.Gyula@szie.aotk.hu

ENDOCRINOLOGICAL MONITORING OF ZOO AND WILD ANIMALS

Assaying progesterone (P_4) level in serially collected blood samples is a traditional method for monitoring the (onset of) cyclic ovarian function in many species. However, serial collection of blood is painful and stressful for the animal, it can not be carried out in semi-domesticated and wild *Mammals*, and in addition the sampling procedure and the harvest of plasma or serum require some professional skill and certain technical prerequisites. Due to these disadvantages of blood sampling the P_4 determination from milk and recently also the measurements of gestagen metabolites (GM) in fecal samples could offer us good alternatives. The latter method is based on the phenomenon that certain inactive metabolites of P_4 (its various 20-oxo-, 20 α -OH-, 20 β -OH-, and 5 α - or 5 β -pregnane derivatives) are excreted with the bile through the gastrointestinal tract. The fecal GM level reflects the mean value of P_4 in blood in the previous 16-24 h, thus in cyclic animals it is much lower in the follicular than in the luteal phase. In our lab we have a microplate ELISA for determination of P_4 in blood and milk, which is based on a monoclonal antibody cross-reacting significantly also with 5 α -pregnan-3,20-dion. Earlier this technique was modified for assaying the GM content in feces of pig, sheep and goat. Our purpose was to determine whether this method is suitable for monitoring the ovarian activity also in certain semi-domesticated and zoo *Mammals* (white rhinoceros, *Ceratotherium simum* and ferret, *Mustela putorius furo*; below only the ferret-related experiences are detailed).

Tudományos háttér, előzmények

Egyes hormonok diagnosztikai célú meghatározása segítséget nyújthat bizonyos megbetegedések felismerésében vagy például a petefészek ciklikus működésének nyomon követésében. A nagy számú minta feldolgozását lehetővé tevő modern hormonanalitikai vizsgálómódszerek (radioimmuno-assay, RIA; enzimimmuno-assay, ELISA stb.) elterjedése új lehetőséget jelent az állatkerti, illetve vadon élő állatok szaporodásbiológiai gondozásában is.

A petefészek-működés nyomon követésének lehetőségei, a ciklikus és acikliás jellegű petefészek-működés egymástól történő elkülönítése nem mindig egyszerű feladat. Az ivarzás tünetszegény jellege, illetve az ivarzás-megfigyelés technológiai hibái ugyanis azt eredményezik, hogy állatokban a megfigyelhető ivarzási tünetek hiánya önmagában nem elegendő az aciklia diagnózisának a kimondására, egyes fajokban – pl. lóban, a biológiai tenézszezón kezdetén – pedig ivarzási tünetek esetenként előfordulhatnak a még acikliás egyedekben is. Szükség lehet a petefészek-működés jellegének pontos megítélésére bizonyos gyógykezelési eljárások, ill. takarmányozási technológiák petefészek-működésre gyakorolt hatásának a megítélése során is. Különleges feladatot jelent, amikor létükben veszélyeztetett, a kihalás szélén álló fajok (pl. óriás panda, okapi, feketelábú görény), esetleg bizonyos, a köztényésztésben ma már nem szereplő ősi háziállatfajták utolsó megmaradt egyedének vagy pl. állatkerti körülmények között tartott, a mintagyűjtéssel járó humán kontaktust nem vagy csak nehezen elviselő, nagy egyedi értékű állatoknak a szaporodóképességéről kell véleményt mondani. Az egyes cikluszavarok elkülönítő körjelzése is indokolhat ilyen vizsgálatokat.

A célra legalkalmasabbnak a *progeszteron* (P_4) határozás számít. A ciklus tüszőfázisában néhány napon át alacsony, a mérhetőség alsó határa körüli értéken mozog a hormon szintje. A tüszőrepedést követően csakhamar jelentősen növekszik a P_4 koncentrációja, majd az ezt követő legalább 14-16 napon át, a sárgatestfázis teljes tartama alatt emelkedett is marad. Ha bizonyos időközönként (a konkrét céltól függő rendszerességgel, naponta vagy 2-3 naponként) vérmintát gyűjtünk, és meghatározzuk annak P_4 -tartalmát, az eltelt idő függvényében ábrázolt P_4 -szintek (az ún. P_4 -profil) ismeretében pontos képet kapunk az adott egyed petefészek-működéséről. A módszer mennyiségi

következtetések levonására (pl. a sárgatest-működés elégtelenségének a diagnosztizálása) is alkalmas lehet. A szükséges analitikai eljárások a hazai laboratóriumokban is rendelkezésre állnak.

Nehézséget jelenthet viszont a mintagyűjtés: a hosszabb időn keresztül rendszeresen végzett *vérminta*-gyűjtés jelentős fájdalommal jár, stresszfaktorként esetenként önmagában is befolyásolhatja a petefészek működését, számos fajban (pl. vadon élő vagy állatkerti állatfajok) pedig egyszerűen kivitelezhetetlen, emellett állatvédelmi szempontból sem kívánatos. A humán gyógyászatban megoldást jelenthet a P4 *nyálmintából* történő meghatározása, ennek gyűjtése azonban állatokban még a vérénél is nehezebb lenne. Bizonyos fajokban ezért a figyelem már korábban a *tejminták* használatára irányult. Napjainkban P4-profilvizsgálatok szarvasmarhán és a rokon fajokban (bivaly, jak) szinte kizárólag csak tejmintákból történnek. Jóval korlátozottabban (pl. ló, kiskérődzők, teve) vagy egyáltalán nem (pl. gazdasági haszonállatok közül a sertés, illetve a vadon élő és állatkerti állatok) áll rendelkezésre azonban ez a lehetőség egyéb fajokban. Újabban a figyelem a bélsármintákból történő meghatározások lehetőségére irányul. A bélsárban a változatlan formában megjelenő P4 mennyisége ugyan meglehetősen kicsi, bőséggel ürülnek azonban annak a májban képződő, és az epével a bélsárba kerülő bomlástermékei, az ún. *gesztagén metabolitok*. Kémiaileg ezek a P4 biológiailag már hatástalan származékai, amelyek fajonként különböző koncentrációtartományban és arányban, de jól mérhető formában jelennek meg a bélsárban. A módszerrel a korábbiakban elsősorban a Bécsi Állatorvos-tudományi Egyetem biokémikusai szereztek kedvező tapasztalatokat.

Módszerfejlesztés

Munkacsoportunk kezdetben célul tűzte ki, hogy egy eredetileg a vérszérum és tej P4 tartalmának a meghatározására használt, de a progeszteronon kívül a bélsárban előforduló bizonyos *gesztagén* metabolitokkal (pl. $11\alpha\text{OH}$ -progeszteron, 5α -pregnan-3,20-dion) is keresztreagáló ellenanyag segítségével egy ELISA rendszert fejlesszen ki, amely alkalmas lehet egyes vadon élő, illetve háziemlős fajok petefészek-működésének a vizsgálatára.

Az elmúlt néhány esztendőben sikerrel befejeztük a módszer kidolgozását. A 0,5 g mennyiségű bélsárminta *gesztagén* metabolit tartalmát metilalkohol és petroléter segítségével kivonjuk, majd annak mennyiségét egy, a laboratóriumunkban kifejlesztett microplate ELISA segítségével határozzuk meg. A módszer egyes változatait az alábbi fajokra adaptáltuk, validáltuk, illetve szereztünk alkalmazásával diagnosztikai tapasztalatokat: kiskérődzők (juh, kecske, muflon), sertés, szélesszájú orrszarvú, vadászgörény.

A módszerrel vadászgörény (*Mustela putorius furo*) fajban szerzett tapasztalatok

A faj szaporodás-élettani jellemzői és kiválasztásának indokai

A menyétfélék (Mustelidae) családjába tarozó vadászgörény (*Mustela putorius furo*) egyike az ember által nem túl hosszú idő óta tenyésztett, ún. félig háziasított emlősfajoknak. Vadon élő változata, illetve a család számos további képviselője (köztük pl. a napjainkra a kihalás szélére sodródott, és ezért fokozott természetvédelmi oltalom alatt álló vidra, nyuszt és nyérc) tagja a Kárpát-medence természetes faunájának. A háziasított változatot korábban értékes szőrmejéért, illetve rágcsőlértés céljából tartották és tenyésztették. Kecessége, gazdája iránti ragaszkodása következtében Észak-Amerika és Nyugat-Európa számos országában újabban társállatként is egyre kedveltebb. A kedvtelésből tartott egyedek száma hazánkban napjainkban néhány ezerre tehető.

Vadászgörény ivarzási időszaka március közepén kezdődik. A vadon élő változatban valószínűleg csupán egy-két egymást követő tüzönövekdedési hullám zajlik le. A márciusban vemhesült egyedek a kölykezést követően az év folyamán rendszerint már nem – vagy csak szórványosan, az alom elpusztulása vagy kivételes táplálékbőség esetén – ivarzanak, nem vemhesülnek ismét. A fajban a vemhesség tartama 42 nap, a szoptatásé pedig kb. 60 nap. A

menyétfélék családjának (a macskafélékhez hasonló) közös szaporodás-élettani tulajdonsága, hogy az ivarzó állatokban tüszőrepedésre, illetve az ezt követő sárgatest-képződésre csak párzás esetében kerül sor (ún. provokált ovulációjú állatok). A kialakuló sárgatestek P4-termelő képességüket a vemhesség végéig megőrzik. Ez a hormon teszi lehetővé, hogy a méh nyálkahártyája alkalmassá váljon az embrió befogadására és a vemhesség kihordására. A sárgatestek kialakulására akkor is sor kerül, ha az állat a párzás nyomán valamilyen okból nem fogamzik, vagy az embriók korán elpusztulnak (álvemhesség). Az álvemhesség tartama csaknem azonos a vemhességével. Párzás hiányában a petefészek harmadlagos tüszőállománya elsovad, majd egy újabb tüszőnövekedési hullám veszi kezdetét, néhány napon belül az állat újból ivarzik.

A vadászgörény faj egyes szaporodás-élettani jellemzői a domesztikáció során – hasonlóan az egyéb, korábban házasított fajkéihez – jelentősen változhatnak. Jó példája ennek, hogy – szemben a vadon élő fajtársaikkal – a házasított változat esetében ivarzó egyedekkel kb. augusztus végéig találkozhatunk. A márciusban ivarzó, vemhesült vagy éppen álvemhes egyedek az év későbbi időszakában, néhány nappal-héttel a kölykezést vagy az álvemhesség végét követően rendszeresen újból ivarzanak, ismét vemhesülhetnek. Mivel e faj esetében a házasítás okozta szaporodás-élettani változások napjainkban, szinte a szemünk előtt zajlanak, ezek vizsgálata csábító kihívás a modern tudomány eszköztárát, köztük endokrinológiai vizsgálómódszerek alkalmazásának a lehetőségét birtokló kutatók számára. A fajban végzett szaporodás-élettani vizsgálatokat a klinikai állatorvos-tudomány igényei (pl. a társállatként tartott egyedek nem kívánt vemhesülésének megelőzésére alkalmas módszerek fejlesztése) is indokolják. Ezen túl a szerzett ismeretek közelebb vihetnek a kiemelt természetvédelmi oltalom alatt álló közel rokon fajok (vidra, nyuszt, nyérc) szaporodásbiológiai tulajdonságainak a jobb megismeréséhez is.

Célok

Munkacsoportunk vizsgálni kívánta, hogy (1) az általunk korábban kifejlesztett bélsár gesztagén metabolit ELISA alkalmazható-e a vadászgörény fajban is. Igenlő esetben (2) a módszer felhasználásával tapasztalatokat kívántunk szerezni arról, hogy a kölykezést, illetve az álvemhesség végét követően kb. mennyi idővel számíthatunk az első ivarzás / ovuláció lehetőségére, illetve ez az időpont mutat-e összefüggést az állat tejtermelésével, alomnevelő képességével.

Saját vizsgálatok

Vizsgálatainkat egy hazai körülmények között nagyobbnek számító vadászgörény tenyészetben, két kísérletsorozat keretében végeztük. A kísérleteket minden esetben egyedi ketrecekben elhelyezett, egészséges állatokon, a vonatkozó állatvédelmi szabályok maradéktalan betartásával végeztük.

Az **1. kísérlet**ben a gesztagén metabolitok bélsárban történő megjelenését, és ezzel módszerünk használhatóságát kívántuk bizonyítani. A kísérlet *1. szakaszában* három, előzetesen petefészek-irtott (ovarietomizált, ovex) nőivarú egyedtől (életkor: 12-24 hónap; testtömeg: 600-750 g) hét napos időközökkel állatonként összesen 6 alkalommal bélsármintákat gyűjtöttünk gesztagén metabolit határozás céljára. A periódus végén a háromból 2 ovex nőstény, illetve egy további, előzetesen ivartalanított (kasztrált) hím egyed (életkor: 24 hónap; testtömeg: 1000 g) izomzatába egy alkalommal 12,5 mg progeszteron olajos oldatát (Luteosan[®] inj., Werfft-Chemie) fecskendeztük be, majd a kezelést követően 8 napon át naponként kétszer bélsármintákat gyűjtöttünk.

A háromból 2 ovex nősténynek, valamint a kasztrált hímnek a kezelés előtt vett valamennyi mintájában a ciklikus petefészek-működés teljes hiányáról tanúskodó, alapszintű gesztagén metabolit ürítést észleltünk. A progeszteron kezelést követő 60-72 órában a gesztagén metabolitok mennyisége átmenetileg jelentősen fokozódott. A harmadik ovex nőstényben a műtét technikai fogyatékosága miatt egy kisebb petefészekrészlet valószínűleg nem került eltávolításra. Ennek következtében a mintavételi periódus kezdete előtti napokban

az állat ivarzásra utaló tüneteket mutatott, bélsármintáiban pedig a gesztagén metabolit mennyiség időnkénti kisebb megemelkedését lehetett megfigyelni.

A **2. kísérletben** intakt ivarszervekkel rendelkező nőivarú egyedek petefészek-működését kívántuk nyomon követni. Az elmúlt év márciusának elején, az első ivarzások várható kezdete előtti napokban megkezdve a rendszeres, hetenként háromszori mintagyűjtést összesen hét egyedet (életkor: 12-48 hónap; testtömeg: 600-750 g) vontunk be a kísérletbe. Az ivarzó egyedeket fedeztettük. A rendszeres, hetenként háromszori mintagyűjtés állatonként 60-120 napon át – a vemhesség/álvemhesség teljes tartama alatt, majd az azt követő időszakban is – folytatódott.

Márciusban a hétből mindössze két állat vemhesült. Ezek 42-43 napos vemhesség után 6, illetve 8 egészséges kölyköt szültek, és almukat rendben fel is nevelték. A további öt állatban 42-43 napos tartamú, rózsaszínes hüvelyfolyással végződő álvemhességet észleltünk. Közülük három 42-46 nappal az első fedeztetést követően, május hónapban ismét ivarzott, és fedeztetve lett. Kettőjük vemhesült, és júniusban hatot, illetve nyolcat kölykezett. A harmadik nőtény ismét csak álvemhes lett.

A bélsárminták gesztagén metabolit szintje a várt tendenciákat tükrözte. Az ivarzó állatokban alapszintű gesztagén metabolit ürítést igazoltunk. A gesztagén metabolitok ürítése a fedeztetést követően emelkedni kezdett, a vemhesség/álvemhesség végéig emelkedett szintű is maradt, a kölykezést követően pedig alapszintre csökkent. Mind a négy vemhességet követően azonban csakhamar ismét a gesztagén metabolitok ürítésének az egyidejű sárgatest-működésre utaló, 6-7 hetes tartamú fokozódását lehetett megfigyelni, amelyet viszont ez esetben nem előzött meg ivarzás, illetve fedeztetés. Az állatok tejtermelése, illetve anyai viselkedése a laktáció alatti sárgatest-aktivitás ellenére teljes egészében a fajra jellemzőnek bizonyult. Az állatok csak ezt követően ivarzottak. Ezzel szemben az álvemhes állapot befejeződését csakhamar újabb ivarzás követte.

Következtetések, megbeszélés

Eredményeink alapján a bélsárminták gesztagén metabolit tartalmának a meghatározása céljára a munkacsoportunk által kifejlesztett technika a vadászgörény fajban is sikerrel alkalmazhatónak látszik. A segítségével nyert információk alapján egy, a fajra jellemző, eddig nem ismert szaporodás-élettani jellemzőként felvetődik a laktáció első napjaiban, ivarzási tünetekkel nem kísért, de normál sárgatestek képződését eredményező (spontán?) ovuláció lehetősége. Az álvemhes állapotot követően a nem tejlő állatokban ivarzási tünetek a hasonló időpontban mindig megfigyelhetőek, a gesztagén metabolit ürítés fokozódása azonban csak fedeztetett – vemhes vagy ismét álvemhes – egyedekben figyelhető meg. Az észlelt különbség magyarázata valószínűleg összefügg a tejtermeléssel, kölyökneveléssel: az ivarzási tünetek hiánya ez esetben nyilván az állat tejtermelését, és ez által kölyöknevelő képességét veszélyeztető túl gyors újravemhesülésnek a megelőzésére szolgál. Jelen idő szerint megválaszolatlan azonban az a kérdés, hogy ez esetben valóban történik-e ovuláció vagy pedig a progeszteron-termelés forrásául ez esetben luteinizált tüszők szolgálnak. Ennek tisztázása, továbbá a jelenség általánosan előforduló jellegének a bizonyítása azonban további célzott vizsgálatok végzését indokolja.

A tapasztalatok összegzése, a munka további folytatásának lehetőségei

Eddigi tapasztalataink szerint a bélsármintákból történő gesztagén metabolit analízis számos faj vagy fajcsoport (gazdasági haszonállatok: kiskérődzők, sertés; egzotikus és állatkerti állatok: tevéfélék, orrszarvú stb.; vadon élő állatok: muflon, és a menyétfélék családjába tartozó kisragadozó fajok, pl. vadászgörény) esetében sikeresen alkalmazható. Ígéretes módszerként kínálkozik

- a petefészek-működés ciklikus vagy acikliás jellegének az elkülönítésére;

- bizonyos, a petefészek-működés befolyásolására alkalmazott hormonkezelések (ciklusindukció, ivarzás-szinkronizáció, a nem kívánt ciklikus működés gyógyszeres megelőzése stb.) valós hatékonyságának az objektív megítélésére;
- a petefészek-működés szezonális jellemzőinek a vizsgálatára;
- az állat szexuális érettségének a megállapítására;
- provokált ovulációjú fajokban (macska, menyétfélék) a tüszőrepedés kimutatására;
- a sárgatest-aktivitás, illetve a placentális funkciók és ennek révén a vemhesség nyomon követésére, emellett bizonyos fajokban (pl. kiskérődzők) a korai magzatelhalás jelzésére.

A mintavétel módja egyszerű, az állatra nézve kíméletes, ezért minden fajban könnyen kivitelezhető. Lehetőséget biztosít az 1998. évi XXVIII. sz. állatvédelmi törvény előírásainak maradéktalan betartására. A sorozatos mintavételek extenzív körülmények között tartott házi-állatokban, illetve félig háziasított vagy vadon élő fajokban is viszonylag könnyűszerrel kivitelezhetőek. Ennek révén az előbbieken részletezett, hagyományosnak számító diagnosztikai és/vagy kutatási jellegű felhasználás mellett a módszer alkalmas lehet környezet-toxikológiai célokra is, pl. a tápláléklánc útján az állati szervezetbe kerülő gombatoxinok, agrokemikáliák és egyéb környezetszennyező anyagok egyes vadon élő emlősfajokban okozott szaporodásbiológiai következményeinek a vizsgálatára. Alkalmazásával minden bizonnyal számos új ismeretre tehetünk szert a jövőben, gazdasági haszonállatokban, állatkerti állatokban, illetve természetvédelmi szempontból fontos fajokban (hazánkban pl. a vidra) egyaránt.

EMLŐSÁLLATOK SZAPORODÁSBIOLÓGIAI ZAVART OKOZÓ FERTŐZŐ BETEGSÉGEI

Fodor László

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar, Járványtani és Mikrobiológiai Tanszék
Fodor.Laszlo@aotk.szie.hu

INFECTIOUS DISEASES CAUSING REPRODUCTION PROBLEMS OF MAMMALS

Several virus and bacterium species can cause infections of the genital organs and the fetus resulting infertility, embryonic death and abortion. The risk of infection with an agent causing reproduction problems is however bigger in a large scale farm than among wild or zoo animals. Some agents can be transmitted by venereal infections, other cause ascending infection of the genital tract of females or epididymitis and orchitis of males. The most important bacteria and viruses causing abortion will be summarised.

Számos baktérium és vírus okozta fertőző betegség a fertőződés időpontjától és az anyaállat immunológiai viszonyaitól függően befolyásolja az állatok szaporodását azáltal, hogy megakadályozza a termékenyülést, a vemhes állatok esetében a magzat elhalását, felszívódását okozza vagy vetéléshez vezet. A nagy tömegben együtt tartott gazdasági haszonállatok esetében a fertőzés endémiássá válása, a fertőzés veszélye, így a fertőző eredetű szaporodásbiológiai betegségek valószínűsége nagyobb, az állatkerti és vadon élő állatok esetében ez a kockázat kisebb, így az utóbbiak ilyen jellegű megbetegedéséről kevesebb adattal is rendelkezünk.

A fertőző ágensek az állatok szaporodási képességét különböző módon csökkenthetik. Egyes kórokozók, így *Campylobacter*-fajok, *Taylorella equigenitalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, bizonyos *Leptospira*-szerotípusok nemi úton, mások, például a *Staphylococcus*-, *Streptococcus*-fajok, *Arcanobacterium* (*Corynebacterium*) *pyogenes* sporadikus ascendáló fertőzés révén a nemi utakban elszaporodva azok gyulladást idézik elő, és megakadályozzák a termékenyülést. A kívülről bekerülő kórokozókról viszonylag kevesebb adattal rendelkezünk, hiszen ilyenkor általában kóroktani diagnózis a megbetegedés szórványos jellege miatt nem történik. Egyes fertőző ágensek, egyebek között gennyestő baktériumok, *Actinobacillus seminis*, *Histophilus somni* (*Haemophilus somnus*), *Brucella*-biotípusok, *Mycoplasma*- és *Ureaplasma*-fajok hím állatokban mellékhere- és heregyulladást okozhatnak, amelynek következtében csökken az állatok termékenyítő képessége. A nemi szervek fájdalmas gyulladást (szarvasmarha IPV/IBP, a ló ivarszervi kiütése), a fedezést akadályozó elváltozását (tályog, papilloma) vagy a fedezésképtelenséget (gerinctályog, hátulsó végtag ízületgyulladás, a hátulsó végtag gyengesége stb.) eredményező megbetegedések szintén kihatnak az állatok szaporodására, azonban ezek nem képezik a jelen téma tárgyát.

Számos, általános lázas tüneteket okozó és a vérárammal a vemhes méhbe eljutó kórokozó sporadikusan vetélést okozhat, az ilyen esetek egyedi jellegüknél fogva nem kapnak nagy figyelmet. A szaporodásbiológiai hatással járó fertőző betegségek közül az állatorvosi érdeklődés középpontjában halmozott előfordulásuk és gazdasági jelentőségük miatt a nemi úton terjedő és a vetéléssel járó kórképek állnak.

A fontosabb, vetéléssel járó kórképet okozó baktériumokat és vírusokat az alábbi táblázatok foglalják össze.

Háziállatokban, vadon élő és állatkerti állatokban vetélést okozó baktériumok

Baktériumok	Gazdafaj
<i>Listeria</i> -fajok	juh, szarvasmarha, rágcsálók, prémes állatok, főemlősök, lámák, antilopok
<i>Arcanobacterium pyogenes</i>	szarvasmarha
<i>Rhodococcus equi</i>	ló
<i>Salmonella</i> -szerotípusok	szarvasmarha, juh, kecske, ló, antilopok
<i>Histophilus somni</i>	szarvasmarha
<i>Brucella</i> -biotípusok	szarvasmarha, juh, kecske, sertés, tevé, rénszarvas, delfin, fóka, cetek, lámák, szarvasfélék, őz, antilopok, bivaly, bölény, vaddisznó, vidra, kutya, róka, farkas, medve, szkunk, oroszlán, vörös hiúz, víziló
<i>Campylobacter</i> -fajok	szarvasmarha, juh, menyétfélék
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	szarvasmarha, sertés
<i>Leptospira</i> -szerotípusok	szarvasmarha, juh, kecske, sertés, ló, kutya, pekari, orrszarvú, antilopok
<i>Chlamydophila</i> -fajok	juh, szarvasmarha, ló, antilopok
Rickettsiák	juh, szarvasmarha, antilopok
<i>Mycoplasma</i> - és <i>Ureaplasma</i> -fajok	kutya

Háziállatokban, vadon élő és állatkerti állatokban vetélést okozó vírusok

Vírusok	Gazdafaj
Parvovírusok	sertés, oroszlán, kékróka, róka, hiúz
Szarvasmarha fertőző rhinotracheitise (IBR)	szarvasmarha, szarvas
Aujeszky betegség	sertés, vaddisznó
Rhinopneumonitis/Vírusabortus	ló, lófélék, tapír
Kecske herpesvírus	kecske, vadon élő kérődzők
Kutya herpesvírus	kutya
Afrikai sertéspestis	afrikai vaddisznók, pekari
Encephalomyocarditis	sertés, pávián
Calicivírusok (hólyagos kiütés)	fóka
Bluetongue	juh, szarvasmarha
A ló fertőző arteritise	ló, szamár
Sertés reprodukciós zavarokkal és légzőszervi tünetekkel járó szindrómája (PRRS)	sertés
Szarvasmarha vírusos hasmenése (BVD)	szarvasmarha, juh, szarvasfélék
Border disease	juh
Sertéspestis	sertés, vaddisznó
Rift-völgyi láz	szarvasmarha, juh, kecske
Nairobi-betegség	juh, kecske
Paramyxovírusok (kanyaró, szopornyica, keleti marhavész)	főemlősök, fóka, delfin, varacskos disznó

Háziállatokban, vadon élő és állatkerti állatokban számos baktérium és vírus okozhat vetélést, magzatelhalást vagy a szaporodást befolyásoló egyéb fertőzést. Bár állatkerti állatokban az állatok tartásának, az állandó, szoros állatorvosi felügyeletnek köszönhetően tömeges vetéléssel járó megbetegedések általában nem szoktak előfordulni, az esetleges vetélések okozta gazdasági kár, az egyes kórokozók széles gazdaspektruma, illetve zoonotikus jelentősége minden vetélés gyors, gondos intézeti kivizsgálását indokolja akkor is, ha a vetélések oktana általában csak az esetek 30-40%-ában állapítható meg.

