

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 4

Issue 2

Különszám

Gödöllő
2008



MELATONIN ALAPÚ CIKLUSINDUKCIÓS TECHNIKÁK HATÉKONYSÁGA TEJELŐ AWASSI JUHOKBAN

Faigl Vera¹, Keresztes Mónika¹, Árnysai Mariann², Kulcsár Margit¹, Nagy Sándor³, Jávora Bence³, Szenci Ottó¹, Cseh Sándor¹, Huszenicza Gyula¹

¹Szent István Egyetem Állatorvos-tudományi Kar Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék és Klinika, 1078 Budapest, István u. 2.

²Debreceni Egyetem Agrártudományi Centrum Mezőgazdaság-tudományi Kar, Debrecen

³Awassi Rt., Bakonszeg

faigl.vera@aotk.szie.hu

Összefoglalás

Vizsgálatunkban három különböző, a tenyészszezonon kívül alkalmazott *ciklus indukciós/szinkronizációs* protokoll hatékonyságát hasonlítottunk össze tejhasznú awassi juhokban. Az első kísérletbe (a kísérlet 0. napja (d0) február 10.) 85 őszi ellésű anyát vontunk be. A 0., 7. és 13. napon gyűjtött tej-, illetve bélsárminták progeszteron (P4) – bélsár esetében gesztagén metabolit – tartalmának alapján meghatároztuk a tenyészszezonon kívül ciklusos állatok arányát. A Gest csoportot áprilisban gesztagén szivacs (56-70. nap) + 600NE eCG (70. nap) kombinációval kezeltük. A Mel+Gest csoportot a 0. napi melatonin (Melovin®, CEVA, Libourne, France) implantátum beültetését követő 56. napon a Gest csoporthoz hasonló szinkronizációs kezelésben részesítettük. A Mel+GPG csoportot a melatonin beültetést (0. nap) követően GnRH (63. nap) – PGF2 α (70. nap) – GnRH (72. nap) protokoll szerint szinkronizáltuk. Az állatokat 12 órással különbséggel kétszer inszemináltuk (fix AI), majd 14 nappal később háremben fedeztettük. A 45-99. nap között követtük az állatok egyedi progeszteron görbéjét. A 99. és 133. napon meghatároztuk a plazma vemhesség-specifikus glükoprotein (pregnancy associated glucoprotein, PAG) szintjét. A fogamzás idejét az ellési adatok alapján határoztuk meg. A második kísérlet során a teljes protokollt megismételtük 115 tavaszi ellésű anyával (0. nap június 22.). Eredményeink arra utalnak, hogy hazai körülmények között az *Awassi* populáció ivari működése kifejezetten szezonálissá vált. A februárban beültetett lassú kioldódású melatonin implantátum nem volt képes ciklust indukálni, ugyanakkor júniusban alkalmazva jótékony hatása volt. A fix idejű inszeminálás kiváltására alkalmazott GPG protokoll csak abban az esetben válthatja ki a hosszú tartamú gesztagén kezelést, ha a természetes tenyészszezonhoz közeli időben alkalmazzuk.

Kulcsszavak: ciklus indukció, melatonin, awassi juh

Melatonin-based induction of ovarian cyclicity in intensive dairy Awassi flocks

Abstract

We compared the efficacy of three different *cycle induction/synchronisation* protocols used out of the breeding season in dairy Awassi ewes. In Experiment 1 (Exp.1) 85 autumn-lambing dams were used. Proportion of out-of-season cycling animals was determined by assaying milk progesteron (P4) or fecal gestagen metabolites 3 times 7 days apart on d0, d7, d13 (Exp.1 d0:10th February). Gest group was treated in April with gestagen sponge (d56-d70) + 600IU eCG (d70). Mel+Gest group was implanted with melatonin (Melovin®, CEVA, Libourne, France) on d0 and synchronised as Gest group 56 days later. Mel+GPG animals were treated with melatonin (d0) and synchronised with GnRH (d63) – PGF2 α (d70) – GnRH (d72). Ewes were inseminated twice (fix AI) and were introduced to rams 14 days later. Individual P4 profile was followed from d45 to d99. Pregnancy associated glycoprotein was assayed on d99 and d133. Date of conception was determined according to lambing dates. In Exp.2 the protocol was repeated with 115 spring-lambing dams (Exp.2 d0:22th June). We conclude that reproductive activity of Awassi sheep became markedly seasonal under temperate latitude. Slow release melatonin implant inserted in February could not induce cyclic ovarian function; however the same treatment had beneficial effect when used in June. GPG protocol as a possible alternative of long-term gestagen treatment for synchronisation for AI can only be effective when used near to the natural breeding season.