FŐEMLŐSÖK (PRIMATES) SZAPORODÁSBIOLOGIAI ZAVARAI

Sós Endre – Molnár Viktor – Mezősi László

Fővárosi Állat-és Növénykert
drsos@zoobudapest.com

REPRODUCTIVE DISORDERS IN PRIMATES

Several reproductive disorders can take place in primates. This paper approaches the breeding/contraception issue from the clinical aspects and deals with the clinical signs and treatments of reproductive diseases occurred at the Budapest Zoo between 1995 and 2005.

A főemlősökben számos szaporodásbiológiai zavar előfordulhat. Jelen előadás a klinikai aspektusok szemszögéből közelíti meg a szaporítás/fogamzásgátlás témakörét, illetve a Fővárosi Állat-és Növénykert 1995 és 2005 közötti időszakában előfordult szaporodásbiológiai problémák kapcsán világít rá egyes betegségek tünettanára és a gyógykezelés lehetőségeire.

Bevezetés

A főemlősök (Primates) szaporodásbiológiai zavarainak átfogó áttekintésére egy 20 perces előadás nem elegendő. Emiatt az előadás fő célja az, hogy a klinikus állatorvos szemszögéből közelítse meg ezt a témakört, rámutasson azokra a diagnosztikai nehézségekre, melyekkel a napi munka során találkozunk. Törekedtünk arra, hogy a Fővárosi Állat-és Növénykert elmúlt 10 évének beteganyagából hozzunk példákat, így nem „könyvszagú” válogatásról lesz szó.

Megbeszélés

Az állatkerti állatorvos főemlősökkel végzett munkája sok esetben szaporodásbiológiai szempontból is alapvető fontosságú. Egyes értékes, a kihalástól veszélyeztetett fajok állatkerti tartása során a szaporulat elérése az egyik fő szempont, de erre még a helyes ivararányok, megfelelő (vagy a mai tudásunk szerint annak tűnő) feltételek esetén sem kerül feltétlenül sor.

Ha egy nőivarú egyednél szaporodásbiológiai zavart feltételezünk, akkor igen bonyolult diagnosztikai feladatot kell megoldanunk: minimális háttér információ alapján kell egy „nőgyógyászati” kivizsgálást végeznünk, felderíteni a szaporodási sikertelenség lehetséges okait. Az előadás egy középkorú (25 éves), nőtény nyugati síkvidéki gorilla (*Gorilla gorilla gorilla*) esetében mutatja be a kivitelezendő diagnosztikai lépéseket (vérvizsgálat, ultrahangvizsgálat, hormonprofil felvétele). A kórelőzményben a korábbi négy évenkénti ellés elmaradása, negatív eredményű, vizeletből végzett humán terhességi teszt, megnövekedett hasterime, hasi fájdalommasságra utaló jelek és megnagyobbodott axiális nyirokcsomók szerepeltek. A presumptív diagnózis esetleges vemhességet vagy a hasüregben (is) elhelyezkedő nagyméretű daganatot sejtetett (utóbbi ellen szólt az állat jó általános állapota). Az altatásban végzett vizsgálatok során pseudoundulatio és obesitas kerültek megállapításra, az egyéb vizsgálatok (véreredmények, ultrahangos lelet, aspirációs citológia) kizárták a feltételezett kórisméket, az elhízás esetleges hormonális hátterére nem derült fény.

Fentiek ismeretében természetesen andrológiai kivizsgálásra is sor kerülhet, ha feltételezhető, hogy a hím állat betegsége áll a vemhesség elmaradásának hátterében.

A gyakorló állatorvos feladata lehet egy adott faj esetében a fogamzásgátlás is, de ezzel ez az előadás nem foglalkozik részletesen, mivel a témát más szerző tárgyalja a konferencián (megemlíjtük a csimpánzok (*Pan troglodytes*) melengesztrol-acetát /MGA/ implantátummal

történő fogamzásgátlását, illetve a castratio és vasectomia kivitelezését páviánfélék (*Papio* és *Mandrillus* spp.) esetében).

A vemhesség alatt bekövetkező rendellenességek, illetve a vemhesség monitoring témakörében a méhen kívüli terhességgel foglalkozunk egy szumátrai orángután (*Pongo pygmaeus abelii*) példáján. A méhen kívüli terhesség mai ismereteink szerint a főemlősöknél egy rendkívül ritka, az anya életét közvetlenül veszélyeztető állapot. A szakirodalom összesen négy korábbi esetet ismer mókusmajomból (*Saimiri sciureus*), éji majomból (*Aotes trivirgatus*), rhesusmajomból (*Macaca mulatta*) és babuin páviánból (*Papio cynocephalus anubis*) (mindegyik fajnál egy-egy esetet, melyekből a legutolsót 2004-ben publikálták). Orángutánban ezt a kórformát még nem írták le. Ennél a fajnál a vizeletből végzett humán terhességi teszt nem megbízható, ezért a bizonytalan tüneteket (elsősorban bágyadtságot, változó étvágyat) mutató, harmadik vemhességében járó, középkorú (25 éves) állaton altatásban humán szülész-nőgyógyász bevonásával ultrahangos vizsgálatot végeztünk. Hüvelyi vizsgálattal megállapításra került, hogy a méhnyak megtartott, szűken ujjnyi tágasságú. A hasfalán keresztül végzett ultrahangos vizsgálat során egy farfekvéses, egészséges szív működésű, valószínűleg nőivarú magzat volt látható a normális mennyiségű magzatvízben. A fej és a combcsont mérete alapján a magzat súlya egy kg körüli volt (hasonló méretű az egy kg körüli emberi magzatokéhoz). A vizsgálat során a szülés megindulására utaló tünet, azonnali beavatkozás szükségére utaló jel nem volt. Sajnos, kb. két héttel később az állat hirtelen rosszul lett, és percek alatt sokkos tünetek között elhullott. A kórbonctani vizsgálat során méhen kívüli (bal petevezetőbeli) vemhesség, a petevezető falában repedés és következményes, a hasüregbe történő elvérzés volt megállapítható. Az érett, nőtény magzatban elválkozás nem volt észlelhető, az állat májából történt bakteriológiai vizsgálat negatív eredménnyel zárult. A fenti esetben az ectopiás vemhesség diagnosztizálását nehezítette a bizonytalan klinikum, a vizsgáló tapasztalatlansága a fajjal kapcsolatban, a korábban használt elavult ultrahangos készülék, illetve ezen állapot ismeretlen volta az orángután fajban. Megjegyzendő, hogy még a diagnózis helyes felállítása esetén is kétes/rossz kórjósállattal kell számolni, mert az intraoperatív elvérzés esélye rendkívül nagy lehet.

Klinikai munkánk következő nagy témaköre a dystocia: ennek lehetséges okaival foglalkozunk (abszolút nagy magzat rokon fajok párosodása esetén, anyagforgalmi zavarok, a szülőút méretbeli eltérései, rendellenes magzati helyeződések), illetve a gyógykezelés lehetőségeit tárgyaljuk meg. Nehézellés főemlősökben ritkán fordul elő, de számítani kell rá többek között metabolikus csontbetegségen átesett vagy medencei traumás sérülést szenvedett állatok esetében.

Egyes újjvilági majmoknál az újszülött mérete élettanilag is rendkívül nagy az anyaállathoz képest (mókusmajmok esetében a testsúly vonatkozásában ez átlagosan 12%). Bármilyen magzati defektus (hydrocephalus, magzati hydrops) esetében a dystocia szinte elkerülhetetlen.

A császármetszés kérdését és technikai kivitelezését egy fehérpamacsos selyemmajom (*Callithrix jacchus*) példáján mutatjuk be. Az állatnál az elégtelen kalcium-ellátottság miatt a hátulsó testfél gyengesége volt a vezető tünet. A rossz általános állapotban lévő anyáról készült röntgenfelvétel egyértelmű bizonyítékot adott az anyagforgalmi zavar meglétére, ezért a primer fájásgyengeség megléte miatt császármetszést hajtottunk végre. Sajnos, a beteg anya a két kölyköt nem gondozta kellőképpen, ezért azokat nem lehetett megmenteni, de az anyaállat hosszú, közel négy hetes rehabilitáció után tünetmentessé vált. Aggályaink ellenére a seb postoperatív menedzsmentje problémamentes volt.

A császármetszés során különös gondot kell fordítani az anaesthesia kérdésére, mivel az összes ma ismert anaestheticum kisebb-nagyobb mennyiségben átjut a magzatokba. Jelen esetben maszkos isofluran anaesthesia segítségével került sor a beavatkozásra.

Egyes esetekben az elhúzódó ellés során hullamagzat világra hozatalára kerül sor. Ilyenkor az anyaállatok anyai ösztöne még működik, a halott magzatot akár napokig nem engedik el, továbbra is maguknál tartják. Ebben a helyzetben sor kerülhet az anya altatására és

a hulla elvételére, ami jó alkalmat teremt az anyaállat alapos fizikális vizsgálatára, illetve az involúciót segítő kezelés kivitelezésére.

Utolsó nagy témaként a méh egyes kóros elváltozásával (endometriosis, pyometra) foglalkozunk. Itt differenciáldiagnosztikai szempontból azokat az általános betegségeket kell megemlíteni, melyek egy időben előfordulva megnehezíthetik a diagnózis felállítását, illetve a gyógykezelés sikerét és a kórjóslatot lényegesen befolyásolják (példaként yersiniosis mókusmajmokban történő előfordulását, és egyidejű ovariohysterectomia kivitelezését mutatjuk be).

Következtetés

A mai állatkerti állatorvoslásban korrekt szaporodásbiológiai munka csak a vizsgáló módszerek összehangolásával lehetséges. Előnyben kell részesíteni a nem invazív módszereket, melyek közül a gesztagén metabolitok bélsárból történő analízise lehet hasznos eszköz. A műszeres módszerek között az ultrahangos vizsgálat szerepe elsődleges, ami megfelelő gyakorlat és készülék esetén alkalmas a méh kóros elváltozásainak, illetve a vemhességi anomáliáknak a felderítésére.

RÁGCSÁLÓK SZAPORODÁSBIOLOGIAI MEGBETEGEDÉSEI

Beregi Attila

Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék és Klinika
Beregi.Attila@aotk.szie.hu

REPRODUCTIVE DISEASES OF RODENTS

The author summarises the reproductive diseases of male and female rodents. In males the paraphymosis is the most common problem but sometimes injuries of the testis can be occur. Castration can be a choice to stop breeding. In stress and nutritional disorders or infectious diseases can cause abortion. Pyometra, uterine and ovarian tumors or ovarian cyst cause reproductive problems and the diagnosis can be made by radiology and ultrasound examination and surgical interventions can be performed. The reproductive diseases of rodents are interesting part of the work of the zoo veterinarians.

Az állatkertek állatállományának egy részét a rágcsálók képezik, ahol szaporodásbiológiai megbetegedések ugyanúgy jelentkezhetnek, mint bármelyik más állatfajnál.

A hím rágcsálók szaporodásbiológiai megbetegedései nem túl gyakoriak, és a betegségek egy része is könnyen orvosolható, de gyakran szükség lehet a hímek ivartalanítására is, hogy a túlszaporodást megakadályozzuk. Az ivartalanítást mindig fedetten kell elvégezni, hiszen a rágcsálók tág lágyékgyűrűvel rendelkeznek.

Rágcsálók esetében talán leggyakrabban a paraphymosissal találkozunk, amikor a péniszt a szőr, beszáradt ondó lefűzi, ezáltal a hímvessző megduzzad, ödémássá válik. Az ilyen állatok gyógykezelése aránylag egyszerű, hiszen altatásban a hímvessző megtisztítása után a praeputiumba visszahelyezhető. Néhány napig antibiotikum és gyulladáscsökkentők használata mindenképpen indokolt lehet. Tartós előesés következtében a pénisz akár el is halhat, ilyen esetekben az állat túlaltatása szükséges.

A here sérülései ritkábban következnek be, de a súlyosságtól függően helyi vagy szisztémás kezelés válhat szükségessé, de gyakran a herélést is el kell végezni.

A hímvivarú állatok szaporodási képtelensége meglehetősen ritka, esetleg a beltenyésztettség vagy korábbi sérülések miatt alakulhat ki.

Nőstények szaporodásbiológiai zavarai jóval gyakoribbak, mint a hímeké. Ki kell hangsúlyozni, hogy a rágcsálóknál a vemhességi idők az egyes fajok között meglehetősen nagy eltérést mutatnak, amit mindenképpen figyelembe kell venni.

A vetélés általában stresszhatásokra, takarmányozási anomáliákra, fertőző betegségekre, ritkábban más tényezőkre vezethető vissza. A gyógykezelés a vetélést kiváltó okoktól függ, de általában elmondható, hogy a vetélés után az állatok jelentős része újra tenyésztésbe vehető.

Rágcsálóknál császármetszésre ritkán kerül sor, de abszolút nagy magzat vagy nagy alomszám esetében erre a beavatkozásra értékesebb rágcsálók esetén szükség lehet. Sajnos gyakori, hogy a magzatok már nem élnek, mikor erre a beavatkozásra sor kerül. A műtét során el lehet dönteni, hogy az állatot tenyésztésben akarjuk-e tartani vagy nem.

Méhgyulladás steril kopuláció, folyamatos ivarzás, ritkábban fertőző okok következtében alakul ki. Diagnosztizálása általában nem okoz nehézséget, de gyakran szükség lehet egyéb diagnosztikai vizsgálatokra is, ilyenkor a röntgen- és az ultrahangvizsgálat elvégzése javasolt. Méhgyulladásakor nyitott méhszáj esetén a gyógykezeléssel meg lehet próbálkozni, de gyakran ovariohysterectomia elvégzése javasolt.

Méhdaganat szinte valamennyi rágcsálófajban előfordulhat, felismerése meglehetősen nehéz, hiszen klinikai tünetekben ritkán nyilvánul meg. Az állat körültekintő manuális vizsgálata, valamint a röntgen- és ultrahangvizsgálat nyújthat értékes információkat a daganat

milyenségéről, illetve az esetleges áttétekről. A gyógykezelés minden esetben a méh- és petefészek kivételét jelenti. A méhdaganatok ritkán képeznek áttéteket.

Petefészek-daganatok szintén okozhatnak szaporodásbiológiai problémákat, ezenkívül szimmetrikus szőrhiányok utalhatnak a megbetegedésre. A kórisme meghatározásához különböző műszeres vizsgálatok segíthetnek, a gyógykezelés szempontjából az ovariohysterectomia elvégzése javasolt.

Emlődaganatok gyakoriak lehetnek elsősorban beltenyésztett állatokon. Felismerése általában nem nehéz és egy-két emlőtelepre kiterjedő daganatok eltávolítása a rutin műtétekhez tartozik.

Petefészekciszta minden rágcsálófajban előfordulhat, azonban az egyedül tartott nőtényekben gyakoribb. Tüneteket egyáltalán nem vagy ritkán okoz. Alkalmanként szimmetrikus szőrhiányok, esetleg a has teriméjének növekedése hívhatja fel a figyelmet. Ultrahang-vizsgálattal a ciszta könnyen felismerhető, amely után a cisztás petefészek és a méh eltávolítása javasolt.

Álvmhesség egyedül vagy sűrű egyedszám esetén jön létre. Komoly gondot nem okoz ezért ritkán van szükség állatorvosi beavatkozásra.

A kannibalizmus nem szoros értelemben vett szaporodásbiológiai probléma, de gyakori előfordulása elsősorban tartási és takarmányozási hiányosságokra vezethető vissza, ami könnyen orvosolható.

Az előadás a fent említett betegségek vázlatos ismertetését mutatja be, és érinti a műtéttechnikai megoldásokat is.

Összefoglalva elmondható, hogy a kistrágcsálók szaporodásbiológiai megbetegedései, bár kevésbé jelentősek, mint más állatfajoké, azonban az állatorvos számára egy nagyon izgalmas és érdekes szakterületet foglalnak magukban.

A VADÁSZGÖRENY IVARI MŰKÖDÉSÉNEK JELLEMZŐI ÉS BEFOLYÁSOLÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI

Proháczik Angella¹ – Kulcsár Margit¹ – Trigg, Timothy E.¹ – Huszenicza Gyula¹

¹Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar,
Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika

²Peptech Animal Health, North Ryde, Australia
aprohaczik@vnet.hu

ENDOCRINE TREATMENT PROCEDURES USED TO SUPPRESS THE CYCLIC OVARIAN FUNCTION IN DOMESTIC FERRETS (*MUSTELA PUTORIUS FURO*)

Female ferrets (jills) kept as pets or experimental animals separately from males at oestrus time can not ovulate because of the lack of copulation. So their 17 β -estradiol (E₂)-producing follicles may persist for up to several weeks. Thus, the several-week long elevation of E₂ in plasma results in not only the endless expression of oestrus-like symptoms (swollen vulva), but also the other consequences of advanced hyperestrogenism (bilateral symmetric thinning or loss of the hair coat on the hindquarters or trunk called alopecia, followed by aplastic anemia and death in the most severe cases). The authors summarise the data of literature on, and their personal experiences with the various methods offered to suppress the ovarian activity of jills, such as spaying, administration of hCG, the use of synthetic gestagens and subcutaneous insertion of long acting GnRH implants. The limitations and unwanted side effects of these interventions are also overviewed.

A *menyétfélék* (*Mustelidae*) családjába tartozó vadászgörény, egyike az ember által már több száz éve tenyésztett, de ennek ellenére is a korábbiakban inkább csak félig háziasított emlősfajainknak. A kedvtelésből tartott egyedek száma napjainkban, hazánkban néhány ezerre, az USA-ban, Kanadában és Nyugat-Európa országaiban összességében néhány millióra tehető. A nőstények 8-12 hónaposan érik el az ivarérettséget. A görény ivarzási időszaka március közepén kezdődik. A faj egyes szaporodás-élettani jellemzői a domesztikáció során napjainkra jelentősen megváltoztak. Jó példája ennek, hogy – szemben a vadon élő fajtársaikkal – a háziasított változat esetében ivarzó egyedekkel kb. augusztus végéig vagy lakásban tartott egyedeknél az év szinte bármely szakában találkozhatunk.

A hímeiktől izoláltan tartott ivarzó nőstényekben, amelyek szigorúan reflexovulátorok, párzás nélkül nem alakul ki preovulációs LH csúcs, nincs ovuláció és az érett tüszők elsorvadása (atresia) után csakhamar egy újabb tüszőnövekedési hullám veszi kezdetét. A tüszőnövekedés egymást követő hullámokban folyamatosan magas ösztrogénszintet biztosít. Ennek hatására az állat szinte megszakítás nélkül, heteken át ivarzik. Az elhúzó E₂-hatás következményeként – esetenként drasztikus mértékű – szőrhullás, továbbá aplasztikus anaemia kialakulását eredményező súlyos csontvelő-károsodás léphet föl, ami akár az állat elhullását is okozhatja. A folyamat megelőzése céljából – ha az ivarzó nőstényt nem kívánjuk fedeztetni, – indokolt a tüszőrepedés, illetve az ezt követő álvemhességi CL-képződés mesterséges kiváltása. Az ovuláció a preovulációs LH-csúcs hatását imitálni képes hormonkészítmény befecskendezésével (100 NE humán choriongonadotropin, hCG) idézhető elő. A lakásban, társállatként tartott egyedek esetében az ivartalanítás is megoldás jelenthet, bár újabb megfigyelések szerint, ez hajlamosít a mellékvese-kéreg bizonyos szteroid hormonok termelésére képes daganatainak kialakulására. Kutyaiban, macskáiban és egyes állatkertben tartott emlősökben, így a görényekben is, a tüszőnövekedés elnyomására különböző, hosszú hatásidejű első (medroxiprogesteron acetát, MAP), illetve második generációs (proligeszton, PROL) szintetikus gesztagéneket alkalmazhatunk, melyek egyrészt gyakran méhgyulladásra hajlamosíthatnak, másrészt pedig kortizolszerű hatásuk miatt, iatrogén Cushing-betegséget idézhetnek elő. Jelenleg egy új hormonkészítmény, a hosszú hatású GnRH analóg használata nyújthat hatásos és biztonságos megoldást az ivarzás megelőzésére, illetve blokkolására, bár a görényen való alkalmazásának nincs elérhető irodalmi háttere.

A fent említett hormonkészítmények hatékonyságának, illetve hatástartamának összehasonlítása céljából, 25 nőtény állatot részesítettünk kezelésben. Az első csoport 15 mg MAP-ot (Depo-Promone inj.[®], Pharmacia & Upjohn, Puurs, Belgium), a második 40 mg PROL-t (Covinan inj.[®], Intervet International B.V., Boxmeer, The Netherlands), a harmadik 4,7 mg Deslorelin acetátot (Deslorelin implant[®], Peptech Animal Health, North Ryde, Australia) kapott az ivarzási időszak előtt, februárban. A negyedik csoportot 100 NE hCG-vel (Choriogonin inj.[®], Richter Gedeon, Budapest, Hungary) kezeltük az év első tüzelésekor, az ötödik csoport volt a kezeletlen kontroll. A petefészek működést a bélsár gesztagén metabolit tartalmának meghatározásával (ELISA) monitoroztuk (10 hónapon át), és összevetettük a tapasztalt klinikai eredményekkel.

A GnRH implantátum intenzív ivarzási tüneteket indukált az applikálás után, amely egy héten belül megszűnt és a petefészek-működés minden nőtényben legalább az év végéig blokkolódott. Mind a MAP, mind a PROL kezdetekben elnyomta az ivarzási tüneteket, de két esetben mellékhatásként progresszív szőrhullást tapasztaltunk, és az állatok nyáron ivarzni kezdtek. A hCG kezelés lerövidítette az ivarzást, a 6 hetes álvemhességi periódus után az állatok ivarzni kezdtek. Méhgyulladás egy esetben sem tapasztaltunk. Eredményeink szerint jelentős különbség látszik a szintetikus gesztagének és a Deslorelin implantátum hatékonysága és hatástartama közt, a GnRH analóg javára.

MÉLYHŰTÖTT ÁLLATKERT ÉS VESZÉLYEZTETETT FAJOK KLÓNOZÁSA: AZ ÚJ MÓDSZEREK FELHASZNÁLÁSA A FAJMEGŐRZÉSI PROGRAMOKBAN

Dinnyés András

Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóközpont, Mikromanipulációs és Genetikai
Újraprogramozási Csoport, Gödöllő
MTA/SzIE Alkalmazott Állatgenetikai és Biotechnológiai Kutatócsoport, Gödöllő
dinnyes@abc.hu

FROZEN ZOO AND CLONING OF ENDANGERED SPECIES: HOW TO INCORPORATE THE NOVEL METHODS INTO SPECIES PRESERVATION PROGRAMS

Endangered species preservation and management requires complex strategies. Biotechnological methods can be used to support the proper genetic management of wild and captive populations. The importance of various techniques differ, depending on various factors. The review presentation discuss in details methods for cryopreservation of gametes and embryos, and tissue samples which can be used in nuclear transfer programs. The potential use of nuclear transfer (cloning) is discussed including technological difficulties, risk factors and potential applications using interspecies cloning. Hungarian research on interspecies nuclear transfer at the Agricultural Biotechnology Center, Godollo is presented.

A veszélyeztetett fajok megmentése összetett feladat. Biotechnológiai módszerekkel a vadon élő és állatkerti állományok genetikai menedzselése hatékonyabbá tehető. Az egyes módszerek felhasználása, jelentősége számos tényezőtől függ. Az összefoglaló előadás részleteiben tárgyalja a gaméta, embrió és szövetminta mélyhűtés új módszereit. A szövetminták felhasználására a sejtmagátültetési klónozás révén nyílik lehetőség. A klónozás felhasználásának problémái, kockázatai és esetleges előnyei részletes bemutatásra kerülnek. A több faj felhasználásával végzett klónozás lehetőségei a gödöllői Mezőgazdasági Kutatóközpontban végzett magyar kutatásokon keresztül kerülnek bemutatásra.

Releváns publikációk

1. Dinnyes, A., X. C. Tian, J. Xu, B. Oback: Nuclear transfer for cloning animals. In: Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine (2. edition), WILEY-VCH Verlag, US and Germany 2005. Feb
2. Dinnyes A., S. Wei, Y. Li, P. Zheng, W. Ji: First report on cleavage development following cryopreservation of adult and prepubertal rhesus monkey (*Macaca mulatta*) oocytes. *Reprod. Fertil. Devel.*, 2004. 16:169.
3. Si W., P. Zheng, Y. Li, A. Dinnyes, W. Ji: Effect of Glycerol and Dimethyl Sulfoxide on Cryopreservation of Rhesus Monkey (*Macaca mulatta*) Sperm, *Am J Primatol*, 2004. 62:301-306.
4. Li Y., W. Si, X. Zhang, A. Dinnyes, W. Ji: Effect of amino acids on cryopreservation of cynomolgus monkey (*Macaca fascicularis*) sperm. *American Journal of Primatology*, 2003. 59:159-165.
5. Begin I, B. Bhatia, H. Baldassarre, A. Dinnyes, C.L. Keefer: Cryopreservation of goat oocytes and in-vivo derived embryos using the cryoloop (CLV) and solid surface vitrification (SSV) methods. *Theriogenology*, 2003. 59:1839-1850.
6. Dinnyes A., H. Bagis, W. Ji, K. Kikuchi, J-W. Lee, X. Li, T. Nagai, G.A. Presicce, T. Somfai, W. Si, X. Yang: Gene Banking in Rare Breeds and Species whose Gametes are Difficult to Cryopreserve (Ritka fajták és nehezen mélyhűthető gamétájú fajok génbanki megőrzése). *Allattenyesztes es Takarmanyozas (Animal Husbandry and Nutrition)*, 2003. Vol. 52. Supplement, pp. 82-90.
7. Wilmut I., N. Beaujean, P. A. De Sousa, A. Dinnyes, T. J. King, L. A. Paterson, D. N. Wells, L. E. Young: Somatic cell nuclear transfer. *Nature* 2002. 419:583-587.
8. Xue F, X. Tian, F. Du, C. Kubota, M. Taneja, A. Dinnyes, Y. Dai, H. Levine, L. V. Pereira, X. Yang: Aberrant patterns of X chromosome inactivation in bovine clones. *Nature Genetics* 2002 Vol. 31:216-220.
9. Dinnyes A., Tian Xc, Yang X.: Cloning of Rabbits. In *Principles of Cloning* (Eds:Cibelli, JB, Lanza, R., Campbell, K., West, MD), Academic Press, USA, 2002 Chapter 17. pp. 343-366.

10. Li X., L. Su, Y. Li, W. Ji, A. Dinnyes: Vitrification of Yunnan Yellow Cattle oocytes: work in progress. *Theriogenology*, 2002. 58:1253-1260
11. Denning C., S. Burl, A. Ainslie, J. Bracken, A. Dinnyes, J. Fletcher, T. King, M. Ritchie, W.R. Ritchie, M. Rollo, P. De Sousa, A. Travers, I. Wilmut, A. J. Clark: Deletion of the $\alpha(1,3)$ galactosyl transferase (GGTA1) gene and the prion protein (PrP) gene in sheep. *Nature Biotechnology* 2001. Vol. 19. pp. 559-562.
12. Dinnyés A., L. Liu, Y. Dai, M. Barber, X. Yang: Development of cloned embryos from adult rabbit fibroblasts: Effect of activation treatment and donor cell preparation. *Biol. Reprod.* 2001. Vol. 64, pp. 257-263.
13. Dinnyés A., Y. Dai, S. Jiang, X. Yang: High developmental rates of vitrified bovine oocytes following parthenogenetic activation, in vitro fertilization, and somatic cell nuclear transfer. *Biol. Reprod.* 2000. Vol. 63. pp. 513-518.
14. Urbányi B, I. Magyary, A. Horváth, B. Baranyai, A. Dinnyés: Studies on sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) sperm and ova cryopreservation. In: Tiersch TR and Mazik PM (editors), *Cryopreservation in Aquatic Species*. World Aquaculture Society, Baton Rouge, Louisiana, USA. 2000.
15. Dinnyés A., B. Urbányi, B. Baranyai, I. Magyary: Chilling sensitivity of carp (*Cyprinus carpio*) embryos at different developmental stages in the presence or absence of cryoprotectants: work in progress, *Theriogenology*, 1998. Vol. 50. No.1. pp. 1-13.
16. Dinnyés A., L. Mezösi: Oocyte rescue and banking from endangered mammals, XIIth Roundtable on Animal Biotechnology, Sárvár-Wien, 1996. floppYnfo-012, Kalliopé Bt, Budapest

SEMEN PRESERVATION IN NON-DOMESTIC SPECIES

Hermes, Robert – Hildebrandt, Thomas B. – Göritz, Frank – Blottner, Steffen

Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany
hermes@izw-berlin.de

Many non-domestic species suffer from a low rate of reproduction in captivity. The role of male reproductive function as a contributing factor to this problem is often underestimated. Ultrasonography to image accessory sex glands, testis and epididymis and semen collection provide basic information about the breeding status of males. Moreover semen quality in different species is associated with the social status of the male influencing functional reproductive parameters. Changes in social environment or territorial status positively affect male reproductive function over time.

Cooled semen and the cryopreservation protocols of spermatozoa are beneficial in the development of assisted reproduction and genetic banking programs. Semen collection methods in non-domestic species adapted to trigger the ejaculatory reflex range from penile or rectal stimulation, artificial vagina, to electroejaculation. Moreover, spermatozoa show a species specific sensitivity to cooling and freezing. In many exotic species less cryo-sensitive, conventional freezing methods using straws, pellets or cryo vials frozen over liquid nitrogen vapour have shown to be sufficient for cryopreservation. Cryopreservation of cryosensitive sperm, e.g. from the Asian elephant require the more sensitive directional freezing technology to produce consistent post thaw semen quality.

Future aspects of semen preservation in non-domestic species might include the elimination of bacterial and viral pathogens from the ejaculates to establish pathogen free populations or semen sexing in populations with male bias.

REPRODUCTIVE BIOLOGY AND ASSISTED REPRODUCTION IN CAPTIVE GIANT PANDA AND URSIDS

Göritz, Frank¹ – Hermes, Robert¹ – Blottner, Steffen¹ – Jewgenow, Katarina¹ – Ochs, Andreas² – Hildebrandt, Thomas B.¹

¹Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Germany

²Zoological Garden Berlin, Germany

goeritz@izw-berlin.de

Until captive and free-ranging populations of giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) are self-sustaining through natural breeding, reliance on assisted reproduction will continue to grow. Although artificial insemination is frequently used in captive pandas, little is known about the reproductive physiology in this species.

In a 7-year study, a pair of giant pandas were reproductively monitored and 7 artificial inseminations were performed from 1997 to 2004. After the arrival of the wild caught, 10 year old female (Yan Yan, SB #378) at the Berlin Zoo in 1995, non-invasive urinary hormone analysis was performed weekly. Estrogen and progesterone concentrations as well as the behavior of Yan Yan indicated no sexual activity during her first two years in Berlin. In February 1997, Yan Yan was evaluated by transrectal ultrasonography which revealed a normally developed genital tract but both ovaries appeared inactive. Estrus induction protocols were developed using PMSG with or without FSH priming. After treatment Yan Yan showed clear signs of estrus based on urinary estrogen and progesterone levels, but she did not exhibit sexual behavior. Yan Yan was anaesthetized and inseminated with frozen or fresh semen from Bao Bao (SB #208) 5 days after PMSG administration. The disposable AI catheter (2mm in external diameter, Cook Inc., Queensland 4113, Australia) was first inserted into the external cervical os by endoscopic visualization and then further guided by ultrasound into the uterine body. One ml of diluted semen was deposited in the uterus. The ovulation was induced by parenteral application of hCG. We achieved no full-term pregnancy in Yan Yan, however there was an indication of an embryonic absorption after the AI in 1998. In the last years Yan Yan have shown signs of a natural cycles. However, the typical signs of oestrus were very weak. To avoid negative effects of anaesthesia to ovulation Yan Yan was trained to tolerate intravaginal AI and transabdominal ultrasound without any chemical restraint in 2003/04. Although, ovulation was confirmed by increasing gestagen levels in the urine Yan Yan did not conceive pregnancy. We suspect a pituitary malfunction may be responsible for Yan Yan's acyclicity and the embryonic resorption.

Semen was collected from Bao Bao by electrostimulation after sonographic evaluation of the accessory sex glands. Between February and May ejaculates were obtained with 2.75 - 4.0 ml volume, 85-95% motility, and 63-85% membrane integrity. Semen was used immediately for AI in Yan Yan or cryopreserved. Post-thaw motility of the best ejaculate fractions was 35-40%. In September 1999, only an aspermatic ejaculate could be collected, indicating seasonal changes of spermatogenesis in the giant panda. More experimental research is needed but limited by the small number of individuals and the panda's endangered status. It is imperative that carefully designed studies be carried out first on a more numerous, non-endangered species to avoid inadvertent mistreatment of pandas.

To improve the knowledge on the reproductive physiology of bears, we extended our study and performed comparative ultrasonographical and endocrinological investigations¹ in various ursid species (15 *Ursus arctos arctos*, 3 *U. maritimus*, 2 *U. americanus*, 5 *Tremarctos ornatus*, 1 *Melursus ursinus*). The reproductive physiology of ursids is characterised by seasonality and a period of delayed implantation between mating in April/May and implantation in November. There is convincing evidence that progesterone is produced during

this period and that progesterone concentrations increase towards the end of diapause.^{2,4} Giant pandas are also believed to utilize delayed implantation.³ However, monitoring of embryonic and fetal development has not been described to date.

Present results suggest that the reproductive biology of the giant panda finds its closest counterpart in ursids in the spectacled bear. However, due to the endangered status and limited access to this species, the American black bear and the European brown bear are being considered as a model for development of assisted reproductive technologies in giant panda.

Literature cited

1. Göritz, F., Hildebrandt, T. B., Jewgenow, K., Wagner, N., Hermes, R., Strauss, G., Meyer, H. H. D. 1997. Transrectal ultrasonographic examination of the female urogenital tract in nonpregnant and pregnant captive bears (*Ursidae*). *J. Reprod. Fert. Suppl* **51**: 303-312.
2. Hellgren, E. C., Vaughan, M. R., Gwazdauskas, F. C., Williams, B., Scanlon, P. F., Kirkpatrick, R. L. 1990. Endocrine and electrophoretic profiles during pregnancy and nonpregnancy in captive female black bears. *Canadian Journal of Zoology* **69**: 892-898.
3. Hodges, J. K., Bevan, D. J., Celma, M., Hearn, J. P., Jones, D. M., Kleimann, D. J., Moore, H. D. M. 1984. Aspects of the reproductive endocrinology of the female giant panda with special reference to the detection of ovulation and pregnancy. *J. Zool., London*. **203**: 253-267.
4. Tsubota T. 1990. Studies on reproductive physiology of Hokkaido brown bear, *Ursus arctos yesoensis Japanes*. *Journal of Animal Reproduction* **36**: 1-10.

IMMOBILIZATION AND TRANSINTESTINAL SONOGRAPHY IN CASSOWARY

Göritz, Frank – Hermes, Robert – Hildebrandt, Thomas B.

Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany
goeritz@izw-berlin.de

Handling and clinical investigations of cassowary require safe methods of chemical restraint. Whereas, several immobilization protocols are described for other ratites, there are only few information in cassowary. In our study a safe immobilization was revealed with tiletamine in combination with zolazepam (5-8 mg/kg BW i.m.; Tiletan[®], Parke Davis). After induction time of 3 to 8 minutes the animals went down in lateral recumbence uneventful. The anaesthesia was maintained by application of isoflurane (1.5-3.0 Vol%, 4-5 l oxygen/min) via facial mask.

Transintestinal sonography (TIS) was applied for sexing. Furthermore, TIS facilitates an individual assessment of health status and reproductive activity of the gonads. Size and structure of testes, number and size of follicles and appearance of the oviduct, are valuable parameters to assess the breeding status.

Application of TIS in combination of effective and safe immobilization in cassowary offer new possibilities for a better breeding management.

REPRODUCTIVE ASSESSMENT IN THE KOMODO DRAGON

Hildebrandt, Thomas B. – Göritz, Frank

Institute for Zoo Biology and Wildlife Research, Berlin, Germany
hildebrand@izw-berlin.de

The Komodo dragon (*Varanus komodensis*) is the largest extant lizard species, living in lowland areas of several islands, including Komodo, Flores and Rintja, of the Lesser Sunda archipelago in Indonesia. It is one of the most endangered lizard species and the existing population of 3,000 to 5,000 individuals range over a total of only 1,000 sq km. Since the first description of the Komodo dragon by Ouwens in 1912, it has been a very popular exhibit species in zoos because of its size and fearsome reputation. However, captive breeding success outside of Indonesia has been limited to only few zoos.

Intraspecific aggression in this species makes it preferable to house animals individually or in breeding pairs. The protracted juvenile phase (approx. 5 to 10 yrs.) and absence of morphological and behavioural sexual dimorphism in subadults makes it necessary to develop early sexing techniques. Laparoscopy is the most widely used method of sex determination in varanid lizards because of the use of sex probes is not effective in this group of reptiles. Although relatively simple, laparoscopy is still invasive and presents some risk, especially problematic in such rare, high-profile species. Cloacal manipulation has not been effective for sex determination in subadults. Female Komodo dragons have musk glands that can be mistaken for hemipenes when everted. Radiographic identification of the hemipenis structure in subadults has not yet been successful. Although transcutaneous ultrasonography is effective for sex and sexual cycle determination in other reptile species, its use in Komodo dragons is limited because of the bony skin plates which interfere with beam penetration and resolution of the fine detail of the gonadal structures. Although effective for identifying females with large follicles, transcutaneous ultrasonography cannot positively identify males or reproductively-inactive females. Transintestinal sonography (TIS) has been used in avian species for imaging the internal urogenital organs. In the present paper, the practicality of the transintestinal and transcutaneous ultrasound for reproductive evaluations in Komodo dragons will be discussed.

MADARAK SZAPORODÁSBIOLOGIAI ZAVARAI

Molnár Viktor¹ – Sós Endre¹ – Beregi Attila²

¹Fővárosi Állat- és Növénykert

²Szent István Egyetem, Állatorvostudományi Kar, Belgyógyászati Tanszék és Klinika
vmolnar@zoobudapest.com

REPRODUCTIVE DISORDERS IN BIRDS

The authors summarise the possibilities for sex determination in avian patients from the clinical point of view, and the most important disorders in pet and zoo-kept birds. Tumors of the testis and less often of the ovarium can only be treated on surgical ways. Orchitis caused by *E. coli*, *Salmonella* spp. and/or *Pasteurella multocida* occurs primarily in non-hygienic enclosures because of the infection of the prolapsed phallus (ascending infection). Almost exclusively in budgerigars and canaries we can sometimes find cysts in the rudimentary right ovarium and salpinx. Egg retention is the most frequent diagnosed disorder involving genital organs of the bird, and even for the therapy we can choose various methods. Egg peritonitis is rarely seen in birds and usually caused by former inflammation of the infundibulum or salpinx.

Rövid anatómiai ismételés és a tojásképződés fiziológiás folyamatának felelevenítése után a szerzők az előadás során áttekintést nyújtanak az ivari dimorfizmust nem mutató madárfajok ivarhatározási lehetőségeiről, kiemelve a klinikus állatorvos szempontjából fontosabb, a rendelői szinten elvégezhető módszereket, elsősorban az **endoszkópiát**. Az ivarhatározásra – a tojó madarak bal oldali petefészkének teljes kifejlődése okán – a bal horpasztájéki vagy esetlegesen a bal oldali utolsó két borda közötti bemenetet kell választani. Fajtól függően 3-5 mm átmérőjű, lehetőség szerint 30-45°-os optikával a vizsgálat – már akár 200 g alatti madarakon is – könnyen kivitelezhető, és nem csupán az ivarról, de a szezonális ivari státuszról, esetleges patológiás képletek jelenlétéről, valamint az egyéb testüregi szervek állapotáról is hasznos információk szerezhetők be. A madarakat premedikáció nélkül, isofluran anaesthesiában vizsgáljuk, a keletkezett bőrsébet egyetlen varrattal egyesítjük.

Ivarszervi daganatos elváltozások madarak esetében szinte kizárólag a hím állatoknál jelentkeznek. A tumor többnyire unilateralisan fejlődik ki a herében, az ellenoldali here eközben atrophizálódik. A szövettani diagnózisok alapján Sertoli-sejtes tumor (seminoma), ritkábban Leydig-sejtes daganat, adenoma, fibrosarcoma vagy leiomyosarcoma fordul elő. Tojó hullámos papagájokban granulosa-sejtes daganatok és (adeno)carcinomák előfordulásával lehet számolni. Az irodalom ezeken kívül beszámol még teratoma, liposarcoma és fibrosarcoma kialakulásáról. Elsődlegesen az idősebb korosztály érintettségével járó megbetegedés során a hasterime opcionális megnagyobbodása és az ezáltal jelentkező másodlagos tünetek dominálnak. Az általános állapot romlása, anorexia, valódi hasmenés, esetenként dyspnoe, majd senyveség figyelhető meg. Egyes fajokban, pl. hullámos papagájokban jól megfigyelhető a hímek feminisatio-ja: a viaszhártya eredetileg kék(es) színárnyalata barnára vált. Az akár hatalmas méretűre is megnövő daganat a nervus ischiadicus összenyomatása miatt a hátulsó végtagok féloldali vagy kétoldali bénulását okozza, nem ritkán az az „első” tünet, hogy a madár leesik a rúdról, kapaszkodni nem tud. A diagnózis a tapintási lelet, majd (natív és) kontrasztanyagot tartalmazó röntgenvizsgálattal az esetek döntő többségében egyértelműen felállítható. Prognosztikai szempontból a mégoly ritka petefészék-daganat kedvezőbb megítélésű, míg a heredaganat kórjósolata kedvezőtlen. A sebészi eltávolítást nehezíti egyrészt a felismert daganatok gyakorta nagy mérete, valamint a vesék, mellékvesék és számos nagy érkeplet közeli helyeződése.

Különböző súlyosságú **gyulladásos folyamatok** (oophoritis, salpingitis, orchitis) többnyire septicaemia szövődményeként alakulnak ki. A heregyulladás hátterében *E. coli*, *Salmonella* spp. és *Pasteurella multocida* szerepét bizonyították, a baktériumok bemeleti kapuja többnyire az előesett és a környezetéből szennyeződött phallus, vagy a kloáka gyulladásos folyamatai terjednek ascendáló módon. A salpingitis hátterében szintén a kloáka fertőzéseit kell

feltételeznünk, esetenként a tojásvisszatartás során feldúsuló baktériumok okozzák az elváltozást. A madarak terpesztett lábakkal ülnek a rúdon vagy a földön, az esetlegesen termelt tojások héja mindenképpen károsodott, és termékenysége, keltethetősége nagy mértékben romlik. A terápia alapja a kloákatamponból végzett mikrobiológiai (és rezisztencia) vizsgálat, az antibiotikumok adagolására szinte kizárólagosan a parenteralis út javasolt.

A csökevényes jobb oldali petefészekben, illetve salpinx-ban elsősorban kanárik és hullámos papagájok esetében fordulnak elő **ciszták**. Méretük sokszor a kistrágsálóknál megfigyelhető döbbenetes szintet érhetik el, amely akár tojásrakási és bélsárürítési nehézségek vagy komolyabb dyspnoe kialakulásához is vezethet. Röntgenfelvételen csak az egynemű homogenitású hasüreg vagy annak csupán jobb oldalát érintő tejüvegszerű képlet tűnik fel, de gyakran kísérő jelenség a hosszú csöves csontokat érintő osteothesaurismosis. Ebben az esetben a pontos diagnózis felállításához ultrahangvizsgálat kivitelezése indokolt. A terápia sebészi vagy konzervatív (medroxy-progeszteron vagy hCG).

A **tojásvisszatartás** multifaktoriális megbetegedés. A korábban kiemelt szerepüként kezelt abszolút nagy méretű tojások – a tudomány mai állása szerint a ventralisan nyitott medence okán – önmagukban a legritkább esetben okoznak gondot. Gyakori háttértényezők a tojáshéj-rendellenességek, a petevezető korábbi traumás sérülése, fertőző betegségek, esetenként a korai tenyésztésbe vétel, illetve a legjelentősebbként a petevezető, illetve a kloáka atóniája jelölhető meg. Ez utóbbiak többnyire E-vitaminhiányra, szelénhiányra, a kalcium-poszfor anyagcsere zavarára, elhízásra és a magas életkorra vezethetőek vissza. Kifejezetten gyakran jelentkezik az elváltozás azon madaragnál (elsősorban nimfapapagájoknál), melyek – táplálási vagy magatartási rendellenességként – az év teljes szakában rakják tojásaikat. A tünettan hasonlít a daganatos megbetegedésekre, gyakori a bilateralis paresis, valamint szinte patognomikus jelentőségű a ritkán, de nagy mennyiségben ürített bélsár. A tojásvisszatartás hátterében és/vagy következményei között gyakran találkozunk salpingitis-szel, ami koncentrikusan szerveződő konkrementumok kialakulását eredményezi. A le nem rakott tojások körül komoly gyulladáshoz vezető folyamatok alakulnak ki, ami a gyógykezelés lehetőségét rontja, sok esetben lehetetlenné teszi. A hosszan tartó erőlködés a kloáka előeséséhez vezethet. Az evidens diagnózis ellenére a terápia megkezdése előtt minden esetben indokolt a röntgenfelvétel elkészítése, így készülve fel az esetleges sebészi beavatkozásra. Kettő, esetleg több tojásnak a hasüregben belüli elhelyezkedésekor nem vezet megnyugtató eredményre a tojásnak a kloákából való kimasszálása, ehelyett a mihamarabbi laparotomia javasolt. Kevésbé előrehaladott esetben, és jó(!) általános állapot mellett terápiás javaslatként kalciumglükonát és oxitocin adagolása szóba jöhet. A műtéti előkészítés, a fektetés során figyelemmel kell lenni az esetleges légzési depresszió elkerülésére, és a madarat félig ülő helyzetbe kell hozni. A tojásnak „császármetszésszerű” eltávolítása vagy a teljes salpingectomia közötti választás a mindenkori belszervi állapotok függvénye.

Kis méretű papagájoknál gyakran, de nagyobb ragadozómadaragnál, lúd- és tyúkféléknél, illetve elvileg bármely madárfajban előfordul a **tojás-peritonitis**. Az ovuláló tüsző nem az infundibulumba, hanem a testüregbe kerül. Feltételezések szerint a kórforma hátterében a hormonális egyensúly megbomlása áll, ami zavarja a petefészek és a petevezető összehangolt működését. Hasonló problémához vezet az is, ha lezajlott gyulladás miatt az infundibulum rostjai megrövidülnek, vagy a petevezető lumene beszűkül, esetleg teljesen elzáródik. Az esetek többségében kezdetben nem specifikusak a tünetek, csak a – majdnem törvényszerű – bakteriális felülfertőződés után alakul ki fibrines peritonitis, és ehhez kapcsolódóan ascites és dyspnoe. A kórisme felállításához – ellentétben az emlősökkel – az ultrahangvizsgálat önmagában nem mindig elegendő. Az abdominocentesis eredményeként nyert exsudatum makroszkópos elemzésével a sárgás alapfolyadékban fehérje pelyhecskék és a tojássárgájának kis elemi részei is felismerhetőek. Az érintett madarak antibiotikumos és suppuratív kezelése mellett a további ovulációk elkerülése érdekében progeszteron adagolása javasolt. A betegek nagy többsége azonban a kórforma előrehaladott stádiumában kerül felismerésre, és ilyenkor csak a sebészi beavatkozás (testüreg óvatos mechanikai megtisztítása, lavage, esetleg hysterectomia) kecsegtet némi eséllyel.

TOJÁSVIZSGÁLAT, MADÁREMBRIÓ-ELHALÁSI OKOK

Erdélyi Károly

Országos Állat-egészségügyi Intézet, Vadegészségügyi és Parazitológiai Osztály
erdelyi@oai.hu

A madarak szaporodása során, a tojásrakás és az inkubáció az egyik legkockázatosabb momentum. A madártojás igen „költéses” ivari produktum és a kotlás is jelentős energia-beruházást igényel a szülők részéről. Ennek megfelelően, az egyes fajok evolúciója során a költési és fészkelési stratégiák az elfoglalt niche-hez alkalmazkodva és az adott élőhelyen rendelkezésre álló források függvényében alakultak ki. Így, a különböző fajok (pl. fészeklakók, illetve fészekhagyók), költési időszakonként különböző számú tojást raknak változó számú fészekaljba, és az utódgondozásra fordított szülői befektetés mértéke is változik a költési stratégiával. A tojáskori mortalitás hatása egy populáció szaporodási sikerére illetve dinamikájára és nagyságára elsősorban a K-stratégista, azaz fészeklakó fajokat, illetve a kicsi és sérülékeny populációkat érinti érzékenyen. Rohamosan változó földi környezetünkben elsősorban a fokozottan specializált fajok azok, amelyek sorsa igen gyorsan megpecsételődhet, többek között a szaporodásukat korlátozó tényezők következtében.

Az embriókori mortalitás okainak ismerete elengedhetetlen a szükséges természetvédelmi, illetve tartás- és keltetéstechnológiai, állat-egészségügyi beavatkozások elvégzéséhez. A ki nem kelt tojások vizsgálata fontos része mind a tenyésztési programoknak, mind a fokozottan védett fajok költési siker monitoringjának. A terméketlen tojások arányának megállapításával és a predációs veszteség, illetve pl. a zavarás hatására kialakuló tojás-kihülés hatásának és jelentőségének felméréseivel egy-egy élőhelyen, illetve tenyésztésben olyan problémákra derülhet fény, amelyek legtöbbször aránylag hatékonyan orvosolhatók, illetve megfelelő intézkedések foganatosításával a későbbiekben megelőzhetők. A fertőző ágensek közül a baktériumok (pl. *Salmonella* spp., *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Mycoplasma* spp.), vírusok (pl. Paramyxovírusok) és gombák (pl. *Aspergillus* spp.) okozhatnak embrió elhalást. A fogságban szaporított állományok esetében ezek megfelelő higiénével, technológiával és tervszerű állatorvosi beavatkozásokkal kontroll alatt tarthatók, ám a vad populációkban erre nem nyílik lehetőségünk. A természetes állományokban előforduló fertőző eredetű embrió-mortalitásról igen keveset tudunk, de feltételezzük, hogy valamivel kisebb jelentőséggel bír. Bizonyos hajlamosító környezeti tényezők hatására viszont halmozódó jelleggel fordulhat elő, ekkor elsősorban ezek befolyásolásával orvosolhatjuk a problémát. A tojáskori veszteségeket okozó toxinok közül legismertebb a DDT, amely hatására a tojáshéjképződés szenved zavart, minek következtében az ilyen tojások igen törékenyekké, sérülékenyekké válnak, és a költő madár súlya alatt törnek össze. A DDT betiltása után ez a kórok is lekerült a gyanúsítottak listájáról, de pl. a vonuló fajok esetében a mai napig nem zárható ki a távoli földrészekben való kontamináció veszélye.

A megghiúsult költések, illetve a ki nem kelt tojások rendszeres, egységesített protokoll szerinti, helyszíni, illetve kórbonctani és kiegészítő laboratóriumi (mikrobiológiai, toxikológiai) vizsgálata tehát elengedhetetlen az in-situ természetvédelmi munkában, a tenyésztési programoknál pedig eleve be kell épülnie a technológiába. Az így megszerzhető információk hatékony segítséget jelentenek az állományok egészségügyi státusának meghatározásában is, ami a transzlokációs és visszatelepítési projektek esetében például legkevésbé sem elhanyagolható.

HUMÁN SZÜLÉSZETI ULTRAHANG-DIAGNOSZTIKA

Hegedűs Tibor

Semmelweiss Egyetem, Kútvölgyi Klinikai Tömb
hegtib@axelero.hu

HUMAN OBSTETRIC ULTRASOUND DIAGNOSTICS

In the last 20 years ultrasonography developed very quickly as a diagnostic method. In the practice there are two possibilities for pregnancy detection, we can use vaginal transducer (TVS) or we can perform abdominal ultrasonography (TAS). During a pregnancy without any complication we normally perform ultrasound examinations at a minimum of four times. The 3D ultrasonography is the most exact and complication-free method for the determination of the normal or pathological pregnancy.