Keywords: cycle induction, melatonin, Awassi ewes



Irodalmi áttekintés

A juh szezonálisan ivarzó, poliösztruzszos állat. Az ivari szezonális mértékét alapvetően az éghajlat és a fajta határozza meg (Chemineau és mtsai, 2004). Az elmúlt évek kutatásai során világossá vált, hogy az évszakok váltakozását az állat elsősorban a napfényes órák száma - a fotoperiodus – napról-napra való változása, megnyúlása vagy rövidülése révén érzékeli (Malpoux, 2006). A külső fotoperiodusos jel a tobozmirigyben termelődő melatonin segítségével fordítódik le endogén szignállá (Mittman és mtsai, 1984, Chemineau és mtsai, 2007). A tenyészszezon kezdetén, nyár végén – ősszel a megrövidülő nappalok hatására egyre hosszabb lesz az éjszakai melatonin jel, ami többszörös átkapcsolás után fokozza a hipotalamuszban a GnRH (gonadotropin releasing hormone) felszabadulását és így serkenti a tüszőérést (Malpoux és mtsai, 1997, Vanecek, 1998). A fenti mechanizmus megismerése nyomán Franciaországban olyan természet-közeli technológiákat dolgoztak ki, melyek lényege, a tenyészszezon előbbre hozása megfelelően alkalmazott fényprogramokkal illetve hosszú hatású melatonin tartalmú készítményekkel (Chemineau és mtsai, 1996, Rondon és mtsai, 1996, Abecia és mtsai, 2006, Abecia és mtsai, 2006b, Gómez és mtsai, 2006). Jelen kísérletünk célja az volt, hogy hazai éghajlaton, üzemi körülmények között vizsgáljuk a melatonin előkezelés hatékonyságát a hagyományosan alkalmazott gesztagen tartamkezeléssel összehasonlítva, továbbá hogy felmérjük a tejelő szarvasmarha-állományokban széles körben alkalmazott, ételmezés-egészségügyi szempontból kedvező megítélésű OvSynch protokoll ciklusszinkronizáló hatását tejtermelő juhokban.

Anyag és módszer

Állatok

Vizsgálatainkat a bakonszegi Awassi Rt. tulajdonát képező awassi állományban végeztük. Az első kísérletbe 85 őszi, a második kísérletbe 115 tavaszi ellésű anyát és az adott szezonban tenyésztésbe vett toklyót vontunk be. A telepen az állatokat egész éven át iparszerű, zárt körülmények között, félig nyitott fészerezőállásban tartják, és intenzíven takarmányozzák. A technológia részeként a telepen az újszülött bárányokat az ellést követő pár órán belül elválasztják, és a továbbiakban mesterségesen nevelik. Az anyákat naponta kétszer géppel fejjik.



Kísérleti elrendezés, kezelések

A két kísérletsorozat febr. 10-én ill. jún. 22-én vette kezdetét (a továbbiakban a kísérlet 0. napja; *I. ábra*). Mindkét szériában 3-3 csoportot alakítottunk ki úgy, hogy a koreloszlás az egyes csoportokban hasonló legyen.

A Gest csoportban (kontroll) az üzemben korábban megszokott ciklusindukciós kezelést alkalmaztuk (14 napos gesztagén szivacs tartamkezelés (elhelyezés: 56. nap, eltávolítás: 70. nap), majd a gesztagén eltávolításával egy időben 600 NE eCG).

A Mel+Gest csoport esetében a fenti kezelést megelőzően, a kísérlet 0. napján az állatokat a gyártó ajánlásának megfelelő dózisu bőr alá ültetendő melatonin implantátummal kezeltük, majd a Gest csoporttal egy időben, azzal megegyező módon ciklust szinkronizáltunk. A Mel+GPG csoport a 0. napon implantált melatonin kezelés mellett a szarvasmarhában leírt Ovsynch protokollnak megfelelő szinkronizáló kezelésben részesült (63. nap GnRH \Rightarrow ovuláció/intrafollikuláris luteinizáció, 70. nap PGF_{2 α} \Rightarrow luteolízis, 72. nap GnRH \Rightarrow ovuláció).