Az ultrahang (UH) az ismert, úgynevezett képalkotó eljárások (CT, MRI) között a leggyakrabban használt, a legolcsóbb és legfőképpen a legkisebb szövődménnyel járó eljárás. Az UH a 80-as évek elejétől gyorsan fejlődött, és az egyszerű 2D gépeket egyre inkább felváltja a számítógépekkel kombinált 3D és 4D.

A szülészetben és nőgyógyászatban az UH, (ami a Doppler-elv alapján működik), alkalmazása igen széleskörű. Mind a nőgyógyászatban, mind a szülészetben a szubjektív manuális vizsgálatot az UH centiméteres pontossággal regisztrálja, ami a magzat fejlődésének, illetve a folyamatok változásának nyomon követésében nélkülözhetetlen.

A vizsgálat hasi, illetve hüvelyi úton történhet. A hasi transducer 8-10 MHz-es fejjel történik, és a hasfalon keresztül regisztrálja a belső női nemi szerveket, illetve a körülötte lévő szerveket, kóros képleteket. A hüvelyi fej 5 MHz tartományban dolgozik, és a kisebb távolság miatt pontosabb képeket közvetít az adott területről.

Döntő, hogy az esetleges invazív beavatkozásokat (magzatvízvétel, ciszta-punkció) UH segítségével szinte szövődménymentesen lehet elvégezni, és így az ebből eredő vetélések száma jelentősen csökkenthető.

A terhesgondozás protokollja pontos dátumokat ír elő a különböző terhességi időszakokban az UH vizsgálatokra.

Az első vizsgálat a terhesség észlelését követő 6-8. héten, hüvelyi fejjel történik, a vizsgálat célja a terhesség méhben történő elhelyezkedésének, a magzatok számának stb. megállapítása.

A következő időpont a 12. hét, amikor hasi UH-val a tarkóredő vastagságát mérjük meg. 3 mm feletti mérési eredmény már különböző betegségek (Down-kór, kromoszóma-rendelleneségek) lehetőségét veti fel.

A 16. héten vett vérből elvégzett AFP-vizsgálat után az UH a gerinccsatorna rendelleneségeit (spina bifida) szűri ki.

A 30-31. héten kerül sor a következő vizsgálatra, ami az esetleges súly- és egyéb fejlődési elmaradásokat (dysmaturitas) szűri ki.

Végül a 37-38. héten végzünk egy utolsó helyzetrögzítő UH vizsgálatot.

Az előírt séma csak a szövődménymentes esetekre vonatkozik. Bármely panasz esetén (vérzés, görcs stb.) az UH-vizsgálatok számát a klinikai kép határozza meg.

Túlhordás, illetve szívhang probléma esetén UH-val keringésvizsgálatot végzünk. Ez az úgynevezett flowmetria. A köldökerek, illetve az aorta keringését nézik leggyakrabban, és ha ebben kóros elváltozást észlelnek a szülést terminálják.

A háromdimenziós UH az egyik legdinamikusabban fejlődő képalkotó eljárás a medicinában. A 3D UH a vizsgált objektum térbeli képét 1-2 percen belül elkészíti,

lehetőséget teremt annak különböző pontjainak tetszőleges vizsgálatára, a lényeges elemek kiválasztására és a teljes térfogatának lehető legtökéletesebb ábrázolására. A vizsgálati adatok elektronikus tárolásával és számítógépes programon keresztül annak rekonstruálhatóságával megteremti a lehetőséget a beteget legjobban kímélő, ugyanakkor a legpontosabb eredmény értékelésére. A páciensnek elegendő csak az akvizíciós időt a vizsgálatra fordítani, mely csupán néhány perc. Az adatok értékelésére később is van lehetőség.

Vitatott vagy a nem egyértelmű leletet konzultációra lehet küldeni.

Más vizsgáló eljárásokkal szemben, az UH semmiféle sugárexpozíciónak nem teszi ki a beteget, ezért bármikor és akárhányszor ismételhető.

HUMÁN NEONATOLÓGIA, INTENZÍV PERINATÁLIS ELLÁTÁS

Kóhalmi Barbara – Jeager Judit – Király Balázs

Semmelweis Egyetem I. sz. Szülészeti- és Nőgyógyászati Klinika, I. sz. Gyermekklinika
barbara.k@mailbox.hu

HUMAN NEONATOLOGY, INTENSIVE PERINATAL CARE

In the lecture the author introduces the improvement and results of the human neonatology and intensive perinatal care. The neonatology is one of the most dynamically developing part of the human medical science. The modern respiratory equipments, the latest medicines and pills all contribute to give an 800-1000 gram premature a good chance to recover and live a healthy life. To keep a baby of 500 grams of weight alive does not seem a miracle anymore either. In the last 20-30 years the neonatal mortality rate has been reduced of 1-2% to a figure of 0.007. The lecture also focuses on the possible parallel elements and similarities between the human perinatology and the veterinary practice- of course from the viewpoint of a neonatologist. The author also deals with the basic ethical polemic issues of neonatal care.

A szerző előadásában a humán neonatológia és intenzív perinatális ellátás fejlődését, eredményeit ismerteti.

A neonatológia az egyik legdinamikusabban fejlődő szegmense az orvostudománynak. A modern lélegeztető gépek, a kiváló gyógyszerek, készítmények segítségével ma egy 800-1000 g-os koraszülöttnak komoly esélyei vannak a teljes értékű életre, sőt 500 g-os újszülött életben tartása sem tűnik már csodának. Az elmúlt 20-30 évben a csecsemőhalandóság, a perinatális mortalitás 1-2%-ról 7‰-re csökkent. Ennek a fejlődésnek a legfontosabb lépései, technikai kelléktára kerülnek bemutatásra. Az előadásban kiemelést kapnak a humán perinatológia és az állatorvosi gyakorlat közötti lehetséges párhuzamok – természetesen a neonatológus szemszögéből. A szerző kitér a koraszülött-ellátás alapvető etikai kérdéseire is.

ELÁRVULT EMLŐSÁLLATOK MESTERSÉGES FELNEVELÉSE

Andréka György

Xantus János Állatkert Kht.
xantus@axelero.hu

HAND RAISING OF ORPHAN MAMMALS

The writer thinks, it is certain that people working in the zoo, all love animals. There is a close contact between the zookeepers and the animals. Lots of zookeepers dream about rearing exotic animals. But the question comes into our mind : May we settle down to rear orphan youngs? What will happen to these animals later? Will they be able to fit themselves to their own kind?

Showing the tame young animals to the audience really can be very attractive and also can be good way of incoming. Who can tell where the limit is between the zoo and the circus.

The lecturer will mention not only the problems of animal health protection, but the moral questions of rearing animals under artificial conditions examining, the questions from the point of view of animals, zookeepers, the management of the zoo, the veterinarians and the visitors.

Bár többen kételkednek ebben, de a szerző meggyőződése, hogy állatkertekben állatokat szerető, azokhoz értő szakemberek dolgoznak. Köztük és a rájuk bízott állatok között, akikért nap mint nap dolgoznak, szoros baráti kapcsolat alakul ki. Az állatkerti kollégákat ez az érzelmi kötődés vezeti, hogy minden reggel szívesen lépjenek be munkahelyükre.

Egy egzotikus emlősfaj kölykének felnevelése minden állatkerti dolgozó vágyai között szerepelt. Vannak, akik az évek során kinőtték ezt az álmodot, vannak, akik végig hisznek abban, hogy a következő kölyök majd kevésbé bontja le a lakást, esetleg nem szakítja ki az anyós kedvenc nadrágját. A kérdés azonban mindenkiben felmerül. Szabad-e egyáltalán belefogni egy elárvult kölyök mesterséges felnevelésébe? Mi lesz az állat sorsa később?

Valóban jól teszünk, vagy csupán önző módon saját kedvünkre vágunk bele a munkába, és nevelünk torz viselkedésű, fajtársaik közé beilleszkedni nem tudó, embereket szórakoztató, bohóc lényeket?

Képesek-e ezek az egyedek később beilleszkedni fajtársaik közé?

Elegendő-e a fajvédelem szempontjából csupán a genetikai készlet megóvása, miközben a természetes magatartásformák elvesznek?

A szelíd kölyökállatok bemutatása mindig nagy vonzerőt jelent, rengeteg látogató kíváncsi rájuk. A látogatószám emelkedése komoly bevételtöbbletet jelent. Hol a határ az állatkerti és a cirkusz szakma között?

Az előadás, a felnevelés során felmerülő állategészségügyi problémák részletezése mellett, kitér a mesterséges felnevelés morális kérdéseire az állat, az ápoló, az állatkert vezetősége, a szakma és a látogatók oldaláról is.

ÁLLATKERTI TENYÉSZPROGRAMOK

Molnár Zoltán

Fővárosi Állat- és Növénykert
molnar@zoobudapest.com

EX-SITU BREEDING PROGRAMMES IN ZOOS

The missions of modern zoos are the education, the conservation, the research and the recreation. More than 600 million people visit zoos all over the world every year. Coordinating the ex-situ breeding programs IUDZG is contribute to protect and resettle endangered species. The flagship species are able to mobilize the conscience of hundred-millions for protection of natural habitats. This gives us the hope that we will able to repatriate these animals into their natural area and protect them in in-situ circumstances in the future.

Az állatkertek tradicionális feladatai – oktatás, természetvédelem, kutatás, kikapcsolódás – illetve azok egymáshoz viszonyított súlya, részaránya folyamatosan változik.

A XX. század elején ezen intézmények elsősorban a látogatók szórakoztatására menaszériaserű kifutókban mutattak be vadállatokat, „bestiákat”. Ebben az időben mind a természetet, mind a természeti erőforrásokat kimeríthetetlennek tekintették, és számos állatfaj vadon befogott példányait hurcolták állatkertekbe, ahol szerencsés esetben évekig szolgálták az emberek kíváncsiságának kielégítését. Kevésbé sikeres helyzetben az egyed hamarosan elpusztult, és újabb példány beszerzésére nyílt igény. Az állatkertek ekkortájt – bár nem számottevő mértékben – a vadászat és az ember természetátalakító tevékenysége mellett maguk is hozzájárultak egyes fajok szabad természetben való megritkulásához.

Mára ez jelentős mértékben megváltozott. A mai, modern állatkertek létjogosultsága oktatás és természetvédelmi szerepvállalás nélkül erősen megkérdőjelezhető lenne. A világ állatkertjei évente több mint 600 millió látogatót fogadnak, és jelentős a médianyilvánosságuk. Környezettudatos gondolkodásra nevelésre és természetvédelmi információk átadására így kitűnően alkalmasak, s ezt ma már tudatosan fel is vállalják.

Az állatkertek másik feladata, mely az utóbbi években egyre hangsúlyosabb pozíciót tölt be életükben: a természetvédelem. Az állatkertek működésük során segíthetik a vadon élő állat- és növényfajok védelmét in situ és ex situ módszerekkel. A hagyományos modellek és elképzelések szerint az ex situ módszerek kapcsolódnak inkább az állatkertekhez, de egyre gyakoribb, hogy az itt megtermelt szellemi és anyagi tőke direkt módon vándorol vissza a terepen folyó kutatások, védelmi intézkedések támogatására. A legnagyobb lehetőségekkel rendelkező kertek esőerdő-részleteket telepítenek, terepi fajvédelmi programokat szponzorálnak. Jelentősnek mondható az állatkertek által szervezett kampányok hatása mind ismeretterjesztés, mind adománygyűjtés szempontjából is. Az eddig lefutott Dzsungelhús, Atlanti Esőerdők Védelme és Tigris kampányok egyre növekvő bevétele mind a terepi munkát támogatja.

Fontosak az állatkertekben megszerzett szakmai tapasztalatok is, hiszen olyan ismeretek birtokába kerülnek a szakemberek, melyek máshol, máshogyan nem szerezhető meg. Az emberiség számának folyamatos és gyors ütemű gyarapodásával egyre csökkennek az érintetlen természeti területek. Bár ezt felismerve védett övezeteket, nemzeti parkokat hozunk létre, ökológiai folyosókat alakítunk ki vagy őrzünk meg, gyakran be kell avatkoznunk, kezelési terveket kell megvalósítanunk a további fennmaradás érdekében. Ezek során válnak hasznossá az ex situ körülmények között megszerzett tapasztalatok, hiszen ugyanúgy a kispopuláció menedzsmint eszközrendszereit kell használnunk ezen feldarabolódott, fragmentálódott „kvázi zoo”-k esetében, mint az állatkerti tenyésztési programok során. Mindezek jelentős múltra tekintenek vissza.

1980-ban jelent meg az IUCN, a UNEP és a WWF kiadásában a „Természetvédelmi Világstratégia”. E kiadvány és más ilyen jellegű egyezmények, mint a „Biodiverzitás Egyezmény” vagy a „Vadon élő állat- és növényfajok nemzetközi kereskedelméről szóló egyezmény” mind a vadon élő fajok, hangsúlyosan a kipusztulással veszélyeztetettek és a természetes ökoszisztémák védelmét, az ezekhez kapcsolódó tudományos ismeretterjesztést és a köz- és politikai élet figyelmének felkeltését tűzték ki célul.

Az Állatkerti Világszövetség (IUDZG) és az IUCN/SSC Fogságbantenyésztési Munkacsoportjának (CBSG) kezdeményezésével megszületett „Az Állatkertek Természetmegőrzési Világstratégiája” az állatkertek ilyen irányú céljaival foglalkozik, hangsúlyosan az oktatás-nevelés és a fogságban tenyésztés problematikájával. Az állatkertek legfeljebb 1000-2000 állatfaj hosszabb távú fennmaradását képesek biztosítani a hagyományos módszerekkel, de figyelemfelkeltő szerepük ezen jóval túlmutat. Az ex situ körülmények között tartott fajok ugyanakkor élőhelyük „zászlósfajaivá” válnak, a közönség rajtuk keresztül ismeri meg élőhelyüket és az azt veszélyeztető tényezőket.

Az IUDZG különböző szervezetein keresztül minden kontinensen folynak fajvédelmi programok. Az adatok nyilvántartására a Nemzetközi Faj Információs Rendszer (ISIS), illetve az Állat Nyilvántartó Rendszer (ARKS) szolgálnak.

Az európai állatkertek fajvédelmi szempontból két kiemelt kategóriában foglalkoznak az állatokkal: a Veszélyeztetett Fajok Európai Programja (EEP) és az Európai Törzskönyv (ESB) hivatott a szervezett tenyészprogramokat koordinálni. Észak-Amerikában ezekhez hasonló programok működnek. Mindkét csoport esetében nemzetközi törzskönyv került felállításra, mely biztosítja a genetikai változatosság fennmaradását.

2005. márciusában EEP-s fajok

<i>Partula</i> spp.	<i>Grus leucogeranus</i>
<i>Polposipus herculeanus</i>	<i>Grus japonensis</i>
<i>Testudo kleinmanni</i>	<i>Grus vipio</i>
<i>Alligator sinensis</i>	<i>Columba mayeri</i>
<i>Heloderma suspectum</i>	<i>Zenaida graysoni</i>
<i>Heloderma horridum</i>	<i>Cacatua haematuropygia</i>
<i>Varanus komodoensis</i>	<i>Cacatua moluccensis</i>
<i>Epicratus angulifer</i>	<i>Cacatua sulphurea citrinocristata</i>
<i>Epicratus subflavus</i>	<i>Probosciger aterrimus</i>
<i>Spheniscus demersus</i>	<i>Amazona brasiliensis</i>
<i>Spheniscus humboldti</i>	<i>Amazona [autumnalis] lilacina</i>
<i>Pelecanus crispus</i>	<i>Amazona rhodocorytha</i>
<i>Phalacrocorax neglectus</i>	<i>Amazona viridigenalis</i>
<i>Ciconia boyciana</i>	<i>Anodorhynchus hyacinthinus</i>
<i>Geronticus eremita</i>	<i>Ara ambigua</i>
<i>Anas melleri</i>	<i>Ara glaucogularis</i>
<i>Vultur gryphus</i>	<i>Ara rubrogenys</i>
<i>Aegypius monachus</i>	<i>Aceros corrugatus</i>
<i>Gypaetus barbatus barbatus</i>	<i>Aceros leucocephalus</i>
<i>Gyps bengalensis</i>	<i>Buceros bicornis</i>
<i>Haliaeetus albicilla</i>	<i>Leucopsar rothschildi</i>
<i>Crax blumenbachii</i>	<i>Dasyuroides burnei</i>
<i>Afropavo congensis</i>	<i>Bettongia penicillata</i>
<i>Lophura edwardsi</i>	<i>Dendrolagus</i> spp.
<i>Polyplectron emphanum</i>	<i>Eulemur macaco macaco</i>

Eulemur macaco flavifrons
Eulemur mongoz
Hapalemur griseus alaotrensis
Varecia variegata
Nycticebus pygmaeus
Loris tardigradus nordicus
Callicebus cupreus
Saimiri boliviensis
Ateles belzebuth hybridus
Ateles fusciceps robustus
Ateles paniscus
Lagothrix lagothricha
Cebus xantosternos
Pithecia pithecia pithecia
Callimico goeldii
Callithrix geoffroyi
Leontopithecus chrysomelas
Leontopithecus rosalia
Saguinus bicolor bicolor
Saguinus imperator
Saguinus oedipus oedipus
Allenopithecus nigroviridis
Cercocebus atys lunulatus
Cercopithecus diana
Cercopithecus l'hoesti
Cercopithecus hamlyni
Macaca nigra
Macaca silenus
Mandrillus leucophaeus
Theropithecus gelada
Pygathrix nemaus
Colobus polykomos
Hylobatus concolor leucogenys
Hylobatus concolor gabriellae
Hylobatus concolor siki
Hylobatus moloch
Hylobatus pileatus
Pongo pygmaeus
Pan paniscus
Pan troglodytes verus
Gorilla gorilla gorilla
Pteropus rodricensis
Myrmecophaga tridactyla
Canus lupus signatus
Chrysocyon brachyurus
Lycaon pictus
Speothos venaticus

Melursus ursinus
Tremarctos ornatus
Lutra lutra
Pteronura brasiliensis
Gulo gulo
Mustela lutreola
Ailurus fulgens fulgens
Cryptoprocta ferox
Acinonyx jubatus
Catopuma temminckii
Felis nigripes
Leopardus wiedii
Oncifelis geoffroyi
Prionailurus viverrinus
Felis margarita
Neofelis nebulosa
Panthera leo persica
Panthera pardus kotiya
Panthera pardus orientalis
Panthera pardus saxicolor
Panthera pardus japonensis
Panthera tigris altaica
Panthera tigris sumatrae
Uncia uncia
Tursiops truncatus
Trichechus manatus
Elephas maximus
Loxodonta africana
Equus africanus somalicus
Equus ferus przewalskii
Equus grevyi
Equus hemionus onager
Equus hemionus kulan
Equus zebra hartmannae
Ceratotherium simum
Diceros bicornis
Rhinoceros unicornis
Tapirus indicus
Hexaprotodon liberiensis
Babyrousa babyrussa
Lama vicugna
Tragulus javanicus
Cervus nippon pseudaxis
Dama mesopotamica
Pudu pudu
Bison bonasus
Bos gaurus

Bos javanicus
Bubalus [=Anoa] depressicornis
Giraffa camelopardalis reticulata
Giraffa camelopardalis tippelskirchi
Giraffa camelopardalis rothschildi
Giraffa camelopardalis peralta
Giraffa camelopardalis antiquorum
Giraffa camelopardalis angolensis
Giraffa camelopardalis giraffa
Giraffa camelopardalis spp.

Giraffa camelopardalis Hybrid
Okapia johnstoni
Tragelaphus euryceros isaacii
Kobus megaceros
Oryx dammah
Oryx leucoryx
Addax nasomaculatus
Gazella dama
Gazella dorcas neglecta
Ovibos moschatus

2005. márciusában ESB-s fajok

Geochelone radiata
Heosemys spinosa
Malacochersus tornieri
Orlitia borneensis
Heosemys grandis
Cuora amboinensis
Siebenrockiella crassicollis
Cyclura cornuta
Varanus prasinus
Sanzinia madagascariensis
Cassuarius casuarius
Aptenodytes patagonica
Pygoscelis papua
Eudyptes chrysocome
Ciconia nigra
Ephippiorhynchus senegalensis
Ciconia abdimii
Leptoptilos crumeniferus
Mycteria ibis
Scopus umbretta
Sarcorhamphus papa
Gyps fulvus
Neophron percnopterus
Haliaeetus pelagicus
Tragopan caboti
Tragopan blythii
Lophura e. erythroptalma
Polyplectron inopinatum
Polyplectron malacense
Argusianus argus
Anthropoides paradisea
Grus monacha
Balearica pavonina
Eurypyga helias
Gallinula luzonica

Gallinula criniger
Otidiphaps nobilis aruensis
Goura spp.
Eos cyanogenia
Eos histrio
Lorius domicellus
Lorius garrulus flavopalliatum
Trichoglossus johnstoniae
Nestor notabilis
Cacatua ophthalmica
Calyptorhynchus spp.
Amazona pretrei
Amazona xanthops
Amazona versicolor
Ara militaris mexicana
Aratinga guarouba
Rhynchopsitta pachyrhyncha
Tauraco fischeri
Musophaga violacea
Upupa epops
Ramphastos toco
Tockus deckeni
Aceros undulatus
Aceros plicatus
Anthracoceros spp.
Buceros rhinoceros
Bucorvus spp.
Penelopides spp.
Macropus spp. (kiv. *M. rufogriseus*)
Cheirogaleus spp.
Phaner furcifer
Eulemur fulvus rufus
Eulemur coronatus
Eulemur rubriventer
Haplemur spp.

Lemur catta
Aotus spp.
Alouatta caraya
Callithrix a. argentata
Callithrix a. melanura
Cercocebus torquatus torquatus
Cercocebus atys atys
Saguinus labiatus
Saguinus midas
Cercocebus aterrimus
Cercocebus albigena
Cercocebus galeritus
Cercopithecus neglectus
Mandrillus sphinx
Trachypithecus auratus auratus
Semnopithecus entellus
Hylobates lar
Hylobates syndactylus
Pteropus livingstonii
Choloepus didactylus
Choloepus hoffmanni
Tamandua tetradactyla
Agouti taczanowskii
Orycteropus afer
Fennecus zerda
Crocuta crocuta
Hyaena hyaena
Parahyaena brunnea
Helarctos malayanus
Ursus arctos
Ursus (Selenarctos) thibetanus
Arctictis binturong

Potos flavus
Leopardus tigrinus
Otocolobus manul
Felis rubiginosus
Lynx lynx
Panthera onca
Arctocephalus australis
Otaria byronia
Zalophus californianus
Halichoerus grypus
Tapirus terrestris
Phacochoerus africanus
Potamochoerus porcus pictus
Cervus elaphus bactrianus
Rangifer tarandus fennicus
Syncerus caffer nanus
Damaliscus dorcas dorcas
Damaliscus dorcas phillipsi
Madoqua kirki
Tragelaphus angassii
Tragelaphus imberbis
Tragelaphus spekei gratus
Tragelaphus strepsiceros
Cephalophus monticola
Hippotragus equinus
Hippotragus niger niger
Capra cylindricornis
Capra falconeri heptneri
Capra ibex caucasica
Capra nubiana
Pseudois nayaur

Az ex situ fajmegőrzés le kell, hogy küzdje a kis- és alpopulációkból adódó beltenyésztéses leromlás és a természetes környezettől való elszakadás problémáját. Az élőhely-rekonstrukció után genetikai és állat-egészségügyi ellenőrzés mellett történhet csak visszatelepítés, hiszen az állatkerti állatok maguk is vihetnek a szabadba súlyos és végzetes betegségeket, de lehetnek immunológiai szempontból akár banális fakultatív kórokozókra nézve is védtelenek. Mindezek ellenére a hawaii lúd, a kaliforniai kondor, az európai bölény, az arab bejza, a Przewalski ló és társaik példája azt mutatja, hogy a nemzetközi összefogással fémjelzett törekvések célt érhetnek.

AZ ÁLLATORVOS SZEREPE AZ ÁLLATKERTI TENYÉSZPROGRAMOKBAN

Gósi Gábor

Szegedi Vadaspark
gogab@freemail.hu

GYÍKOK SZAPORODÁSBIOLOGIAI ZAVARAI

Sátorhelyi Tamás

Ófalu Állatorvosi Rendelő
satorhelyi@axelero.hu

Az elmúlt években a kisállatrendelőkben rohamosan megnőtt a kedvtelésből tartott hullőpáciensek száma. Az állattartók gyakran kedvencük terráriumi tartásának legelemibb feltételeivel sincsenek tisztában. A terráriumban tartott gyíkok szaporodásbiológiai zavarainak döntő többsége tartási-takarmányozási eredetű. Az állatok ilyen igényeinek ismerete a sikeres tartás és szaporítás előfeltétele. A megfelelő tartási körülmények biztosítása állatkerti körülmények között általában nem jelent problémát. Magántartók esetében ezek megvalósítása sokszor anyagi és tárgyi akadályokba ütközik.

Az állat **fajának**, **nemének** ismerete nagyon fontos. A tulajdonosok gyakran nem ismerik kedvencük fajtát, és a nemével többnyire nincsenek tisztában. Ezért szükséges az adott faj biztos felismerése, és a faj szaporodásbiológiai körülményeinek ismerete. Sajnos a szakirodalom sok esetben hiányos, ilyenkor hasonló környezetben élő rokon fajok alapján vonhatunk le sokszor igen kétséges következtetéseket.

A gyíkok **nemének megállapítása** a többi hullőcsoporthoz képest nehéz. Támpontot adhat a *hemipenis*ek kirajzolódása a farok tövén, illetve az egyes fajok esetében látható *femoralis* és *analis pórusok* mérete. A *hemipenis*ek üregének kígyóknál megszokott szondázása az esetek többségében nehéz és bizonytalan eredményű. A harmadlagos nemi jellegek egyedenként nagyon változóak, és függenek a környezeti hatásoktól és az állat rangsorban elfoglalt helyétől is.

A **hím állatokon** ritkán előfordul a *hemipenis* előesése. Oka többnyire *hypocalcaemia* miatti izomgyengeség. Az állat a kiöltött párzószervert képtelen visszahúzni. A gyógykezelési kísérletek leggyakrabban a képlet amputációjával végződnek.

Hím kaméleonokban gyakori a *hemipenis* üregében felhalmozódó a szerv nyálkahártyájának levedlett hámszövetéből és fibrines váladékból álló dugó kialakulása. Ez az állatok párzási képtelenségét okozza. A felhalmozódott anyag óvatos eltávolításával a probléma könnyen orvosolható.

Nőstény gyíkok gyakori problémája a tojásrakási képtelenség (Postovulatory Egg Stasis). Oka leggyakrabban a megfelelő tojásrakó hely hiánya, illetve a vér alacsony kalciumtartalma. Az egyéb okok, mint a petevezető gyulladás vagy torziója csak kivételesen ritka esetben jelentkeznek. A tojások többnyire kitapinthatók. Röntgenfelvétellel a tojások jelenléte többnyire igazolható, számuk azonban nem állapítható meg. A tojások a lerakásuk optimális időpontja után néhány nappal vagy héttel a *salpinx* falához tapadnak. Ilyenkor konzervatív úton történő gyógykezelésük megnehezül. Oxytocin adagolásával az esetek egy részében a probléma orvosolható. Amennyiben *hypocalcaemia* is van, a vér kalciumtartalmát a kezelés előtt rendezni kell. Ha a tojások két-három kezelés után sem távoztak, ezek eltávolítását műtéttel kell elvégezzük. Az időben végzett műtét prognózisa mind a gyógyulásra, mind a későbbi szaporodásra nézve kedvező.

Nagyobb testű gyíkokban, leggyakrabban zöld leguánban gyakori az ovuláció elmaradása és a petefészkek tüszők elfajulása (Preovulatory Ova Stasis). A bántalom oka az ovulációt kiváltó környezeti inger elmaradása. A petefészkek tüszők többnyire kitapinthatók, és kis gyakorlattal a tojásoktól elkülöníthetők. Az ilyen állatok gyakran *hypercalcaemiák*, sokszor az egyidejűleg fennálló *nutritív osteodystrophia* mellett. A gyógykezelés a petefészkek műtéti eltávolításával lehetséges. Fontos a két bántalom elkülönítése. Ez általában tapintással elkülöníthető, a diagnózist ultrahang-vizsgálattal tehetjük biztossá.

KÍGYÓK ÉS TEKNŐSÖK REPRODUKCIÓS ZAVARAI

Gál János

Szent István Egyetem, Állatorvos-tudományi Kar,
Kórbonctani és Igazságügyi Állatorvostani Tanszék
Nyugat-Magyarországi Egyetem, Erdőmérnöki Kar, Vadgazdálkodási Intézet, Sopron
gal13@freemail.hu

DISTURBANCES OF REPRODUCTION IN SNAKES AND TURTLES

There are several, morphological and functional differences in the genital organs of female and male snakes and turtles. In males the most often seen clinical picture is the mechanical trauma, or even prolapse of the male genital organ. In case of prolapse the phallus becomes usually strangulated, because of that first circulatory disturbances and later necrosis occur. The infertility often develops in male reptiles because of mal-management or inadequate conditions during hibernation.

The often diagnosed pathological findings of the genital tract in female snakes and turtles are the diseases of the ovaries. The most important change is the pre-ovulatory degeneration of the follicles. In these cases the content of the follicles becomes reddish-brown, watery, and turbid. The etiology of these changes includes bacterial infections on the first place. The wall of the degenerated follicles easily ruptures especially from any trauma causing inflammation in the serous body-cavities.

The expression of post-ovulatory degeneration of the follicles refers to a pathological condition when the exfoliated follicles or the eggs developing in the oviduct are destroyed because of infectious or non-infectious causes. The pathological changes destructing the growing eggs might penetrate the wall of the oviduct resulting in serous-fibrinous oophoritis.

The next group of the reproductional disturbances is the entrapment of eggs. Egg retention has numerous causes in some cases related to pathological changes of the genital organs. The other type of egg retention in turtles is explained with absolute or relative large eggs. Mal-management, f.e. inadequate nest might also causes problems in ovipositing.

Among the disturbances of the reproduction of these reptiles we also have to mention the disorders of the embryogenesis. The eggs can be impaired at any time during incubation under insufficient conditions. Inappropriate hatching temperature and/or humidity, and also moving the laid eggs can cause embryo mortality in early or late phase of the embryogenesis.

Losses around hatching or the inability of the fetus to hatch in snakes are explained with troubles during incubation or developmental anomalies of the embryos. Any time during incubation myiasis might also appear.

A kígyók és a teknősök nemi szerveinek morfológiai és funkcionális eltéréseket ismerünk mind a hím, mind a nőstény állatoknál. A szaporodási zavarok között célszerű tárgyalni az embriogenesis zavarait is.

A hím teknősök és a kígyók szaporodási szerveinek megbetegedései között a leggyakoribb kórkép a párzó szerv mechanikai sérülése, súlyos esetben előesése. A kígyók hemipéniszének előesése esetén az lefűződik, vérkeringési zavar, majd elhalás alakul ki. A hím hüvelyében a meddőség gyakran a hibás tartás és a nem megfelelő körülmények között végzett teleltetés miatt alakul ki.

A nőstény kígyók és teknősök nemi szerveinek morfológiai elváltozásai közül a petefészek megbetegedései kerülnek a leggyakrabban megállapításra. Az egyik legfontosabb kórkép a petetüszők praeovulatiós degenerációja. A petetüsző tartalma hígan folyó, olykor zavaros, barnás-vörös színű lesz. A kórkép okai között általában bakteriális fertőzések állnak első helyen. Az elfajult petetüszők fala könnyen megrepedhet mechanikai behatásokra, így következményként testüregei savóshártya-gyulladás alakulhat ki.

A postovulatiós petetüsző-elfajulás a leváló petetüszők és később a petevezetőben fejlődő tojások fertőző vagy nem fertőző eredetű okokra visszavezethető elfajulást jelenti. Az ilyen elfajult tojásokról a petevezető falára is áttérjedhet a kórfolyamat, ami savós-fibrines ovoophoritist idéz elő.

A tojásrakás elmaradásának, ún. tojásrétentionak számtalan oka lehet, melyek származhatnak szervi elváltozásokból. A teknősöknél előfordulhat az abszolút- vagy a relatív nagyméretű tojások esetén a tojásrakási zavar. A tojásrakás zavar jelentkezhet a nem megfelelő tojásrakó hely esetén is.

A tojások a keltetés alatt bármely időszakban károsodhatnak a keltetési hibákra visszavezethetően. A nem megfelelő keltetési hőfok és/vagy páratartalom esetleg a tojások mozgatása oka lehet a korai vagy késői embrió mortalitásnak.

A kigyókban a kelés körüli időszakban jelentkező elhullás, illetve a kelési képtelenség visszavezethető a keltetési hibákra, de eredhetnek a magzat fejlődési hibáiból is. A keltetés alatt bármely időszakban felléphet a tojások myiasisa is.

TENGERI HALAK ÉS GERINCTELENEK FOGSÁGBAN TÖRTÉNŐ SZAPORÍTÁSA

Vincze Zoltán

Fővárosi Állat- és Növénykert, Akvárium
zoodr@freemail.hu

PROPAGATION OF MARINE FISHES AND INVERTEBRATES IN CAPTIVITY

Public aquaria, show and hobby marine tanks have a high mortality rate though the aquaristic techniques are developing. So more and more import of marine fishes and invertebrates is needed. Some species can be bred in captivity, private and profital breeders are able to produce commercial quantities of them.

Among fishes some pomacentrids [family Pomacentridae – e.g. clowns (*Amphiprion* spp.), damsels (*Pomacentrus* spp.)], cleaner gobies (*Gobiosoma* spp.), some anemones, furthermore some stony and soft corals can be propagated successfully, and some other species show possibilities of captive propagation.

A tengeri akváriumok

A nyilvános tengeri akváriumok, a bemutató és az otthoni díszakváriumok a fejlődő akvarisztikai technika ellenére is nagy elhullási rátával dolgoznak, így a vadon begyűjtött halak és gerinctelenek fokozott importjára van szükség.

Egyes fajok akváriumban történő szaporítása megoldott, ezekből magán- és hivatásos tenyészetek már kereskedelmi mennyiséget is képesek előállítani.

A halak közül egyes korallsünger-fajok (pl. bohóchalak [*Amphiprion* spp.], kék sügerek [*Pomacentrus* spp.]), neongébek (*Gobiosoma* spp.), néhány anemónafaj, valamint számos kő- és lágykorall szaporítása egyre sikeresebb, több faj szaporítása pedig egyre több sikerrel kecsegtet.

Hazánkban 6 cég importál rendszeresen tengeri élőlényeket, és közel tucatnyi cég, illetve magánszemély alkalmasszerűen. Ennek révén több tízezer tengeri hal és gerinctelen kerül hazai tengeri akvaristákhoz, amelyek között az akvárium szűrés- és világítástechnikájától, a takarmányozástól, a befogás és szállítás körülményeitől függően kisebb-nagyobb elhullásokkal kell számolni.

Ennek az importnak közel 100%-át vadon befogott példányok alkotják, és számos befogó állomás még mindig cianidos befogással dolgozik (amely fél éven belül a begyűjtést, karanténozást és szállítást túl is élő állatok teljes pusztulásához vezet), illetve a karanténozás vagy szállítás során bekövetkező problémák is szükségszerűen elhulláshoz vezetnek.

Egyes trópusi befogó-területeken a túlgyűjtés hatása már mutatkozik, így minden olyan magánszemélynek, illetve hivatásos tartóhelynek, mint a nyilvános akváriumok, illetve állatkertek, egyik feladata az érdeklődők számára bemutatni a tengerek világát és ennek a világnak a sebezhetőségét, valamint minél nagyobb erővel koncentrálni a tengeri fajok tenyésztésére. Ezáltal számos faj vadon befogott példányainak importja csökkenthető lenne, ideális esetben akár feleslegessé is válna, és rálátás nyílhat az eddig nem tenyészthető fajok fogságban történő szaporítására.

A fogságban való tenyésztés kulcsproblémái

- a tenyészállatok beszerzése és megfelelő elhelyezése
- párok kialakítása, partnerek elfogadtatása
- szaporodásra serkentés, azaz ciklusba lendítés
- ikrák keltetése
- lárvák táplálása, a megfelelő táplálékállatok (fito- és zooplankton!) megfelelő mennyiségben történő előállítása

- a növekedésnek megfelelő szelektálás, takarmányváltás, nyújtás

Az előadáson részletes áttekintés nyílik a világon rendszeresen szaporított fajok tenyésztésére, valamint a Fővárosi Állat- és Növénykertben több-kevesebb sikerrel szaporított fajok fogságban történő tenyésztésében rejlő lehetőségeire és nehézségeire.

POSZTERSZEKCIÓ

Barna Judit – Varga Ákos – Végi Barbara – Szőke Zsuzsanna

In vitro technikák a termékenyítés hatékonyságának becslésére madártojásokban

Cseh Sándor – Chen, Phillip – Corselli, Johannah – Bailey, Leonard

Petefészek stimuláció és ultrahangos ellenőrzés mellett történő petesejtgyűjtés páviánban

Kovács András – Molnár András – Kukovics Sándor

Házijuhok termékenyítése muflon-spermával

Liptói Krisztina – Varga Ákos – Hidas András – Barna Judit

A korai embrióelhalás vizsgálata madarakban – Módszerek és lehetőségek

Liptói Krisztina

A lúdembrió fejlődése az inkubáció során

Papp Antal – Sátorhelyi Tamás – Pappné Horváth Hajnalka

Császármetszés törpe selyemmajmon (*Cebuella pygmaea*)

Pintér Ágnes

Szemelvények a pápaszemés pingvin (*Spheniscus demersus*) szaporodásbiológiájából

Révay Tamás – Dávid Gergő – Edviné Meleg Erika – Hidas András

Molekuláris ivar- és származás meghatározás madarakban

Révay Tamás – P. Tardy Erika – Ingemar Gustavsson – Mezősi László – Sós Endre – Kovács András

Numerikus kromoszóma polimorfizmus a kétujjú lajhárban (*Choloepus didactylus*, L.)

Szőke Zsuzsanna – Biczó András – Barna Judit – Péczely Péter

Szteroid hormonok tojássziből történő meghatározása, mint a stresszhatások és az „anyai befektetés” diagnosztikai lehetősége madarakban

Varga Ákos – Végi Barbara – Várkonyi Eszter – Barna Judit

Madár hímivarsejtek és embrionális sejtek mélyhűtéssel történő tartósítása, mint *ex situ* génmegőrzési módszer

Zsolnai Attila – Nándorfői Zoltán

Szex meghatározottsága, genetikai háttér és vizsgálati lehetőség madaragnál, kutatási tevékenység, vadon élő populációk „tehermentesítése”

SPERMIIUM–PETE INTERAKCIÓ VIZSGÁLATÁNAK MÓDSZEREI MADÁRTOJÁSOKBAN

Barna Judit – Varga Ákos – Végi Barbara – Szőke Zsuzsanna – Lennert Lidia

Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Szaporodásbiológiai Osztály
barna@katki.hu

TECHNIQUES OF EXAMINATION ON SPERM – EGG INTERACTION IN BIRDS' EGGS

The paper describes the principles, use and application of some of the methods to detect 'sperm-in-eggs' in birds. One is the detection of spermatozoa embedded in the outer perivitelline layer; the other is the counting of the hydrolysed holes in the inner perivitelline layer of the egg. The techniques provide a useful and precise alternative to measuring the efficiency of fertilization (mating or artificial insemination) in different bird species and have application on research as well. Its value lies in its greater quantitative range and sensitivity and more direct relevance to breeding efficiency, in terms of numbers of sperm transferred from males to females.

Összefoglalás

A madarak párzásának, illetve mesterséges termékenyítésének eredményességét általában a termékeny tojások százalékaiban fejezzük ki, ami leggyakrabban lámpázáskor vagy a keléskor kieső tojások feltörésével történik. E módszerek hátránya, hogy az esetleges terméketlenségre csak több hetes késéssel derül fény.

Ha elegendő tojás áll rendelkezésünkre, lehetőség van a még nem inkubált tojások vizsgálatára is. *Kosin (1945)* a nem inkubált tojásban levő csírákorong állapota alapján szabad szemmel történő termékenységi vizsgálat módszerét írta le, amelyet azóta szerte a világon alkalmaznak. Ez a vizsgálat a termékenynek látszó tojások megítélésében kb. 80, a terméketlennek látszó tojások esetében csupán 60%-os megbízhatóságú (*Barna és mtsi, 2005*). Emellett csak arról tájékoztat, hogy egyetlen spermium megtermékenyítette-e a petét vagy sem. Ismert, hogy a termékenyítés hatékonysága, a normális fejlődésű embriók aránya, valamint a fertilis periódus hossza a petevezetőbe jutott hímivarsejtek *mennyiségétől* függ, tehát ennek ismerete a madarak sikeres szaporítása érdekében nélkülözhetetlen.

A poszterünk bemutatásának célja olyan, az előzőekben említett módszernél sokkal érzékenyebb *in vitro* technikák bemutatása, amelyek az állatkerti vadmadarak, esetleg hullők sikeres természetes, illetve mesterséges szaporításának ellenőrzésében, valamint a génmegőrzési célból fejlesztendő ondómélyhűtési technikák hatékonyságának ellenőrzése céljából haszonnal alkalmazhatók.

A sikeres spermium-transzport meghatározásának közvetlen módja a még nem inkubált tojásokban kimutatható azon spermiumpopuláció vizsgálata, amely a termékenyítés idején és helyén körülveszi a petét. Tény, hogy a tojásonként itt kimutatható akár több ezer spermium a szaporítás hatékonyságáról sokkal többet mond, mint az egyszerű „termékeny - nem termékeny” meghatározás. Cikkünkben azokról a módszerekről, valamint azok elvéről, hasznáról és alkalmazásáról számolunk be, amelyek segítségével a tojásban levő spermiumok meghatározhatók.

A vizsgálatok szaporodásélettani háttere

Spermiumok a női nemi utakban - a spermiumok útja a petéhez

Ismert, hogy baromfiféléknél a tojók hüvelyébe jutott spermium-mennyiségnek csupán 1-2%-a képes elraktározódni az uterovaginális szűkületben található spermium-tároló tubulusokban (*Bakst és mtsi, 1994*), ahonnan házityúk esetében kb. 30%, pulykatojók esetében 11% vándorol naponta az infundibulumba, a termékenyítés színhelyére (*Wishart, 1994*). Jóllehet,

számszerűleg nem vizsgálták, de feltételezhető, hogy ez az arány vadmadár fajok esetében is így van. A spermiumürülés üteme, amitől függ az egyes fajok fertilis periódusának hossza, madárfajonként eltérő. A termékenység folyamatos fenntartásához a petevezető spermiumtároló helyeinek folyamatosan töltődniük kell, amihez *kellő számú aktív, jó minőségű spermára* van szükség.

Termékenyülés – a spermium és a pete találkozása

A termékenyülés helye a petevezető infundibuláris szakasza. A petesejtbe való belépéshez a spermiumoknak át kell hatolniuk a petesejtet körülvevő ún. belső perivitellin membránon (inner perivitelline layer = IPVL), kis nyílások hidrolizálásával (penetráció). Ezek a kerek nyílások zömmel a csírákorong körül találhatók, számuk akár 1000 is lehet, bár már 6 nyílás jelenléte jelzi, hogy a petesejt termékeny. Ha 6-nál kevesebb a nyílások száma, kicsi a valószínűsége a termékenyülésnek, és ha nincsenek nyílások, biztos, hogy nem termékeny a tojás.

Termékenyülés után a nem penetráló spermiumok a perivitellin membrán külső rétegébe (outer perivitelline layer = OPVL) „ragadnak”. Ez a hálózatos szerkezetű fehérjeréteg az infundibulum disztális és a magnum proximális szakaszában szekretálódik. A spermiumok összeszámlálásából kiderül, hogy akár 50.000 spermium is kapcsolatba léphet a petével a termékenyítés során. Ez a spermiumszám a raktározó tubulusokban található spermiumok számával egyenes arányban van (*Wishart, 1994*), tehát egyúttal a spermium-transzport kifejezője. Lényeges tehát, hogy mindez a nem inkubált tojásban mutatható ki, ami ily módon hasznos indikátora a petevezető spermium-tartalmának, azaz a női nemi utakba történő sikeres spermium transzportnak.

A külső perivitellin membránban levő spermiumok, valamint a belső perivitellin membránban levő penetrációs nyílások meghatározásának módjai

Bármelyik vizsgálatot végezzük vagy technikát követjük, az első lépés az ép tojássárgája kinyerése a tojásból. A fehérjétől való elválasztás után a sárgáját egyszerű sóoldatban mossuk, majd egy kb. 2 cm²-es darabot kivágunk a szikhártyából. A membrándarabról lehetőleg teljesen lemoszuk a visszamaradt sárgáját és fehérjét, majd tárgylemezen ráncmentesen szétterítjük. Ha a külső membránban levő spermiumokat akarjuk vizsgálni, akkor célszerű a vegetatív pólusról származó membrándarabot használni, ahol a spermiumok egyenletes eloszlásban találhatóak, majd a membránt DNS-specifikus fluorokrómmal festeni. A spermiumok magjai fluoreszcens mikroszkóp segítségével, kb. 400×-os nagyítással láthatók. A vizsgálat előnye, hogy a spermium magjának festése néhány napos inkubálást követően is elvégezhető.

Mivel a spermium-magok festése potenciálisan toxikus anyagok használatát igényli, valamint a mikroszkopizálás nagy nagyításon történik, tehát lassúbb, a gyakorlatban egyszerűsége és gyorsasága miatt célszerűbb a penetrációs nyílások vizsgálata, ami azonban kizárólag inkubálatlan tojásokban végezhető.

A penetrációs nyílások legnagyobb gyakorisággal a csírákorong fölötti szélesebb gyűrűben találhatóak, tehát ebben az esetben a csírákorong fölötti membránt vágjuk ki, és vagy festetlenül vizsgáljuk sötétlátóteres mikroszkóppal, vagy a membrán glikoproteinjét festjük speciális reagenssel. A penetrációs nyílások, akár festett, akár festetlen készítményről van szó, közönséges fénymikroszkóppal, 4-10×-es nagyítással felismerhetők. Vizsgálatkor általában a nyílások teljes számát adjuk meg, de ha túl sok a nyílás, akkor elegendő az adott régió negyed- vagy ötödrészének a vizsgálata, majd a nyílások teljes területre történő arányos kiszámítása.

A tojásban levő spermiumok vizsgálatának alkalmazási lehetőségei

A fenti vizsgálatok a legmegfelelőbb eszközök a termékenyítés hatékonyságának precíz analizálásához, mivel a különbségek olyan esetekben is kifejezhetők, amikor a termékenységekben látszólag nincs különbség.

Segítségükkel tesztelhető a hím madarak termékenyítőképessége, a mesterséges termékenyítés eredményessége, akár friss hígítatlan, illetve hígított, akár mélyhűtött sperma alkalmazásáról van szó. Ellenőrizhető a takarmányozás, a szállítás utáni adaptáció, a tartási körülmények, a helyes ivararány, az éghajlat, az időjárási frontok stb. hatásai a szaporodási mutatókra.

Irodalom

1. Bakst, M. R., Wishart, G., Brillard, J. P. (1994): Oviductal sperm selection, transport and storage in poultry. *Poultry science reviews*. **5**: 117-143.
2. Barna, J., Végi, B., Varga, Á., Szőke, Zs., Lennert, L., Török, T., Kovács, T. (2005 – in press): Termékenységi problémák és előrejelzésüknek új vizsgálati módja brojler szülőpár állományoknál. *Baromfiágazat*.
3. Kosin, I. I. (1945): The accuracy of the macroscopic method in identifying fertile unincubated germ discs. *Poultry science*. **24**: 281-295.
4. Wishart, G. (1994): New approaches to evaluating male and female fertility. *Proceedings of the 1st International Symposium on Artificial Insemination of Poultry*. University Maryland, USA.

PETEFÉSZEK STIMULÁCIÓ ÉS ULTRAHANGOS ELLENŐRZÉS MELLETT TÖRTÉNŐ PETESEJTGYŰJTÉS PÁVIÁNBAN

Cseh, Sándor^{1,2} – Chen, Phillip² – Corselli, Johannah² – Bailey, Leonard²

¹SZIE Állatorvos-tudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika,
Andrológiai és Asszisztált Reprodukciós Laboratórium

²Human Fertility and IVF Center Department of Obstetrics and Gynecology Loma Linda
University and Medical Center
Cseh.Sandor@aotk.szie.hu

OVARIAN STIMULATION AND ULTRASOUND-GUIDED FOLLICULAR ASPIRATION IN BABOON

The present study was conducted to investigate whether 1) baboon females respond with follicular recruitment and oocyte maturation to a modified human controlled ovarian stimulation (COS) protocol incorporating a luteal phase start of pituitary suppression with a GnRH agonist (GnRHa) and highly purified human FSH (hphFSH) or recombinant human FSH (rhFSH), and 2) transabdominal ultrasound guided (TUG) follicular aspiration is suitable for oocyte collection in baboon. In summary, hphFSH and rhFSH can successfully produce follicular recruitment/oocyte maturation during pituitary suppression with a GnRH agonist. The depot/implant form of GnRHa is efficient and beneficial because the requirement of daily animal access for administration by injection is minimized. TUG follicular aspiration is effective/safe for repeated oocyte collection. With the presented COS protocol, morphologically normal mature oocytes can be produced which are capable to fertilize in vitro.

Bevezető

Általánosságban asszisztált reprodukció (AR) alatt értjük, amikor speciális eljárásokkal, ún. asszisztált reprodukciós technika/technikák (ART) alkalmazásával elősegítik a fogamzás létrejöttét. Az AR és ezen belül az ART az interdiszciplináris területek egyik legjellegzetesebb példájaként említhetők. Az asszisztált reprodukciós laboratóriumi alaptermészetek függetlenül a fajtól, amiben alkalmazzák, általában hasonlítanak egymáshoz, így hasznos információt remélhet a humán embriókkal foglalkozó embriológus az állattenyésztésben/génmegőrzésben tevékenykedő, állati embriókkal dolgozó embriológus szakembertől és fordítva.

A főemlősök a legjobb modellt jelentik az ember normális és kóros reprodukciós folyamatainak tanulmányozására. A főemlősökkel végzett AR kísérletek eredményeit azonban nemcsak a humán klinikai AR-ban lehet hasznosítani, hanem a főemlősök genetikai anyagának a megőrzésével kapcsolatos munkában is. A kutatás mellett, az ART szerepet kaphatnak a jövőben a nehezen szaporodó, kihalással fenyegetett, állatkertben vagy vadon élő veszélyeztetett főemlős fajok és fajták megmentésében is. Állatkerti főemlősöknél gyakran húzódik meg a meddőség hátterében, hogy ezek az állatok fogságban nem vagy nagyon nehezen szaporodnak, és emiatt közülük több – napjainkban már csak állatkertben megtalálható – főemlős fajt a kipusztulás veszélye fenyeget. Természetes körülmények között élő főemlősök esetében is gyakori probléma a meddőség, aminek oka, hogy nagyon beszűkült az állatok élettere, és ez hátrányosan befolyásolja szaporodóképességüket. Ezekben az esetekben is jó szolgálatot tehetnek az ART, melyek segítségével elősegíthetjük, hogy a reprodukciós problémákkal terhelt, nehezen szaporodó, meddő állatoktól utódok születhessenek. Már napjainkban is, igaz még csak korlátozott számban, de lehet példákat találni ilyen mentőprogramokra (Loskutoff és mtsai, 1991; Bavister és Boatmann, 1989; Bavister, 2004).

Vizsgálataink céljai voltak: 1) annak a kérdésnek a megválaszolása, hogy a pávián donorok képesek-e tüszőfejlődéssel és normális petesejtteréssel válaszolni a vizeletből nyert nagy tisztaságú humán (hphFSH) vagy rekombináns technikával előállított humán FSH-val (rhFSH)* végzett szuperovulációs kezelésre, miközben a hipofízis működését GnRH agonistával blokkoljuk, valamint 2) páviánban alkalmazható, ultrahangos ellenőrzés mellett

* A rekombináns humán FSH-t a Serono USA biztosította a kísérletekhez, amit ezúton is hálásan köszönünk.

végezhető, a folliculusok tartalmának leszívásával történő petesejtgyűjtési technika kialakítása/adaptálása.