Szaporítási technológia

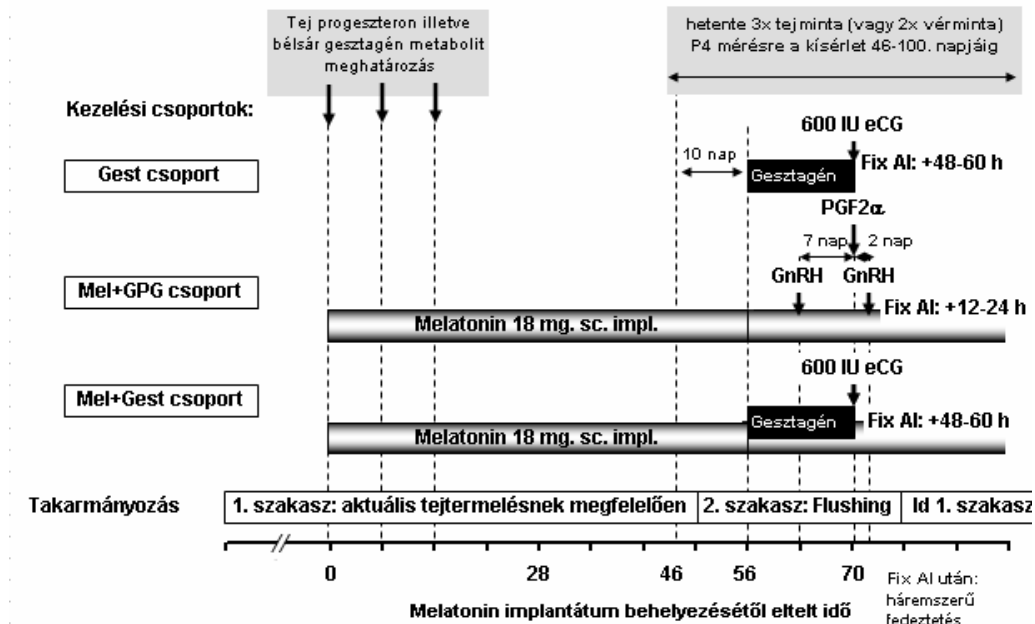
Az anyákat két alkalommal friss, hígított ondóval inszemináltuk (fix AI); a Gest és a Mel+Gest csoportokat 48 és 60 órával a gesztagén eltávolítás után, a Mel+GPG csoportot 12 és 24 órával a második GnRH kezelést követően. Tizennégy nap múlva az anyák hárembe kerültek.

A petefészek-működés ciklikussá válásának monitorozása

A melatonin implantátum behelyezésekor (0. nap), majd a 7. és 14. napon egy-egy alkalommal, továbbá a 46. naptól a fix idejű AI-t követő 28. napig (52 napon keresztül) hetente három alkalommal tejmintát gyűjtünk, illetve a toklyóktól és szárazon állóktól ezzel egy időben bélsarat. A tej progesteron (P4) szintjének meghatározásával kapott egyedi P4-profilok segítségével mállapítottuk a melatonin kezelés kezdetén még *acikliás* és már *ciklusos* állatok arányát, a kezelés 46-56. nap között még *acikliás* és már *ciklusos* állatok arányát, valamint nyomon követtük a petefészek-működés ciklikusságát a szinkronizációs kezelés alatt és azt követően.

Vemhességvizsgálat

A fix idejű termékenyítést követő 28. és 60. napon gyűjtött vérmintákból meghatároztuk a plazma vemhesség-specifikus glükoprotein (pregnancy associated glycoprotein, PAG) szintjét. A vemhesülés idejét az ellési adatok alapján számoltuk ki.



1. ábra: Kísérleti elrendezés

Figure 1. Experimental design

Eredmények és értékelés

Őszi ellésű állatok

A progesteron értékek alapján, februárban az állatok 39 %-a mutatott ciklusos petefészkek működést, de mindössze 6 % maradt ciklusos április végére. A kezelési csoportok között nem volt e tekintetben különbség. A ciklusindukciót / szinkronizációt követően a gesztagén tartamkezelésben részesült állatok szignifikánsan magasabb arányban ovuláltak, mint a melatonin kezelés után Ovsynch protokoll szerint szinkronizált társaik (Gest: 96 % vs Mel+Gest: 95 % vs Mel+GPG: 45 %; $P=0.040$). Ez arra enged következtetni, hogy a februári melatonin kezelés túl korai volt, még nem tudta áttörni a fotorefrakter fázist, így nem volt képes ciklust indukálni (Chemineau és mtsai, 1996).



A fix idejű inszeminálás során vemhesült a Gest és Mel+Gest csoport 14 %-a, ezzel szemben a Mel+GPG állatok esetében ez az arány mindössze 3 % volt. Adott tenyészszezonban kosoktól vemhesült a Gest csoport 10%-a, a Mel+Gest csoport 5 %-a, a Mel+GPG csoport 3 %-a (NS). 31-43 % azonban csak nyár elején-ősszel, a következő tenyészszezon kezdetén fogamzott, 38-62 % százalék pedig egyáltalán nem vemhesült, több mint 220 napon át üres maradt (1. táblázat). Az alacsony vemhesülési arányt nagy valószínűség szerint az is befolyásolta, hogy a kezelt állatok között magas (54%) volt a toklyók aránya. Korábbi vizsgálataink az irodalmi adatokkal egybecsengően arra engednek következtetni, hogy a tenyészszezonon kívül is ciklikus petefészek-működésű anyák aránya jellemzően életkor-függő, a többször ellettek között magasabb a tavasszal is ciklusosak aránya (Avdi és mtsai, 2003, Faigl és mtsai, 2006).

1. táblázat: Az őszi ellésű állatok szaporodásbiológiai adatai

	Összesen(1)	Csoportonként (%) (2)			Chi ²
		Mel+GPG	Mel+Gest	Gest	
Februárban ciklusos(3)	29 %	31 %	25 %	33 %	0.887
P4 profil(4)					
45-56 napon ciklusos(5)		9 %	5 %	4 %	0.669
Szinkronizációból ovulál(6)		45 %	95 %	96 %	0.040
Fix AI után ciklusos(7)		30 %	22 %	46 %	0.344
Vemhesült valamikor(8)		37 %	62 %	55 %	0.411
Fix AI-ból vemhesült(9)		3 %	14 %	14 %	0.327
Kostól vemhesült(10)		3 %	5 %	10 %	0.487
1 év múlva vemhesült(11)		31 %	43 %	31 %	0.709

Table 1. Reproductive performance of autumn-lambing ewes

Altogether(1), by groups, %(2), in February cyclical(3), P4 profil(4), on the 46-56th day cyclical(5), ovulation from the synchronization(6), after fix AI cyclical(7), become pregnant some day(8), become pregnant from fix AI(9), become pregnant by ram(10), become pregnant after 1 year(11)

Tavaszi ellésű állatok

Júniusban az állatok 4 %-ának petefészek működése volt ciklusos (NS). A 45-56. nap között azonban a melatonin kezelésben részesült állatok esetében ez az arány a kontrollhoz viszonyítva már emelkedő tendenciát mutatott (19 % Gest vs 44 % Mel+Gest vs 47 % Mel+GPG; P=0.109). A szinkronizációs kezelésből ovuláló állatok aránya a Gest és Mel+Gest csoportban 100% volt, szemben a Mel+GPG anyák 88 %-ával (NS). Ugyanakkor mindössze 24 % (Gest), 22 % (Mel+Gest), 5 % (Mel+GPG) vemhesült az inszeminálás eredményeképpen (P=0.104). Az állatok 65 %-a vemhesült az adott tenyészszezonban kosoktól (NS).



Az anyák 8-27 %-a több mint 150 napig üres maradt (NS) (2. táblázat). A vemhesülés idejét túlélési görbe módszerével vizsgálva sem az őszi, sem a tavaszi ellésű állatokban nem találtunk eltérést az egyes csoportok között (őszi ellésű $P=0.361$; tavaszi ellésű $P=0.131$; az adatok a terjedelmi korlátok miatt nem részletezve).

Következtetések és javaslatok

Eredményeink arra utalnak, hogy hazai körülmények között az Awassi populáció ivari működése kifejezetten szezonálissá vált. A februárban beültetett lassú kioldódású melatonin implantátum nem volt képes ciklust indukálni, ugyanakkor júniusban alkalmazva jótékony hatása volt. A fix idejű inszeminálás kiváltására alkalmazott GPG protokoll csak abban az esetben válthatja ki a hosszú tartamú gesztagén kezelést, ha a természetes tenyészszezonhoz közeli időben alkalmazzuk.