Anyag és módszer

A kísérletben résztvevő állatoknak (n=5) szabályos menstruációs ciklusaik voltak (32-34 nap). Koruk 6 és 15 év között volt. Az állatokat ellenőrzött körülmények között, egyedileg, speciális ketrecekben tartottuk, ami megfelelő mozgásteret is biztosított számukra. A ciklus első napja a menstruációs vérzés megjelenésének napjával egyezik meg. A hipofízis működését felfüggesztő tartós hatású GnRH agonistát tartalmazó implantátumot (3.6 mg, Zoladex[®], ICI Pharma, Wilmington, USA), ami goserelin acetatot tartalmaz, a ciklus 22-24. napján a luteális fázisban helyeztük a has bőre alá. A kezelés nem befolyásolta a menstruációs vérzés jelentkezésének idejét, ami szabályos időben kb. 10-12 nappal később mindig bekövetkezett. A vérzés utáni 3. és 6. napon ellenőriztük a szérum ösztrogén szinteket. A szuperovulációs kezelést nagy tisztaságú humán gonadotrop hormonnal (hphFSH, Fertinex[™], Serono, USA, 75 NE, im), vagy rekombináns technológiával előállított humán FSH-val (rhFSH, Gonal-F[®], Serono, USA, 75 NE, i.m.) végeztük. A sorozatkezeléseket a vérzést követően kb. 10 nap elteltével kezdtük. A donorok naponta 75 NE humán FSH-t (hphFSH vagy rhFSH) kaptak i.m. Folyamatosan vettünk vért hormon meghatározásra, és általában naponta, másnaponta ellenőriztük a tüszők fejlődését ultrahanggal. Amikor a fejlődő tüszők többségének átmérője elérte vagy meghaladta az 5 mm-t, és az ösztrogénszint elérte a maximumot, 2000 NE hCG-vel (Profasi[®], Serono, i.m.) indukáltuk a petesejtek végső érési folyamatát és az ovulációt. A szérumban az ösztrogén, progeszteron és hFSH értékeket ELISA módszerrel határoztuk meg (DPC, Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, USA).

A petesejtgyűjtéshez az állatokat 5 mg/kg ketamin-hidrokloriddal i.m. elaltattuk. A tüszők tartalmát ultrahangos ellenőrzés mellett, transzvaginális fejjel (Endo-V transzducer, 5.0/6.0/7.5 MHz; Siemens Sonoline SI-250, Siemens Medical, Iselin, USA), de transzabdominális megközelítési módot alkalmazva szívtuk le, a hCG befecskendezését követő 30-34. óra között. A folliculus-tartalmat 30 cm hosszú Echotip[®]-pel ellátott, 17 g-os, kettős lumenű tűvel (Cooke Ob/Gyn, Spencer, USA) gyűjtöttük egyszer használatos, 15 ml-es műanyag csövekbe. A leszívó tűt egy vákuumgéphez csatlakoztattuk (Rocket, Aphareta, USA), amivel szabályozott 100 mmHg szívó hatást állítottunk elő. A tüszők tartalmát módosított petevezető folyadékba (Modified Human Tubal Fluid, mHTF, Irvine Scientific, Irvine, USA) gyűjtöttük. A tápfolyadékot 37°C-on tartottuk, és 10% (v/v) szintetikus szérummal egészítettük ki (SSS, Irvine Scientific, Irvine, USA). A nyert tüszőfolyadékból a petesejteket mikroszkóp alatt kiválogattuk, majd a kumulusz sejteket hialuronidázzal (40 NE/ml, Sigma) leválasztottuk a petesejtekről. A petesejtek minőségének, érettségének bírálatára kb. 3 órás tenyésztést követően került sor. Az alábbi osztályozási rendszert alkalmaztuk: 1) Profázis I. (PI): intakt germinális vezikulum, 2) Metafázis I. (MI): nincs sem germinális vezikulum, sem sarki test, 3) Metafázis II. (MII): egy sarki test jelen van. Csak az MII-es stádiumú petesejteket minősítettük in vitro fertilizációra alkalmasnak. A petesejtek érettségét, fertilizációs képességét intracitoplazmatikus spermium injektálással (ICSI) ellenőriztük.

Eredmények

A GnRH-agonista kezelés megkezdésekor emelkedett, 10,0-14,0 ng/ml közötti progeszteron értékeket mértünk a szérumban, ami jelzi, hogy a hipofízis működésének felfüggesztését a megfelelő időpontban kezdtük el. A kezelés hatására a menstruációs vérzést követően az ösztrogénszint nem kezdett el emelkedni, hanem alacsony szinten maradt (< 20 pg/ml), amit a szexuális bőr duzzadásának elmaradása is alátámasztott. A gonadotrop hormonos (nagy tisztaságú humán FSH és rekombináns eljárással előállított humán FSH) sorozatkezelés megkezdésekor, kb. a menstruáció utáni 10. napon, változatlanul alacsony ösztrogén értékeket

találtunk a szérumban. Az ösztrogén szint csak néhány napos kezelés után, az 5-7. kezelési napok között kezdett emelkedni, és 200-1000 pg/ml közötti értéktartományban „tetőzött”, általában a 9-12. kezelési nap között.

Fejlődő tüszőket csak a 9-10. kezelési nap után lehetett észlelni az ultrahangos képen, amikor több 2-3 mm átmérőjű nagyobb és számos ennél kisebb folliculust lehetett detektálni a petefészkek állományában. Általában a 10-11. napra a fejlődő folliculusok közül néhánynak az átmérője elérte vagy meghaladta az 5 mm-t. Amikor a fejlődő folliculusok közül már többnek a mérete 5 mm vagy annál nagyobb volt, és ezzel párhuzamosan magas ösztrogén szintet mértünk, az állatokat hCG-vel kezeltük, indukálva a petesejtek végső érését és az ovulációt.

Az FSH-szint a szuperovulációs kezelés megkezdése után gyorsan emelkedett a szérumban és kb. 11-13 mNE értéken „tetőzött”, általában az első kezelést követő 10-11. napon. A nagy tisztaságú, vizeletből nyert, „természetes” és a rekombináns eljárással előállított humán FSH-val kezelt donorok ösztrogén- és FSH-szintjének alakulása között nem találtunk különbséget.

A rhFSH-val szuperovuláltatott csoportban donoronként 21 ± 4 folliculus tartalmát szívtuk le, és $17,2 \pm 3,8$ petesejtet nyertünk. Az átlagos kinyerési arány 82% (86/105) volt. A gyűjtött petesejtek 91%-a (78/86) MII-es stádiumú volt, és ezért in vitro fertilizációra alkalmasnak ítéltük. A hphFSH-val kezelt állatoknál donoronként 22 ± 7 tüszőből kíséreltük meg a petesejtek kiszívását, és 79%-os (71/89; átlagosan $17,7 \pm 3$) kinyerési arányt értünk el. A petesejtek 90%-a MII stádiumú, termékenyülésre alkalmas állapotban volt (64/71). A gyűjtött petesejtek közül 18-at termékenyítettünk ICSI-vel, és 38,8%-os fertilizációs arányt értünk el (7/18).

Megbeszélés

Vizsgálataink újdonságtartalma kettős: egyrészt nőstény páviánok szuperovuláltatását egy módosított humán petefészkek stimulációs protokollal végeztük, amit – tudomásunk szerint – előttünk még nem alkalmaztak páviánban, másrészt páviánokban még úgyszintén nem alkalmazott technikával, ultrahangos ellenőrzés mellett – a folliculustartalom leszívásával – végeztük a petesejtgyűjtést.

A páviánokat a vizeletből kivont hphFSH-val vagy rhFSH szuperovuláltattuk, miközben a menstruációs ciklust a hipofízis működésének GnRH-analóggal (agonistával) történő gátlásával blokkoltuk. Az alkalmazott GnRH-analóg a GnRH decapeptidmolekula kémiai módosításával előállított vegyülete. A molekulán végzett módosítás egyrészt felerősíti a vegyület affinitását a hipofizeális receptorokhoz, másrészt gátolja a természetes GnRH lebontásáért felelős enzimeket. A GnRH-analóg folyamatos adagolása kezdeti gonadotrophormon felszabadulás után a hipofízis eredetű gonadotrophormonok (elsősorban LH) reverzibilis gátlásához, és ezáltal a petefészkek-működés nyugalomba helyezéséhez vezet. Az általunk kifejlesztett szuperovulációs hormonkezelés hatékonyságát jól tükrözi a gyűjtött érett, termékenyülésre alkalmas petesejtek nagy száma. A petesejtek fertilizációs képességét spermajektálással (ICSI) több petesejten igazoltuk. A petesejtek minősége, de főképpen az ICSI-t követő termékenyülése jelzi, hogy a szuperovulációs kezelés és a hCG beadásának időzítése megfelelő volt, és elég időt biztosított a petesejtek számára az in vivo érésre, így azok in vitro termékenyülésre alkalmas stádiumú petesejtekké fejlődhettek. Elsőként közöltünk adatokat pávián petesejtek sikeres ICSI-jéről.

Vizsgálataink igazolták azt a várakozásunkat, hogy a pávián nőstények a hipofízis működésének GnRH agonistával történő gátlásának ideje alatt is képesek ösztrogén termeléssel és normális petesejtéréssel társult tüszőfejlődéssel válaszolni a humán gonadotrop hormonnal végzett szuperovulációs kezelésre. A hipofízis-működés blokkolásának – főlegben elsőként általunk – alkalmazott módja gyakorlatiasabb megoldásnak bizonyult az eddigi kezeléseknél, amelyeknél több héten keresztül naponta kell tabletta formájában per os vagy injekciós készítményben parenterálisan adni a gyógyszert az állatnak. Mindkét megoldás

rendkívül munkaigényessé teszi a szuperovulációs kezelést, ráadásul a per os bejuttatási mód igen megbízhatatlan is. A Zoladex implantátum használatakor az előkészítő fázisban nem kellett naponta kezelni az állatokat, ami nagyban megkönnyítette a programok kivitelezését. A 3,6 mg-os tartós hatású Zoladex implantátum kielégítő mértékben és elég hosszú ideig blokkolta a hipofízis működését ahhoz, hogy jó reakciókat kapva fejezhessük be a szuperovulációs sorozat kezeléseket. A donorok egyaránt jól reagáltak a vizeletből kivont nagy tisztaságú humán FSH-val, illetve a rekombináns technikával előállított humán FSH-val végzett hormonkezelésekre. A szuperovuláció hatására elindult többszörös tüszőfejlődés – a nőknél megfigyelt módon – ösztrogéntermeléssel és petesejtéréssel párosult. Tapasztalataink szerint azonban az ösztrogén hormon szintje megemelkedésének mértéke általában alatta maradt a nőknél mért értékeknek (általában 800 µg feletti értékeket mérnek).

Páviában elsőként alkalmaztunk ultrahangos ellenőrzés mellett végezhető petesejtgyűjtési technikát, ami – összehasonlítva a laparotómiával vagy a laparoscópiával – kevésbé invazív beavatkozás, és rendkívül biztonságos módja a follikulustartalom leszívásának. Kísérleti programjainkban több olyan állat is részt vett, amelyiket többször szuperovuláltattuk (van olyan donor, amelyik négy petesejtleszíváson vett részt) és mégsem tapasztaltuk semmilyen jelét annak, hogy a beavatkozásoknak bármilyen negatív hatása lett volna. A gyűjtött petesejtek nagy száma és a magas kinyerési arány jól jelzi a módszer hatékonyságát. A technika biztonságos, nem veszélyezteti sem az állat életét, sem a későbbi szaporodását, és ezért az eljárás többször megismételhető.

HÁZIJUHOK TERMÉKENYÍTÉSE MUFLON SPERMÁVAL

Kovács András – Molnár András – Kukovics Sándor

Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Herceghalom
kovacs_cyto@hotmail.com

INSEMINATION OF DOMESTIC SHEEP WITH MOUFLON SEMEN

Introduction

Breeding hair sheep is worldwide growing due to permanently low wool prices. There are no such domestic sheep in Hungary, therefore we started with Mouflon crossings for their development. Our goal is to create sheep needing no docking, shearing and bathing.

Material and methods

Two ejaculates were taken from each of three Mouflon rams by electroejaculator. Semen samples were evaluated by a trypan blue-Giemsa staining (Kovács and Foote 1992, Nagy et al. 1999). 33 estrus-synchronized British Milk Sheep (a prolific breed of medium-long tail and polled in both sexes) ewes were inseminated with the diluted semen (Table I.) after more than 200 km delivery on the evening of the day of semen collection, and the next morning.

Results and discussion

Proportion of live intact spermatozoa was very different in the semen samples (Tables II., III., Figs). Semen taken by electroejaculation may be contaminated more or less by urine, we suppose it may be expressed first in tail membrane permeability, and correspondingly reduced motility (Nagy et al. 2000). In spite of this, eleven ewes (33.3%) are pregnant, and we expect the birth of lambs from all the three rams by the end of March.

Further tasks

As hairiness and tail length both follow intermedier inheritance, formation of woolless Hungarian sheep of short tail and polled in both sexes (polledness is dominant to horns) will require further crossing and selection work.

Bevezetés

A tartósan alacsony gyapjúárak miatt világszerte terjed a szőrös házijuhok tenyésztése. Hazánkban ilyen házijuhok nincsenek, ezért muflon-keresztezéseket kezdtünk ezek kialakítására. Olyan juhokat kívánunk kitenyészteni, melyeknél farokvágásra, nyírásra és fűröszítésre nem lesz szükség.

Anyag és módszer

Elektroejakulációval három muflon kostól két-két ejakulátumot vettünk. A mintákat tripánkék-Giemsa festéssel (Kovács és Foote 1992, Nagy és mtsai 1999) értékeltünk. A hígított spermával (1. táblázat) több, mint 200 km szállítás után aznap este és másnap reggel 33 ivarzás-szinkronizált brit tejelő juh (többet ellő, középhosszú farkú, mindkét ivarban szarvatlan fajta) anyát termékenyítettünk.

Eredmények és megbeszélés

A levett anyagokban az élő ép ondósejtek aránya igen eltérő volt (2. és 3. táblázat, ábrák). Elektroejakuláció során a sperma kisebb-nagyobb mértékben vizelettel szennyeződhet, feltételezzük, hogy ez elsősorban a farokrész membrán-permeabilitásában és a motilitás ennek megfelelő csökkenésében (Nagy és mtsai 2000) nyilvánulhat meg. Mindezek ellenére tizenegy anyajuh (33,3%) vemhes, mindhárom kostól március végén várjuk a bárányok születését.

További teendők

Mivel a szőrösség és a farokhossz intermedier öröklésmentet követ, a gyapjatlán, rövid farkú és mindkét ivarban szarvatlan (a szarvatlanság domináns a szarvaltsággal szemben) hazai házijuhok kitenyészése további keresztezéseket és szelekciós munkát igényel.

Irodalom / Literature cited

1. Kovács A., Foote R. H. (1992): Viability and acrosome staining of bull, boar and rabbit spermatozoa. *Biotechnics and Histochemistry* **67**: 119-124.
2. Nagy Sz., Házas G., Bali-Papp Á., Iváncsics J., Szász F., Szász F., Jr., Kovács A., Foote R. H. (1999): Evaluation of sperm tail membrane integrity by light microscopy. *Theriogenology* **52**: 1153-1159.
3. Nagy Sz., Merész L., Várszegi J., Szász F., Iváncsics J., Kovács A. (2000): Relationship between sperm membrane integrity and motility. *Theriogenology* **53**: 204.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük Fackelmann István (Mórahalom), Szabó Zoltán (Karcag) és Villányi Péter (Nógrád) urak szíves együttműködését. Munkánkat az FVM 43057 sz. K+F pályázata támogatja.

1. táblázat / Table I.

A hígító összetétele / Extender composition

trinatrium citrát	/	trinatrium citrate ($\times 2 \text{ H}_2\text{O}$)	2,37 g
glükóz	/	glucose (anh.)	0,80 g
desztillált víz	/	distilled water	ad 100 ml
tojássárgája	/	egg yolk	+ 20 ml

2. táblázat / Table II.

Az egyes ondósejt kategóriák jellemzői / Characteristics of different cell categories

Élő sejt / live cell	világos rózsaszínes / light pinky
Élő fej / live head	világos rózsaszín / light pink
Élő fark / live tail	rózsaszín / pink
Elhalt sejt / dead cell	szürke / grey
Elhalt fej / dead head	szürke / grey
Elhalt fark / dead tail	sötét / dark
Ép akroszóma / intact acrosome	bíbor / purple
Laza akroszóma / loose acrosome	levendula / lavender
Hiányzó akroszóma / missing acrosome	világosszürke / light grey

3. táblázat / Table III.

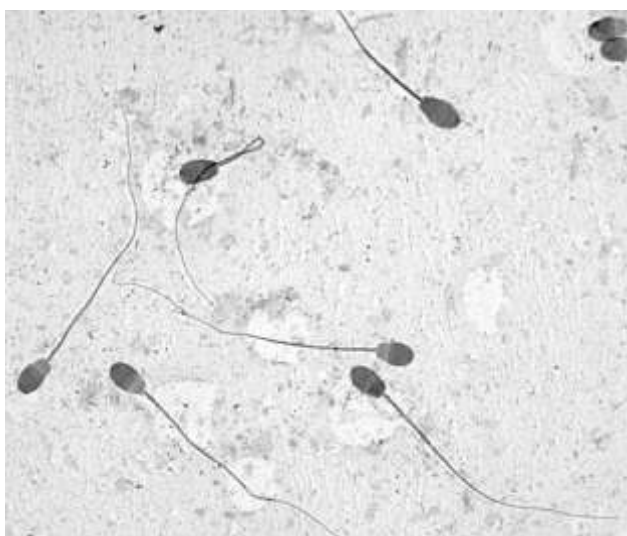
Az egyes ondósejt kategóriák arányai / Proportion of different cell categories (%)

Kos / Ram	élő ép sejt live intact cell	elhalt fark dead tail	elhalt fej dead head	elhalt sejt dead cell
„400” (Nógrád) I.	79	1	4	16
„400” (Nógrád) II.	51	10	11	28
„Misi” (Mórahalom) I+II.	39	8	5	48
„Tódor” (Mórahalom) I+II.	12	48	1	39



- A) ábra**
Mouflon ondósejtek (Misi)
- Elhalt sejt, laza akroszóma
 - Élő ép sejt
 - Elhalt sejt, nincs akroszóma

- Fig. A**
Mouflon spermatozoa (Misi)
- dead cell, loose acrosome
 - live intact cell
 - dead cell, no acrosome



- B) ábra**
Mouflon ondósejtek („400”)
- 3 élő ép sejt
 - 1 elhalt sejt, laza akroszóma
 - 2 elhalt fej, élő farok, ép akroszóma (az egyik hajtúfarokkal)

- Fig. B**
Mouflon spermatozoa („400”)
- three live intact cells
 - one dead cell, hurt acrosome
 - two dead heads, live tail, intact acrosome (one of them with hairpin-curved tail)



- C) ábra**
Mouflon ondósejtek („Tódor”)
- 1 élő sejt (hajtúfarokkal)
 - 2 élő fej, elhalt farok

- Fig. C**
Mouflon spermatozoa („Tódor”)
- one live cell (with hairpin-curved tail)
 - two live head, dead tail

KORAI EMBRIÓELHALÁS VIZSGÁLATA MADARAKBAN – MÓDSZEREK ÉS LEHETŐSÉGEK

Liptói Krisztina – Varga Ákos – Hidas András – Barna Judit

Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
liptoi@katki.hu

INVESTIGATION OF EARLY EMBRYONIC MORTALITY IN BIRDS – METHODS AND POSSIBILITIES

Embryonic loss on the first 6-7 days of the incubation is termed early embryonic mortality. It can be caused by breeding, feeding or egg handling problems, but genetic defects are also often in the background. Knowledge of the phenotype of dead embryos can ease the exploration of the cause of mortality and determination of occurrent mutations. Detection of very early embryonic death occurred in the oviduct is difficult, especially after incubation but with the help of propidium iodide staining of the germinative disc this problem can be easily solved. This staining was applied for this purpose by us for the first time. This method can be useful in monitoring of “true” fertility during artificial insemination and estimating the fertilizing capacity of males.

Mi okozhat korai embrióelhalást madarakban?

Az inkubáció első hat-hét napján bekövetkező embrióvesztésért korai embrióelhalásnak nevezzük. A legtöbb szerző korai és késői embrionális mortalitást különböztet meg, míg néhányan az inkubáció második hetén történő elhalásokat külön kategóriába sorolják (Shook et al. 1971, Jassim et al. 1996). Az embrionális elhalás szakaszai összefüggést mutatnak az embrió anyagcseréjében történő jelentős változásokkal (Jassim et al. 1996). Az első kritikus szakasz a véredényrendszer, a vérkeringés kialakulásával (Bogenfürst 1992), a tejsavtermelés csúcsával (Romanoff 1949), valamint a keletkező CO₂ kiválasztás megváltozásával (Landauer 1951) és a mesonephros, az embrionális vese működésének megindulásával (Byerly 1931) esik egybe. A második kritikus szakasz a tüdőlégzésre való áttérés, valamint a kibújás időszaka (Rol'nik 1970, Bogenfürst 1992). Korai elhalást kiválthat a takarmány toxin- és fertőzőanyag-tartalma, a nem megfelelő alomanyag és tojófészekméret és számos fertőző betegség, például a *Mycoplasma* spp. és *Salmonella* spp. rontják a keltethetőséget is. A keltetésre alkalmas tojások tisztítása és fertőtlenítése után nem elhanyagolható kérdés a tárolás időtartama, a tárolási hőmérséklet és páratartalom. A mikrobiális fertőzések megváltoztatják a tojástartalom kémiai összetételét, és akadályozzák a tápanyagok áramlását a fejlődő embrió irányába, így elsősorban a keltetés közepén és végén okoznak nagyarányú embriópusztulást, és növelik az elhalt és befulladt tojások arányát (Bogenfürst 1992).

A keltetés első hat napján bekövetkező korai embrionális elhalás gyakran genetikai rendellenességekre vezethető vissza, mint az autoszómális vagy ivarhoz kötött recesszív letális gének jelenléte, a genetikailag hajlamos abnormális meiózisekből származó kromoszóma-rendellenességek vagy a korai osztódáskor bekövetkező hibák (Somes és Smyth 1967, Zartman és Smith 1975, Savage et al. 1988, Savage et al. 1992). Az embrionális vagy kromoszómális rendellenességek kialakulására való hajlam öröklődhet (Zartman és Smith 1975, Telloni et al. 1976, Blazak és Fechheimer 1979), az állományban felhalmozódhat (Hidas et al. 1996, Liptói és Hidas 1998). Beaumont et al. (1997) úgy találták, hogy a korai embrionális mortalitás örökölhetősége magasabb, mint a későbbi fázisban bekövetkező elhalásoké.

A korán elhalt baromfiembriók citogenetikai vizsgálata a hatvanas évek végén kezdődött tyúkban (Bloom és Buss 1966, Fechheimer et al. 1970). A rendellenes fenotípusú embriókban különböző számbeli, strukturális és morfológiai eltéréseket találtak (Bloom 1969, Mong et al. 1974). Bizonyított, hogy összefüggés lehet az embrionális és a kromoszómális rendellenességek között a különböző baromfifajokban (Bloom 1970). Az elhalt embriók és a differenciálatlan, embrió nélküli szövetek vizsgálata rámutathat arra, hogy az embrióvesztés részben a kromoszómális rendellenességeknek tulajdonítható (Fechheimer 1990).

Mivel pedig keltetés során minden embrió szülője ismert, az embriók tanulmányozása alapján kiválaszthatók azok a hímivarú és nőivarú egyedek, családok, amelyek nagyobb arányban hoznak létre embrionális és/vagy kromoszómális rendellenességeket (Szalay 1989). Ezek a szülők általában normál fenó- és genotípusúak. A korai embrionális elhalás fenotípusainak részletes ismerete és leírása megkönnyíti a rendellenességek, valamint az esetleges mutációk felismerését. Az első lámpázás után feltört tojásokban az elhalt embrió vagy embrionális szövet képe esetenként eltérő lehet attól, amit közvetlenül az elhalást követően láthatnánk (Liptói 2004). Például egy, az inkubáció első-második napján elhalt embrió blasztoderma az ötödik napon lehet ugyanolyan méretű, mint egy ötnapos embrióé, annak ellenére, hogy az embrió szervezete nem differenciálódik tovább.

Az eddigi genetikai és embriológiai vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy a hímivar és a nőivar egyaránt felelős a korai embrionális rendellenességek kialakításáért az utódaikban, bár a hímivar szerepe ebben erőteljesebbnek látszik.

A korai embrionális rendellenességek fenotípus szerinti csoportosítása

A korai rendellenes fejlődésű embriókat, valamint az embrionális szöveteket több kategóriába sorolják, tyúokban az inkubáció 4-5., lúdban a 6-7. napján megállapítva. Az osztályok jelölésére angol rövidítésük használatos. Ezek a következők (Abbot és Yee 1975, Szalay et al. 1989):

- ND (no development): a csírákorong nem indult fejlődésnek. Abban osztódás nem található, így metafázisok sem.

- PD (positive development): A tojás fertilis, azonban a differenciálódás az inkubáció alatt megáll, mielőtt az embrió kialakulhatott volna. A membrán csak ekto- és endodermális szöveteket tartalmaz.

- BWE (blastoderm without embryo): Embrió ebben az esetben sem található, viszont itt már mezodermális szövetek is létrejönnek. Így például véregek láthatók a tojásban.

- D (dead embryo): Az embrió mérete, fejlettsége alapján megállapítható, hogy az inkubáció melyik napján halt el.

- AE (abnormal embryo): Ha az élő embrió valamilyen morfológiai rendellenességet mutat (pl. nincs szeme), vagy mérete kicsi (lassú fejlődésű).

- NE (normal embryo): Korának megfelelő fejlettségű és küllemű embrió.