2. táblázat: A tavaszi ellésű állatok szaporodásbiológiai adatai

	Összesen(1)	Csoportonként (%) (2)			Chi ²
		Mel+GPG	Mel+Gest	Gest	
Júniusban ciklusos(3)	4 %	3 %	6 %	3 %	0.792
P4 profil(4)					
45-56 napon ciklusos(5)		47 %	44 %	19 %	0.109
Szinkronizációból ovulál(6)		88 %	100 %	100 %	0.833
Fix AI után ciklusos(7)		86 %	97 %	86 %	0.861
Vemhesült valamikor(8)		73 %	86 %	92 %	0.657
Fix AI-ből vemhesült(9)		5 %	22 %	24 %	0.104
Kostól vemhesült(10)		65 %	65 %	65 %	1.000
1 év múlva vemhesült(11)		3 %	0 %	3 %	

Table 2. Reproductive data of spring-lambing ewes

Altogether(1), by groups,%(2), in June cyclical(3), P4 profil(4), on the 46-56th day cyclical(5), ovulation from the synchronization(6), after fix AI cyclical(7), become pregnant some day(8), become pregnant from fix AI(9), become pregnant by ram(10), become pregnant after 1 year(11)



Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönetet mondanak a vizsgálatban résztvevő szakdolgozatos és tudományos diákköri munkát végző hallgatóknak: Várnay Zsuzsannának, Dakó Zoltánnak, Guro Moira Oma-nak, a SZIE ÁOTK Szülészeti és Szaporodásbiológiai Tanszék Izotóp Laboratórium dolgozóinak: Vonánáné Nagy Alice-nak és Bakosné Batta Arankának, valamint az Awassi Rt. dolgozóinak. Készült a „Jedlik Ányos Program” (NKFP4-00016/2005) támogatásával.

Irodalomjegyzék

- Abecia, J.A., Palacín, I., Forcada, F., Valares, J.A.* (2006): The effect of melatonin treatment on the ovarian response of ewes to the ram effect. *Domest. Anim. Endocrinol.*, 31. 52–62.
- Abecia, J.A., Valares, J.A., Forcada, F., Palacín, I., Martín, S., Martino, A.* (2006b): The effect of melatonin on the reproductive performance of three sheep breeds in Spain. *Small Rumin. Res.*, 69. 10-16.
- Avdi, M., Banos, G., Kouttos, A., Bodin, L., Chemineau, P.* (2003): Sources of variation and genetic profile of spontaneous, out-of-season ovulatory activity in the Chios sheep *Genet. Sel. Evol.*, 35. 65-76
- Bittman, E.L., Karsch, F.J.* (1984): Nightly duration of pineal melatonin secretion determines the reproductive response to inhibitory day length in the ewe. *Biol. Reprod.*, 1984. 30. 585-593.
- Chemineau, P., Daveau, A., Cognié, Y., Aumont, G., Chesneau, D.* (2004): Seasonal ovulatory activity exists in tropical Creole female goats and Black Belly ewes subjected to a temperate photoperiod. *BMC Physiol.*, 27. 4-12.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Brillard, J.P., Fostier, A.* (2007): Seasonality of reproduction and production in farm fishes, birds and mammals. *Animal*, 1. 419-432.
- Chemineau, P., Malpoux, B., Pelletier, J., Leboeuf, B., Delgadillo, J.A., Deletang, F., Pobel, T., Brice, G.* (1996): Emploi des implants de mélatonine et des traitements photopériodiques pour maîtriser la reproduction saisonnière chez les ovins et les caprins. *INRA Prod. Anim.*, 9. 1. 45-60.
- Faigl V., Árnási M., Kulcsár M., Nagy S., Gáspárdy A., Reiczigel J., Dankó G., Keresztes M., Marton A., Csatári G., Magyar K., Jávora A., Solti L., Cseh S., Huszenicza Gy.* (2006): A laktáció első tíz hetében ciklikussá vált petefészkek-működésű állatok arányát befolyásoló tényezők intenzív tejhasznosítású, tavaszi ellésű awassi anyajuhokban. MTA ÁTB, előadás Budapest, január 23-26.



- Gómez, J.D., Balasch, S., Gómez, L.D., Martino, A., Fernández, N. (2006):* A comparison between intravaginal progestagen and melatonin implant treatments on the reproductive efficiency of ewes. *Small Rumin. Res.*, 66. 156–163.
- Malpoux, B., Viguié, C., Skinner, D.C., Thiéry, J.C., Chemineau, P. (1997):* Control of the circannual rhythm of reproduction by melatonin in the ewe. *Brain Res. Bull.*, 44. 4. 431–438.
- Malpoux, B. (2006):* Seasonal Regulation of reproduction in mammals in Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*, Third edition, Academic Press Inc., U.S., 2231-2281.
- Rondon, Z., Forcada, F., Zarazaga, L., Abecia, J.A., Lozano, J.M. (1996):* Oestrous activity, ovulation rate and plasma melatonin concentrations in Rasa Aragonesa ewes maintained at two different and constant body condition score levels and implanted or reimplanted with melatonin. *Anim. Reprod. Sci.*, 41. 225-236.
- Vanecek, J. (1988):* Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol. Rev.*, 78. 3.