Elsőként Abbot és Yee (1975) számoltak be a PD (positive development) és a BWE (blastoderm without embryo) előfordulásáról, mint két szokatlan korai embrionális rendellenességről. Előbbi esetben az ektoderma és az endoderma alakult ki, míg utóbbi esetben a mezoderma is megjelent, amely a vérszigetek jelenlétét magyarázza.

A kategóriák meghatározása azért fontos, mivel ezekben nem található minden esetben kromoszóma-rendellenesség, mégis genetikai defektusra utalhatnak, illetve megkönnyítik a mutációk felismerését is.

Az igen korai (tojócsőben történő) embrióelhalás felismerése

A frissen tojt, termékeny tojás könnyen felismerhető. Az inkubáció első napján azonban a csírákorong jellegzetes formája eltűnik. A tojások vizsgálatát a gyakorlatban az inkubáció 4-7. napja között történő lámpázáskor lehet elvégezni. A terméketlen csírákorongon nagy vakuólumok láthatók, ami a termékenyre nem jellemző, ennek ellenére a csírákorongok esetleges termékenységének megállapítása (még a tojócsőben elhalt embrió kimutatása) sztereomikroszkóp használatával is bizonytalan. Propídium jodidos festés alkalmazásával a termékeny tojások (nagyon korán elhalt embriók) minden esetben jól azonosíthatók, mivel a kezelés hatására a sejtmagok fényesen világítanak. A módszer hatékonyságának tesztelésére a következő vizsgálatot végeztük.

Első lépésben 132 inkubátlan, vadas és fehér színű magyar kacsra tojást törtünk fel, amelyek Gödöllőről, a Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet állományából származtak. A feltört tojásokban szemre biztosan termékenynek látszó csírákorongok közül 50 darabot, valamint az összes szemre bizonytalanul látszó és a biztosan terméketlennek tűnőket festettük meg.

Ezt követően 160 inkubált, lámpázáskor „terméketlennek” minősített tojás csírákorongját festettük meg. Ehhez a pézsmaréce (*Cairina moschata*) és tőkés réce (*Anas platyrhynchos*) keresztezéséből származó tojásokat használtuk fel, amelyek a Sásdi Agro Rt. keltetőjéből származtak, az inkubáció 7. napján végzett lámpázás után. A vizuálisan terméketlennek tűnő csírákorongokat kimetszve 0,9%-os NaCl oldatba helyeztük. A csírákorong sejtjeit leválasztottuk a szikhártyáról. A mintákat tárgylemezen 5 µl 0,005 mg/ml-es propídium jodiddal (PI) megfestve fluoreszcens mikroszkóp segítségével értékeltük (Leica, 500× nagyítás).

A 132 inkubátlan kacsa tojás 72%-a volt termékeny. A fennmaradó 28%-nak 1/3-a terméketlen volt, míg 2/3-a szemre bizonytalan. A propídium jodidos festéssel a bizonytalan tojások 41%-a bizonyult termékenynek (9/22). 50 db szemre termékenynek látszó csírákorong festéssel is kivétel nélkül termékenynek bizonyult.

Az a 160 csírákorong, amely az inkubáció 7. napján végzett lámpázás során, valamint feltörés után szemre is terméketlennek látszott, festéssel 25%-ban termékenynek bizonyult.

Az eredmények azt mutatják, hogy még frissen tojt tojások esetében is szabad szemmel mindössze 80%-ban dönthető el biztosan, hogy az adott tojás termékeny volt-e avagy sem. Inkubáció után ez még nehezebb feladat, pedig esetenként hasznos mutató lehet a termékenység valódi mértékének megállapítása.

A valódi fertilitás tanulmányozása fontos kérdés a természetes vagy a mesterséges termékenyítés hatékonyságának és más technológiai paraméterek ellenőrzésének terén. Az ovulált petesejtet körülvevő külső és belső szikhártya között található spermiumok (OPVL spermiumok) számolásával kombinálva, a hímivarú állatok termékenyítő-képességének becslésére is használható.

Alkalmazási lehetőségek állatkerti madaraknál

Az elhalt embriók vizsgálata, az elhalások fenotípusának meghatározása megkönnyítheti az elhalás okának felderítését, az esetleges mutációk felismerését. A tojások mesterséges keltetése esetén, a lámpázás során „üresnek” minősített tojások vizsgálata indokolt, mivel a korai embrióelhalások egy része egyébként rejtve maradhat.

Mesterséges termékenyítés alkalmazása során a „valódi” termékenység ellenőrzésére, illetve a gyakorlatban a termékenyítés hatékonyságának ellenőrzésére javasolt a csírákorongok propídium jodidos festésének alkalmazása.

Összefoglalás

Az inkubáció első hat-hét napján bekövetkező embrióvesztést korai embrióelhalásnak nevezzük, amely kialakulása tartási, takarmányozási és tojáskezelési problémák mellett gyakran genetikai rendellenességekre vezethető vissza. Az elhalt embriók fenotípusának ismerete megkönnyíti az elhalás okának felderítését, az esetleges mutációk felismerését. Az igen korai, még a tojócsőben bekövetkező embrióelhalás detektálása nehéz, különösen inkubáció után. Az általunk először alkalmazott csírákorongok propídium jodidos festése ezt könnyen lehetővé teszi. Mesterséges termékenyítés során a „valódi” termékenység ellenőrzésére, illetve a gyakorlatban a termékenyítés hatékonyságának ellenőrzésére használható a csírákorongok propídium jodidos festése.

Irodalom

1. Abbot, U. K., Yee, G. W. (1975): Avian Genetics. In Handbook of Genetics. V.4. R. C. King, Ed. Plenum Publ. Corp. NY. 151-200.
2. Beaumont, C., Millet, N., Le Bihan-Duval, E., Kipi, A., Dupuy, V. (1997): Genetic parameters of survival to the different stages of embryonic death in laying hens. *Poultry Sci.* **76**: 1193-1196.
3. Balzak, W. F., Fechheimer, N.S. (1979): Gonosome-autosome translocation in fowl: Chromosome complements of gametes and viability of embryos derived from singly and doubly heterozygous cockerels. *J. Hered.* **70**: 407-412.
4. Bloom, S. E. (1969): Chromosome abnormalities in early chicken (*Gallus domesticus*) embryos. *Chromosoma (Berl.)* **28**: 357-369.
5. Bloom, S. E. (1970): Haploid chicken embryos: Evidence for diploid and triploid cell populations. *J. Hered.* **61**: 147-150.
6. Bloom, S. E., Buss, E. G. (1966): Triploid-diploid mosaic chicken embryo. *Science* **153**: 759-760.
7. Bogenfürst, F. (1992): Lúdtenyésztők kézikönyve. Új Nap Lap- és Könyvkiadó, Budapest.
8. Byerly, T. C. (1931): Time of occurrence and probable causes of mortality in chick embryos. Proc. 4th World's Poultry Congress, London. 178-186.
9. Fechheimer, N. S. (1990): Chromosomes of chickens. in *Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine. Domestic Animal Cytogenetics* Ed. McFeely R.A. **34**: 169-207.
10. Fechheimer, N. S., Lodge, J. R., Miller, R. C. (1970): Sex proportion of domestic chicken at 16 hours of incubation. *J. Reprod. Fert.* **23**: 365-367.
11. Hidas, A., Szalay, I., Liptói, K., Várkonyi, E. (1996): Cytogenetic analysis of early dead embryos in chicken breeding stocks. *Arch. Zootec.* **45**: 221-224.
12. Jassim, E. W., Grossman, M., Koops, W. J., Luykx, R. A. J. (1996): Multiphasic Analysis of Embryonic Mortality in Chickens. *Poultry Sci.* **75**: 464-471.
13. Landauer, W. (1951): The hatchability of chicken eggs as influenced by environment and heredity. Bulletin 262, revised. Storrs Agricult. Exp. Station, Univ. Connecticut, Storrs, CT.
14. Liptói K. (2004): A korai embrióelhalás genetikai okainak vizsgálata lúdban. Doktori értekezés. SZIE, Gödöllő.
15. Liptói, K., Hidas, A. (1998): Investigation of early dead embryos in goose populations. *Cytogenet. Cell Genet.* **81**: 138. (Abstr.)
16. Mong, S. J., Snyder, M. D., Fechheimer, N. S., Jaap, R. G. (1974): The origin of triploidy in chick (*Gallus domesticus*) embryos. *Can. J. Genet. Cytol.* **16**: 317-322.
17. Rol'nik, V. V. (1970): *Bird Embryology*. Keter Press, Jerusalem, Israel.
18. Romanoff, A. L. (1949): Critical periods and causes of death in avian embryonic development. *The Auk* **66**: 264-270.
19. Savage, T. F., DeFrank, M. P., Brean S. E. (1988): Blood ring: An early embryonic lethal condition in chicken. *J. Hered.* **79(2)**: 124-128.
20. Savage, T. F., Mirosh, L. W., Jones, J. L., Schneiderman, E. T. (1992): Blastoderm degeneration, an early embryonic failure in dwarf single comb white leghorn chickens. *J. Hered.* **83**: 249-254.
21. Shook, J. G., Stephenson, A. B., Biellier, H. V. (1971): Heritability estimates of differences in arbitrary embryonic mortality traits in turkeys. *Poultry Sci.* **50 (5)**: 1255.
22. Somes, R. G., Smyth, J. R. (1967): Prenatal, a sex-linked lethal mutation of the fowl. *J. Hered.* **58**: 25-29.
23. Szalay, I. (1989): Cytogenetic aspects of early embryonic development in meat type poultry. PhD Thesis, Hungarian Academy of Sciences, Budapest.
24. Telsoni, R. V., Jaap, R. G., Fechheimer, N. S. (1976): Cytogenetic and phenotypic effects of chromosome rearrangement involving the Z-chromosome and microchromosome. *Poultry Sci.* **56**: 193-201.
25. Zartman, D. L., Smith, A. L. (1975): The effect of five different chromosome mutations on embryonic survival studied in chicken. *Genetics.* **80**: 87-88.

A LÚDEMBRIÓ FEJLŐDÉSE AZ INKUBÁCIÓ SORÁN

Liptói Krisztina

Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet
liptoi@katki.hu

EMBRYONIC DEVELOPMENT OF GOOSE DURING INCUBATION

The poster shows the 29 days of normal embryonic development of Domestic goose in 69 photos. The morphological changes of the embryo, the place of the embryo in the egg, the development of the vascular system as well as the quantity change of the vitellus are well traceable. Similar work on goose cannot found in the literature. With its help the day of the embryonic death can be easily identified, just like the occurrent hatchery or genetical problems.

A poszter 69 képen mutatja be a házilúd embrionális fejlődését az inkubáció 29 napja során. Jól nyomon követhetők az embrión napról napra bekövetkező morfológiai változások, az embrió tojásban elfoglalt helyzete, az érrendszer fejlődése, valamint a szik mennyiségének alakulása. Lúd esetében ilyen jellegű munka még nem található meg a szakirodalomban. Segítségével a keltetői gyakorlatban az embrióelhalások időpontja könnyebben azonosítható, az esetleges keltetői vagy genetikai problémák egyszerűbben felderíthetők.

CSÁSZÁRMETSZÉS TÖRPE SELYEMMAJMON (*CEBUELLA PYGMAEA*)

Papp Antal¹ – Sátorhelyi Tamás² – Pappné Horváth Hajnalka¹

¹Talpas Állatorvosi Rendelő

²Ófalu Állatorvosi Rendelő

pappantal@axelero.hu

CAESAREAN SECTION ON A PYGMY MARMOSET (*CEBUELLA PYGMAEA*)

Caesarean section was made on a pygmy marmoset because of dystocia. Anesthesia was induced in a plexi anesthesia chamber filled with 4% isoflurane dissolved in pure oxygene. After induction, anesthesia was maintained with 2% isoflurane applied via face mask. During the operation the animal was laid on its back on a heating mat. After median laparotomy we entered the uterus through an incision on the belly. Two babies were removed alive. Placentas were easily removed without getting major bleeding. For closure we used synthetic absorbable monofilament suture material thickness 5/0 for the uterus, 4/0 for the abdominal wall and 5/0 for the subcutis and the skin. Both babies and the mother survived the operation and are feeling OK till now.

A törpe selyemmajom (*Cebuella pygmaea*) a világ legkisebb valódi majma. Eredeti élőhelye a dél-amerikai esőerdő, ahol nagy családokban él. A kb. 140 napos vemhesség után szőrösen, nyitott szemmel megszülető bábik gondozásában mindkét szülő, sőt időnként az idősebb testvérek is részt vesznek

A Tropicarium Állatkert selyemmajom nőténye 2004. szeptember 24-én kezdett fialni. A fialás elakadt, az első magzat testének megszületése után a fej beékelődött a szülőútba, és az anya a kölyköt így, nyakánál fogva hurcolta. Mivel ez a magzat már biztosan elhullott, és helyzeténél fogva veszélyeztette a többiekét is, állatorvosi beavatkozás vált szükségessé. A befogott anyát plexi dobozba zártuk, amelybe 4% isoflurant (Foran; Abbott) tartalmazó oxigéngázt vezettünk. Az anesztézia ily módon való indukciója után azt ugyanennek a gáznak 2%-os koncentrációjával tartottuk fenn, melyet maszkon keresztül adagoltunk. Altatott állapotban lehetővé vált a beékelődött magzat eltávolítása. Mivel a befogás és az altatás okozta stressz hatása a további fialásra nehezen lett volna kiszámítható, császármetszés mellett döntöttünk.

A műtéti terület előkészítése előtt 10 ml fiziologiás konyhasóoldatban feloldott 5% glucose-t infundáltunk s.c., valamint 3 mg Cefuroximot (Zinacef inj., Glaxo) i.m. Ezután az állatot melegítőpárnára fektettük, és hanyattfekvő pozícióban rögzítettük. A laparotomiát nem a humán gyakorlatban már elterjedt „bikini vonal alatti” harántmetszéssel, hanem median síkban végeztük. A hasfal a linea alba vonalában egész vékony, szinte hártyszerű volt. A méh sebbe való beemelése után sejthetővé vált, hogy abban még két magzat található. Egy metszést ejtettünk a méh középvonalában, ügyelve a nagyobb erek elkerülésére. Mindkét magzat eltávolítása egyszerű volt, enyhe húzásra a méhlepények is könnyen leváltak, jelentős vérzés nem történt. A magzatok a méhből való eltávolítást követő néhány másodpercen belül mozogni kezdtek, jellegzetes ciripelő hangot hallattak, és erősen kapaszkodtak az őket ellátó személy ujjába. Miután meggyőződünk róla, hogy nincs vérzés, zártuk a sebeket. Ehhez szintetikus monofil sebvarró fonalat használtunk.(Polydox; Chirmax) A méh zárását 5/0 fonallal végeztük egy rétegben, tova futó befelé fordító varrattal. A hasfal zárásához 4/0 fonalat használtunk „X” öltésekkel. A subcutis 5/0 tova futó varratsorral való zárása után a bőrt ugyanennek a fonalnak egyszerű csomós öltéseivel zártuk. A bőr alatti kötőszövet varrásakor gondot fordítottunk arra, hogy már ez a varratsor is szépen egymás mellé fektesse a sebszéleket, ha az állat esetleg idő előtt eltávolítaná magából a bőrvarratokat, akkor se nyíljon meg a seb. A műtét végeztével az anyát visszahelyeztük a már bódításkor is használt plexi dobozba, amelyet kívülről lámpával melegítettünk. Pár perc múlva kezdte visszanyerni

eszméletét, kb. 10 perc múlva már teljesen éber volt. Ekkor betettük hozzá a kölyköket, akik azonnal anyjuk bundájába kapaszkodtak.

Hazatérés után a gyógyulás eseménytelen volt, otthon az apa azonnal pártfogásába vette az egyik kölyköt. A műtétet követő 3 napban az anya napi 2×3 mg cefuroximot (Zinnat szuszpenzió, Glaxo) kapott per os. Ezt a gyermekek számára készült édeskés ízű szirupot gond nélkül elfogyasztotta. Az anyának szemmel láthatóan elég teje volt, a kölykök szépen cseperedtek. A bőrvarratokat nem távolítottuk el.

Jelenleg az anya – hasa növekedő méretéből ítélve – ismét vemhes lehet.

SZEMELVÉNYEK A PÁPASZEMES PINGVINEK (*SPHENISCUS DEMERSUS*) SZAPORODÁSBIOLOGIÁJÁBÓL

Pintér Ágnes

Fővárosi Állat és Növénykert
tamerlan@freestart.hu

SELECTIONS FROM THE REPRODUCTION BIOLOGY OF THE JACKASS PENGUIN (*SPHENISCUS DEMERSUS*)

We have been keeping jackass or Africa penguins (*Spheniscus demersus*) for 20 years. During this time questions and problems presented themselves on occasion which were solved partly successful. We handraised chicks effectively and we used artificial eggs to avoid breaking the original eggs. It is still a question whether the prevention of avian malaria could effect fertility.

A Budapesti Állatkertben 1985 decembere, tehát 20 éve tartunk folyamatosan pápaszemes vagy afrikai pingvineket. A kezdeti 8 fős csoport a minimális létszámnak bizonyult a szaporodáshoz, és 1989-ben az akkori egyetlen párunk tojást rakott. Mesterséges körülmények között a tojásrakás nem korlátozódik egyetlen évszakra, és gyakori a terméketlenség. Ez utóbbinak oka a párok ügyetlensége, esetlegesen a kis területre korlátozott nagy számú egyed, akik egymást zavarhatják. Megfigyeléseink szerint viszont terméketlenséget okozhat a madármalária elleni prevenció is (ez még konkrét bizonyításra vár). A mi éghajlatunk nagyon kedvez e betegség kialakulásának, amely – mondhatjuk – a pápaszemes pingvinek fajspecifikus betegsége (Lényegesen érzékenyebbek rá, mint a Humboldt pingvinek). Májustól októberig megelőző gyógyszerelést folytatunk a pingvinszapatban, és megfigyelhető, hogy ennek függvényében, mint alakul a költés eredménye, illetve eredménytelensége.

1994 óta viszonylag rendszeresen van szaporulat, és ezzel kapcsolatban ismét felvetődött néhány újabb probléma. 1996-tól több fiókanevelő madarunk – a nevelés 40-60 napja között hirtelen, előzmények nélkül elpusztult. A kórok: keringési rendszer összeomlása. Ez – a későbbiek ismeretében – a táplálkozásukkal függhet össze. A korábbi protokollnak megfelelően a fagyasztott heringet, amivel etetjük a madarakat, folyó hidegvíz alatt olvasztottuk ki. 2000-ben – többek között – víztakarékossági okokból áttértünk a szárazon való felengedésre (vagyis „szobahőmérsékleten” szétszedhetővé olvad a haltábla, bekerül egy normál hűtőbe, ahonnan etetés előtt egy órával kivéve víz alá tesszük). És bár az okát nem tudjuk, megszűnt a nevelőmadarak pusztulása.

A madarak által költött tojások termékenysége vagy terméketlensége csak a kotlási idő (38-42 nap) lejárta után derülhetett ki korábban. Ha az embrió korán elhalt, már nem volt felderíthető, hiszen gyakorlatilag szétbomlott, mire a madarak alól kikerült. Ezért az eredetivel megegyező méretű, színű és súlyú fátjásokat készítettünk. Ezeket (amikor mindkét tojást lerakta a tojó) kicseréltük és keltetőgépbbe (Schumacher típusú) helyeztük el. Itt a fejlődés 10. napjától lámpáztuk, és így pontosabb képet kaptunk a termékenységről. Ha a tojás fias volt, a kivágás, illetve később a kikelés után közvetlenül visszahelyeztük a szülőmadár alá, aki ezeket gondosan tovább nevelte. Ezzel a módszerrel kiküszöböltük az esetleges traumás sérüléseket is, és eddig négy fiókat neveltünk fel. Előfordult, hogy amíg a tojások gépben voltak, a szülőpár valamilyen okból abbahagyta a kotlást. Ilyenkor – ha volt más fészkelő pár – dajkásítottuk a kikelő fiókat, vagy mesterségesen neveltük fel a csemetét. Természetesen ez utóbbi csak végszükség esetén lép életbe; így két madarat neveltünk fel problémamentesen.

Végül az is problémát okoz, hogy több egynemű párunk is van, akik szorgalmasan, de eredménytelenül rakják le tojásaikat. Megoldásra vár, hogy miként „szakítsuk szét” ezeket a párokat, és hogyan „tereljük” össze az időközben felnőtt vagy a csapathoz külföldről érkezett hím madarakkal.

MOLEKULÁRIS IVAR- ÉS SZÁRMAZÁS MEGHATÁROZÁS MADARAKBAN

Révay Tamás – Dávid Gergő – Edviné Meleg Erika – Hidas András

Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Gödöllő
revay@katki.hu, hidas@katki.hu

MOLECULAR SEX DETERMINATION AND PARENTAGE ANALYSIS IN BIRDS

The exact knowledge of sex and/or genetic relationship of birds are necessary for any breeding, wildlife conservation or ecological programs. Molecular investigation of DNA extracted from the easily accessible blood or feather samples provides fast and sensitive alternative.

A tenyésztői–génmegőrzési programokban, ökológiai vizsgálatokban elengedhetetlen a madár ivarának, rokonsági kapcsolatainak ismerete. A DNS szekvenciában található egyedi vagy az adott csoportra jellemző vagy a két ivarban eltérő tulajdonságok molekuláris szintű kimutatása gyors és rendkívül érzékeny vizsgálati lehetőséget biztosít. További előny a könnyen biztosítható, kis mintaigény (vér, toll).

Megkülönböztető erejű fenotípusos jegyek hiányában a mindkét ivari kromoszómán megtalálható CHD gén PCR (polimeráz-láncreakció) amplifikációjával vizsgálható az ivar. A Z- és W-kromoszómális kópiák a gén eltérő intronális hossza miatt két egymástól elektroforézissel elválasztható terméket adnak.

Egyedek, családok, populációk összehasonlítására – amennyiben a szakirodalomból ismert – mikroszatellit lókuszek, molekulárisan ismeretlen fajok esetén RAPD (random sokszorosított DNS) polimorfizmusok vizsgálatával van lehetőségünk. A technikák alkalmasságát néhány általunk vizsgált fajon prezentáljuk.

NUMERIKUS KROMOSZÓMA POLIMORFIZMUS A KÉTUJJÚ LAJHÁRBAN (*CHOLOEPUS DIDACTYLUS*, L.)

Révay Tamás¹ – P. Tardy Erika² – Gustavsson, Ingemar³ – Mezősi László⁴ –
Sós Endre⁴ – Kovács András⁵

¹Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Gödöllő

²Semmelweis Egyetem Egészségügyi Főiskolai Kar, Budapest

³Swedish University of Agricultural Sciences, Department of Animal Breeding and Genetics,
Uppsala, Sweden

⁴Fővárosi Állat- és Növénykert, Budapest

⁵Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Herceghalom
kovacs_cyto@hotmail.com

NUMERICAL CHROMOSOME POLYMORPHISM IN THE TWO-TOED SLOTH (*CHOLOEPUS DIDACTYLUS*, L.)

The cytotaxonomic situation is far from clear in two-toed sloths. Five different karyotypes ($2n=53-64$) with great morphological variations, including 2-7 unpaired chromosomes XX and X0 females, males with and without a Y/A translocation were described in five specimens by Jorge et al. We found an even higher diploid number $2n=65$ in a male carrying the interesting Y/A translocation and $2n=64$ in a female. The same male karyotype was described by Dobigny et al. (unpublished). The extreme variation in diploid number necessitates further systematic and comprehensive cytogenetic investigation, and suggests the existence of more chromosomal races or even species.

A kétujjú lajhár a citogenetika egyik fehér foltja. Jorge és mtsai öt különböző kariotípust írtak le öt vizsgált állatban. A diploid kromoszómaszám 53 és 64 között változott, a sávozás nélküli kariotípus rendkívüli változatosságot mutatott (2-7 páratlan kromoszóma, XX, X0 nőstény, Y/A transzlokáció néhány hím esetében). A Fővárosi Állat- és Növénykert két példányát megvizsgálva $2n=64$ kromoszómával rendelkező nőstényt és $2n=65$ kromoszómájú hímét találtunk, amely egy Y/A transzlokációt hordozott. Ez az eddig leírt legmagasabb kromoszóma szám ebben a fajban. Hasonló kromoszómakészletet talált Dobigny és mtsai (2005, nem közölt adat). Az eddig leírt mintákban talált polimorfizmus jelen adatainkból nem magyarázható, a további vizsgálatokat és az állatkerti tenyésztést megelőző kromoszómális ellenőrzés fontosságát mutatja.

SZTEROIDHORMONOK TOJÁSSZIKBÓL TÖRTÉNŐ MEGHATÁROZÁSA, MINT A STRESSZHATÁSOK ÉS AZ „ANYAI BEFEKTETÉS” DIAGNOSZTIKAI LEHETŐSÉGE MADARAKBAN

Szőke Zsuzsanna¹ – Biczó András² – Barna Judit¹ – Péczely Péte²

¹Kisállattenyésztési- és Takarmányozási Kutatóintézet, Baromfi Szaporodásbiológiai Osztály

²Szent István Egyetem, Szaporodásbiológiai Laboratórium

szoke@katki.hu

YOLK STEROID ANALYSIS AS DIAGNOSTIC POSSIBILITY OF STRESS EFFECTS AND "MATERNAL INVESTMENT"

Investigation of steroids in avian egg yolk date back to the 1920s, and in last decade Schwabl (1993) reintroduced the question of the importance of steroid hormones in avian eggs. He found that canary and zebra finch egg yolks contain high levels of androgens (testosterone, dihydrotestosterone, and androstendion), comparatively low levels of estradiol and very low levels of corticosterone. After this result more hormones have so far been found in avian eggs: several thyroid hormones and progesterone.

In our lab we use a modified method of Schwabl's yolk steroid analysis: before the extraction an emulsification with Triton-X-100 is used. This method was successfully applied in the following species: mallard, guinea fowl, collared flycatcher, common cuckoo, domestic fowl great tit and dipper. We examined the effects of handling stress in mallard, in domestic hen and guinea fowl on the embryonic development and the steroid deposition into the yolk. After stress treatments the level of corticosterone (B) levels increased in the faeces and it appeared in yolk too. The handling stress decreased hatching rate in all species as well.

Irodalmi áttekintés

A baromfitenyésztés és az állatkerti elhelyezésben lévő madarak esetében két szempont is indokolja a tojásszik biokémiai analízisét. Mindkettő az utódgenerációt ért ún. „non-genomikus” hatásokat érinti, ugyanis a madárfiókák fenotípusát nemcsak a genetikai örökítőanyag átadása befolyásolja, hanem egyéb epigenetikus maternális hatások is. Az együttes anyai hatást a tojásszikbe deponált különböző biológiailag aktív vegyületek készletének átadása jelenti. Egyrészt a madarak időként szükségessé váló transzportja, fogságban tartása, illetve bármilyen zavaró beavatkozás károsíthatja a reprodukciót, sőt az utódokban is hosszantartó változásokat okozhat. Másrészt ismeretes az, hogy a vadon élő madarakban, hogy a szülők (tojó?) befolyásolni képesek a fészekaljtszámot, amely korrelációban áll a környezet kedvezőtlen megváltozásaival (pl. csökkent táplálék abundancia, éghajlatváltozás)

Bár a madártojások szteroid tartalmának vizsgálatai a 1920-as évekig nyúlnak vissza, a technikai áttörést mintegy egy évtizede Schwabl (1993) munkássága hozta, aki a szikból radioimmuno assay-vel rutinszerűen megoldotta a különböző szteroid hormonok kimutatását. Vizsgálatai alapján bizonyítást nyert, hogy a kanári (*Serinus canaria*) tojásaiban a tesztoszteron mennyiség fokozatosan nőtt a lerakott tojások számával. A feltevés szerint a növekvő szteroid koncentráció (főként az androgén) kompenzálja a később lerakott tojásból kikelő utód „hátrányosabb” helyzetét (Schwabl, 1996), valamint a kelés szinkronizálásához is hozzájárul, emellett a szik tesztoszteron tartalma és a kikelt fiókák agresszivitása és életrevalósága között határozott pozitív összefüggés volt kimutatható (Eising és mtsai, 2001). A szikben található androgén – elsősorban a tesztoszteron koncentráció – erős pozitív korrelációt mutat a kikeléskori izomtömeggel (Lipar, 2001), intenzívebb növekedési eréllyel, és ugyanakkor csökkent a kelési asszinkronitás (Eising és mtsai, 2001). Strasser és Schwabl (2000) ezenkívül azt is megfigyelte, hogy a magas androgénszint a csoportban betöltött magasabb dominancia szinttel és a jobb túléléssel, rátermettséggel áll összefüggésben.

Az emlősöknél már régóta ismert, hogy ha egy vemhes nősténynél glükokortikoid kezelést alkalmaznak, akkor az utód(ok) születési testtömege szignifikánsan alacsonyabb lesz, mint a kontroll csoportban (Seckl, 2001). Hayward és Wingfield (2004) vizsgálatai azt

mutatták, hogy japán fürjtojókba ültetett kortikoszteron-implantátum hatására magasabb kortikoszteron koncentrációt mértek a tojásszikben, majd a kelési százalék alacsonyabb értéket mutatott, sőt ezenkívül ezek a csibék lassabban is nőttek, a kontroll társaikhoz képest.

A tojás szikanyagának szteroid tartalmát több tényező határozhatja meg: a fejlődő embrió ivara, a tojó párjának „minősége”, valamint a környezeti viszonyok a költési időszakban.

Vizsgálati eredményeink

Szteroid biokémiai vizsgálataink több vadmadárfajra (tőkés réce, örvös légykapó, széncinege, kakukk, vízirigó), illetve domesztikált fajra (házi tyúk, gyöngytyúk) terjedtek ki. Laboratóriumunkban a szteroid analízisre Schwabl-féle eljárást alkalmazzuk, azzal a kiegészítéssel, hogy a szteroid extrakció előtt a Triton-X-100 1 v/v %-os oldatával emulgeálását végezzünk – növelvén az extrakció hatékonyságát. A fogságban tartott, szemidomesztikált tőkés récék estében a handling stressz hatását vizsgáltuk a tojó és utódai vonatkozásában, amelyet az állatok háromszori befogásával és szállító dobozba történő helyezésével értünk el. Ezt a procedúrát három egymást követő napon megismételtük. A kezeléseket alatt 4 óránként történt bélsárgyűjtés a tojóktól, és a 3. naptól kezdve megkezdődött a tojásgyűjtés is. A kezelés hatására a tojókban bekövetkező kortikoszteron (B), tesztoszteron (T), 17- β -ösztadiol (E2), progeszteron (P4) és dehidroepiandrosteron (DHEA) koncentráció-változásokat a bélsárból történő szteroid analízissel (RIA) detektáltuk. A tojások egy részét (napi 2-4 tojás/csoport) a 84 órán keresztül inkubáltuk, majd a tojás felnyitása után rögzítettük az embrió paramétereit, majd az embrió eltávolítása következett a későbbi ivar-meghatározásokra. A tojásszikből is meghatároztuk a fent említett szteroidokat. A többi tojást kikeltettük. A kezelt csoport kelési százaléka mintegy 20%-kal elmaradt a kontrollhoz képest, és ez a különbség jórészt a korai embrió elhalásból adódott.

A stressz hatására a tojók bélsarában megnövekedett a B koncentráció, és ez megjelent a szikben is. Mind a nőivarú, mind a hímivarú embriót tartalmazó tojások szik B koncentrációja szignifikánsan magasabb értéket mutatott a kontrollokénál. A kezelt tojók bélsarában mérhető T mennyiség szintén megemelkedett, azonban csak a hímivarú embriót tartalmazó tojások szik T tartalma mutatott hasonló változást, a nőivarnál a két csoport között nem volt különbség. Feltehetően a magasabb szikben mérhető tesztoszteron hatására a kezelt csoport fiókáinak kelése mintegy 12-24 órával megelőzte a kontroll csoportot. Ez a megfigyelésünk megegyezik Eising (2001) közlésével.

A DHEA esetében a nőivarú embriót tartalmazó tojásokban nem tapasztalható szignifikáns különbség. Ezzel szemben a hímivart tartalmazó tojások szikanyagában a kontroll csoporthoz képest szignifikáns csökkenés következett be. A tojók fekális DHEA értékeinek tekintetében nem volt különbség a csoportok között.

Az E2-koncentrációk vonatkozásában a nőivarú embriót tartalmazó szikben találtunk eltérést, a stresszelt csoportban szignifikánsan magasabb koncentráció volt, míg a hímivart tartalmazó tojások E2 tartalma nem változott. A kezelt csoport fekális értékei alacsonyabbak voltak a kontrollhoz képest. A szik P4 szintek a kontroll és stresszelt csoportokban, mindkét ivarban azonosan alakultak. A fekális P4 koncentrációk viszont alacsonyabb értéket mutattak a kezelt csoportban.

Tyúk fajon végzett vizsgálataink során arra a kérdésre kerestük a választ, hogy a mesterséges termékenyítés mekkora stresszt jelent a tojóknak. Friss spermával heti 3 alkalommal inszemináltuk őket. Kontroll csoportként a természetes pázás (1:9 ivararányt) alkalmaztunk. Az első termékenyítéstől számított harmadik naptól gyűjtöttük a tojásokat. A keltetőbe hetente raktuk be a tojásokat, és 5 napig inkubáltuk őket. Majd ezt követően értékeltük a tojásokban fejlődő embriókat, valamint a szikból mintát vettünk, és kortikoszteron koncentrációkat mértük.

A mesterséges termékenyítést követően megnő az abnormális, illetve elhalt embriók (2-23%) aránya. Ez az érték a 4-5. hétre lecsökken, és a 6. és 7. héten már 100%-ban élő, normál

fejlődésű embriót kaptunk, ekkor történhetett a tojók adaptációja a folyamatos és rendszeres beavatkozáshoz.

Érdekes összefüggést figyeltünk meg a nagyméretű tojások és az elhalt, illetve abnormális embriók tekintetében. A mesterséges termékenyítés, mint handling stressz glükokortikoid koncentráció emelkedést eredményezett a tojásszikben, valamint ezzel párhuzamosan emelkedett a tojástömeg (hasonló jelenséget tapasztaltunk a tőkés réce, illetve gyöngytyúk esetében is). Megfigyeltük, hogy a természetes és az inszeminált csoport ép, normál fejlettségű embriót tartalmazó tojásainak mérete megegyezett.

A szikben mérhető kortikoszteron koncentrációt tekintve az inszeminálások 1-4. hetében vizsgált tojásoknál szignifikánsan magasabb értéket mértünk, mint a hagyományos, természetes párzású csoport ezen időszakból származó tojásainál. Sőt, itt külön értékeltük az elhalt embriókat, és még magasabb értékeket kaptunk az inszeminált csoport élő, normális embriót tartalmazó tojásainál bár ezen esetben a szignifikancia épp a határon volt ($p=0,053$).

A kísérleteink eredményei a stressz anyai szteroid depozíciót befolyásoló hatását támasztják alá, mely hatással lehet a kelési ráta csökkenésére, majd az utódnemzedék fejlődésére, fitnessére is. A madaraink ezzel a megváltozott szteroid depozícióval jelzik (jelezhetik) a számukra szuboptimális körülményeket.

Irodalom

1. Eising, C., Eikenaar, C., Schwabl, H., Groothuis, T. G. G. (2001): Maternal androgens in black-headed gull (*Larus ridibundus*) eggs: consequences for chick development. Proc.R. Soc. Lond. **268**: 839-846.
2. Hayward, L. S., Wingfield, J. C. (2004): Maternal corticosterone is transferred to avian yolk and may alter offspring growth and adult phenotype. Gen. Comp. Endocrinol. **135(3)**: 365-71.
3. Lipar, J. L. (2001): Yolk steroids and the development of the hatching muscle in nestling European Starlings. J. Avian Biol. **32**: 231-238.
4. Schwabl, H. (1993): Yolk is a source of maternal testosterone for developing birds. Proc. Natl. Acad. Sci. Vol. **90**: 11446-11450.
5. Schwabl, H. (1996): Maternal testosterone in the avian egg enhances postnatal growth. Comp. Biochem. Phys. A. **114**: 271-276
6. Seckl, J. R. (2001): Glucocorticoid programming of the fetus; adult phenotypes and molecular mechanism. Molecular and Cellular Endocrinology. **185**: 61-71.
7. Strasser, R., Schwabl, H. (2000): Organizational effects of yolk testosterone in the house sparrow Society for neuroscience Abstracts. **26(1-2)**: 115.5.

MADÁR HÍMIVARSEJTEK ÉS EMBRIONÁLIS SEJTEK MÉLYHÜTÉSSEL TÖRTÉNŐ TARTÓSÍTÁSA, MINT *EX SITU* GÉNMEGŐRZÉSI MÓDSZER

Varga Ákos – Végi Barbara – Várkonyi Eszter – Barna Judit

Kisállattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet, Szaporodásbiológiai Osztály
varga@katki.hu

CRYOPRESERVATION OF AVIAN SPERMATOZOA AND EARLY EMBRYONIC CELLS, AS *EX SITU* GENE CONSERVATION METHODS

Present situation of two types of *ex situ* gene conservation of birds are shown in the paper, namely the sperm cryopreservation and the manipulation of early embryonic cells of fertile eggs. The difficulties, the advantages and disadvantages of the mentioned techniques are underlined and some of our own experiments on these projects are presented here.

A téma aktualitása, jelentősége

A genetikai erózió megakadályozása érdekében világszerte génbankokat hoztak és hoznak létre, ahol viszonylag kisebb állományokban próbálják fenntartani a ritka állatfajokat és háziállat-fajtákat. Az ilyen *in situ* génbankok nagy hátránya a költségességen kívül az a kockázat, amelyek a betegségek betörése, egyes ragadozók okozta pusztítások, tűzvész és más természeti katasztrófák jelentenek. Mindenképpen indokolt tehát az *in situ* génbankok mellett *ex situ* génbankok létrehozása, amelyek mintegy biztonsági tartalékként szolgálnak. *Ex situ* génbank kialakítása történhet celluláris szinten a genetikai anyagot hordozó ivarsejtek, embriók, embrionális sejtek vagy embrionális szövetek fagyasztásával, illetve subcelluláris szinten az ivarsejtekben lévő teljes DNS-molekuláknak vagy egyes DNS-fragmentumoknak a mélyhűtéses tárolásával (Bodó, 1991; Barna és Varga, 2002).

A baromfi szaporodásbiológiai osztályon rendelkezünk valamennyi szükséges felszereléssel a hímivarsejtek és a korai embrionális sejtek vizsgálatára, rövid vagy hosszútávú, mélyhűtéssel történő tartósítására. A korábban elindított szaporodásbiológiai kutatások során már folytattunk kísérleteket kakasok, pulykák, és fodrostollú magyar gunarak ondómintáinak mélyhűtésére biztató eredményekkel (saját vizsgálatok [K+F, Széchenyi pályázatok, 2002, Innováció pályázat, 2004]; Varga *et al.*, 2003, Varga *et al.*, 2004).

Hímivarsejtek mélyhűtéses tárolása baromfifajták esetében

A mélyhűtési eljárások kidolgozásánál figyelembe kell venni, hogy a legoptimálisabb ondóhígító, hűtési, felolvasztási sebesség nemcsak madárfajonként, de a mélyhűtéshez használt krioprotektáns anyagoként is eltérő. A megfelelő termékenyítőképesség eléréséhez az ondóhígítók tulajdonságait, összetételét, a hígítási arányt, a mélyhűtés és a felolvasztás körülményeit madárfajonként kell kidolgozni, vagy a meglévőket módosítani (Bellagamba *et al.*, 1993; Gee, 1995; Wishart, 1995/a; Surai és Wishart, 1996).

A legtöbb módszert a hímivarsejtek fagyasztására a baromfifajok közül a házityúknál fejlesztették ki. Ezek egy részében krioprotektánsként glicerint (Gly), más részében dimetil-szulfoxidot (DMSO), dimetil-acetamidot (DMA) vagy dimetil-formamidot (DMF) használtak. Seigneurin és Blesbois (1995), Schramm (1991) és Tselutin és munkatársai (1995) módszereinek összehasonlításakor a felolvasztott ondómintában a hímivarsejtek 32-46%-a bizonyult élőnek, és 3-4 naponta megfelelő számú spermium inszeminálásakor a tojások 76-88%-a volt termékeny (Chalah *et al.*, 1999). Pulyka, házi lúd, házi kacska esetében alkalmazott mélyhűtési módszereket és eredményeket az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat

Módszerek spermiumok mélyhütéses tartósítására

baromfifaj	krioprotektáns (v%)	mélyhütési eljárás	termékenység	referencia
pulyka	EG (5,6%)	PF	55-84%	Schramm és Hübner, 1989
	DMA (8%)	pellet-módszer (folyékony nitrogénbe)	84-95%	Tselutin et al, 1995
házi lúd	Gly(10%)	PF, 1°C/perc	31,6-41%	Tsu et al, 1993
	DMA(9%)	pellet-módszer (szárzjégre)	68-98%	Tai et al, 2001
	DMA(4%)	pellet-módszer (fluoroplastic lemezre)	57-77%	Tselutin et al, 1995
	DMF(6%)	PF, 60°C/perc	87,2-92,9%	Lukaszewicz, 2001
házi kacska	DMA (5%)	PF	75-83%	Tselutin et al, 1995
pézsmaréce	EG (6-8%)	PF, 1°C/perc	80%	Schramm és Hübner, 1989

PF: programozható fagyasztókészülékkel történő mélyhűtés

Nem domesztikált madárfajok hímivarsejtjeinek mélyhütéses tárolása

A nem házasított madárfajok ondósejtjeinek mélyhütéses tárolására és ezekkel történő mesterséges termékenyítésre irányuló vizsgálatok a kipusztulástól fenyegetett madárfajok fenntartásának elősegítése érdekében már több évtizede folynak, és számos madárfajnál sikerre vezettek (2. táblázat). Az eljárások a baromfiféléknél alkalmazott módszerekből indulnak ki. Természetesen minden új fajnál ki kell dolgozni a megfelelő ondóvételi és mélyhütési módszereket. Eddig a legtöbb eredményt *Duplaix és Sexton (1983)* által, eredetileg házityúk kakastól nyert ondóminták mélyhütésére kifejlesztett módszer módosításaival érték el. Az ondóhígító (BPSE) kémhatását és ozmolalitását, valamint a krioprotektáns koncentrációját az adott madárfaj ondómintáinak vizsgálata alapján állítják be. A 4-8% DMSO-t tartalmazó ondóhígítóval hígított, műszalmákba felszívott ondómintákat hűtik 5°C-ra, majd alkoholfürdőben -20°C-ig 1°C/perc, nitrogéngőzben -80°C-ig 50°C/perc sebességgel, végül folyékony nitrogénbe helyezik (*Gee, 1995*).

2. táblázat

Különböző nem domesztikált madárfajok esetében sikeresen alkalmazott mélyhütési eljárások

madárfaj	hígító (pH, ozmol)	krioprotektáns (v%)	mélyhütési eljárás	referencia
<i>Grus canadensis tabida</i>	BPSE (7,8; 310)	DMSO (6%)	Sexton (1977) módosítva	Gee et al, 1985
<i>Branta canadensis leucoparia</i>	BPSE (7,5; 270)	DMSO (7%)	Sexton (1977) módosítva	Gee és Sexton, 1990
<i>Falco sparverius</i>	BPSE (7,5; 330)	DMSO (6-10%)	Sexton (1977) módosítva	Gee et al, 1993
<i>Vultur gryphus</i>	BPSE (7,5; 330)	DMSO (8-12%)	Sexton (1977) módosítva	Gee, 1995
<i>Passer domesticus</i>	BPSE (7,0; 308)	DMSO (8-12%)	Sexton (1977) módosítva	Gee, 1983
<i>Phasianus spp.</i> , <i>Lophura spp.</i>	Különböző hígítók	DMA (6%)	Tselutin et al, (1995)	Saint Jalme et al, 2003

<i>Chlamydotis undulata undulata</i>	Lake-hígító	DMA (8%)	Tselutin et al, (1995)	Hartley et al, 1999
<i>Spheniscus magellanicus</i> ¹	BPSE (7.4; 430)	DMSO (8%) vagy EG (8%)	Műszalma, szárazjégre téve (5 perc)	O'Brien et al, 1999
<i>Falco peregrinus</i>	Lake-hígító	Gly (13.6%)	Műszalma, 6°C/perc	Parks et al, 1986
<i>Melopsittacus undulatus</i>		Gly (13.6%)	Polietilén-csővek, 0,6 °C/perc	Samour et al, 1988

¹Előzetes tanulmányok, inszeminálási próbálkozás nem történt

Korai embrionális sejtek tartósítása

A korai embrionális sejtekkel végzett manipulációk viszonylag új keletűek, a 90-es évek elejétől foglalkoznak a madarak teljes genomjának megőrzésére irányuló vizsgálatokkal. Mélyhűtéses tartósításukra két módszer áll rendelkezésre. Az inkubátlan termékeny tojások csírákorongjának szuszpendálásával előállított blasztodermális sejteket (blastodermal cells, BCs) vagy pedig 50 óra inkubálás után az embrió dorzális aortájából kinyert őscsírarsejteket (primordial germ cells, PGCs) lehet fagyasztani. Az így tárolt sejteket felolvasztás után ugyanolyan stádiumban lévő recipiens tojásokba juttatják. Amennyiben a recipiens tojásban osztódni képesek ezek a sejtek, és beépülnek a gonádokba is, ivari (germline) kimérákról beszélünk, amelyek képesek a donor génállományát tartalmazó ivarsejteket termelni. Ha ellentétes nemű ivari kimérákat sikerül előállítani ugyanabból a tenyészcsoportból, akkor pusztán fagyasztott sejtek felhasználásával lehetővé válik a donor tenyészcsoportot újraéleszteni (Pokorny, 2002).

A kiméraság megjelenése megállapítható fenotípusosan, a donor sejtek által hordozott pigmentáltság utódokon történő megjelenése alapján a 14 napos embriók vagy a kikelt csibék vizsgálatával (Carsience et al., 1993) vagy DNS markerek segítségével (saját vizsgálatok [FVM, Széchenyi pályázatok, 2002]).

A BCs kinyerésére használt inkubátlan tojások csírákorongja körülbelül 50 000 sejtet tartalmaz (Eyal-Giladi és Kochav, 1976). Elsőként 1990-ben mutatták ki, hogy a blasztodermális sejtek átültethetők ugyanilyen stádiumú csírákorongok szubgerminális üregébe, és ezek szomatikus, valamint germline kimérákat képezhetnek (Petite et al., 1990). Az izolált blasztodermális sejtek fagyasztására történő próbálkozásokhoz krioprotektánsként főleg dimetilszulfoxidot (DMSO) használtak (Naito et al., 1992; Reedy et al., 1995; Kino et al., 1997; Pokorny et al., 2002). A kiméraság megjelenésének gyakorisága még viszonylag alacsony friss és fagyasztott sejtek beültetése esetén egyaránt (15%, illetve 4,5%) (Reedy et al., 1995; saját vizsgálatok [FVM, Széchenyi pályázatok, 2002]). Az ivari kimérák egymás közötti pároztatásával az utódok megközelítően 14%-a bizonyult donor eredetűnek (Kino et al., 1997). Ezek az eredmények jelzik, hogy az embrionális sejtek tárolásával kapcsolatos kutatások még „embrionális” stádiumban vannak, indokolt tehát további intenzív kutatás e téren is.

SZEX MEGHATÁROZOTTSÁGA, GENETIKAI HÁTTÉR ÉS VIZSGÁLATI LEHETŐSÉG MADARAKNÁL, KUTATÁSI TEVÉKENYSÉG, VADON ÉLŐ POPULÁCIÓK „TEHERMENTESÍTÉSE”

Zsolnai Attila¹ – Nándorfi Zoltán²

¹Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet,
²Pharma-Klinika Kft., Szaporodásbiológiai Központ
attila.zsolnai@atk.hu

SEX DETERMINATION, GENETIC BACKGROUND AND MOLECULAR TESTING IN CASE OF BIRDS, PROSPECTS

Z and W chromosomes determines the sex in case of birds having several properties shared with mammalian X and Y chromosomes. Z and W chromosomes can be differentiated applying the proper chromosome painting, but sometimes it is very difficult or sometimes impossible, where the sex is driven by temperature. Reliable and simple analysis on large number of samples of sex can be based on DNA analysis. A widely used universal test is based on the investigation on chromosome-helicase-DNA binding (CHD) gene, which plays important role in the global regulation of transcriptional activation. There are some other genes already known to play role in sex determination of birds. Individuals from more than 25 species have made us possible to start a systematic study of these genes.

Madarak esetében az ivart a Z és W kromoszómák határozzák meg, melyek számos olyan tulajdonsággal rendelkeznek, mint az emlős X és Y kromoszómák.

A Z kromoszóma általában a 4., 5. kromoszóma nagyságával egyezik meg, és a W a mikrokromoszómáktól megfelelő festéssel megkülönböztethető. Ha mindkettő azonos nagyságú, a madár neme akkor is azonosítható kromoszómavizsgálattal (Piciformes, Falconiformes, Gruiformes), mely sajnos hosszadalmas és ezért rutinszerűen nem alkalmazható. Azon fajok, melyeknek nincs vagy nagyon nehezen megkülönböztethető az ivari kromoszómájuk, illetve az ivar a kotlási/keltetési hőmérséklet függvénye nem alkalmasak kromoszóma alapú ivarmeghatározásra.

Az ivarmeghatározás biztosabb alapja az, ha a két kromoszóma DNS szintű különbségeit vizsgáljuk. Nagyszámú minta gyors, megbízható és egyszerű vizsgálatához a megoldást a DNS szintű teszt jelenti.

Az eddig leginkább bevált, a madárfajok többségében univerzálisan használható (kivéve pl. a struccot) az a teszt, amely a CHD kötő (chromosome-helicase-DNA binding) gént vizsgálja, mely gén egy a transzkripcionális aktiválás globális regulációjában szerepet játszó fehérjét kódol. A CHD gén két kópiában fordul elő a genomban; az egyik a W kromoszómán (CHD1W), a másik a Z kromoszómán (CHD1Z) található. A diagnosztizálás a CHD-W és -Z gén markerének azonosításán alapszik.

Újabban ismertté váltak olyan gének, melyek bizonyíthatóan részt vesznek a szex determinációban, és csak az egyik – Z vagy W kromoszómán – találhatóak meg.

A rendelkezésünkre áll számos madárfaj teljes genomikus DNS-e; (jácópapagáj [*Psittacus erithacus*], arany sapkás papagáj [*Aratinga auricapillaris*], barnatorkú ékfarkú papagáj [*Aratinga pertinax*], galléros papagáj [*Barnardius zonarius*], guajaquil papagáj [*Aratinga erythrogenis*], hegyi lóri [*Trichoglossus haematodus*], kékhomlokú amazon [*Amazona aestiva*], kék-sárga vagy sárga-kék ara [*Ara ararauna*], kis Sándor papagáj [*Psittacula krameri*], közönséges vagy venezuelai amazon [*Amazona amazonica*], molnár amazon [*Amazona farinosa*], nappapagáj [*Aratinga solstitialis*], rózsás kakadu [*Eolophus roseicapillus*], rózsástorkú papagáj [*Polytelis alexandrae*], Sándor papagáj [*Psittacula eupatria*], sárgavállú amazon [*Amazona barbadensis*], arany maszkos amazon [*Amazona dufresniana*], sárgafejű amazon [*Amazona ochrocephala*], arany nyakú vagy aranyörves ara

[*Ara auricollis*], sziklapapagáj [*Cyanoliseus patagonus*], kékhomlokú törpe ara [*Ara nobilis*], fehértorkú tukán [*Ramphastos tucanus*], vörös lóri [*Eos bornea*], vörösfejű papagáj [*Geoffroyus geoffroyi*], zöldszárnjú ara [*Ara chloroptera*]).

Ezen – több mint ezer egyedtől származó – fajok mintája, illetve az adott egyed – molekuláris genetikai módszerrel meghatározott- nemének ismerete lehetővé tette számunkra, hogy elkezdjük a szex meghatározásban szerepet játszó új kandidáns gének szisztematikus analízisét, mely nem csupán a szex kialakulásának megértését segíti elő, hanem hozzájárul a fajmegőrzés/szaporítás célszerű, hatékony megvalósításához, csökkentve a vadon élő populációkra nehezedő nyomást, melyet a kisállattartás egyre növekvő igénye gerjeszt.