

SZAPORODÁSBIOLOGIAI KUTATÁSOK ÉS AZOK HATÁSA A BAROMFITENYÉSZTÉS FEJLESZTÉSÉRE

BARNA JUDIT

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerző irodalmi áttekintés keretében mutatja be azokat a szaporodásbiológiai kutatási eredményeket, amelyek az elmúlt évtizedekben hozzájárultak a baromfitenyésztés fejlődéséhez. A vizsgálati eredmények elsősorban a házityúk-, valamint a pulyka faj elit-, illetve szülőpár állományaira vonatkoznak, mivel a tenyésztésben ezek szerepe elsődleges. Természetesen olyan alap kutatás-szintű eredményekről is szól, amelyek általános érvényűek, és nemcsak a baromfifajokra, hanem általában a madarakra érvényesek, mint például az ivarsejtek képződésének és a termékenyítésnek a biológiája, az *in vivo* spermiumtranszport és tárolás sajátosságai. Röviden szól azokról a környezeti hatásokról, amelyek az endokrin rendszeren keresztül befolyásolják a szaporodásbiológiai folyamatokat. Bemutatja az asszisztált reprodukció technikáit, valamint az újabb ondóminősítési és termékenység-meghatározási metodikákat, amelyek a gyakorlat számára különösen hasznosak. Kiemeli a génmegőrzési munkák jelentőségét, ezen belül az ondómélyhűtés fejlesztését különböző baromfifajokban.

SUMMARY

Barna, J. Ms: RESEARCH ON REPRODUCTIVE BIOLOGY AND ITS EFFECTS ON THE DEVELOPMENT OF POULTRY BREEDING

In the frame of a review, the author presents those scientific results on the reproduction biology of poultry covering the last few decades, which have contributed to the development of poultry breeding. The results concern mainly broiler and turkey breeders, whose roles are primary in the poultry breeding field. Certainly, there are results from basic research as well, which are applicable to all bird species, such as the biology of germ cell production and fertility, and the feature of *in vivo* sperm transport and storage. Some of the available environmental effects are shown, which can influence reproductive processes through the endocrine and other enzymatic systems. The author shows assisted reproductive techniques in chicken, and some recently developed methods on sperm qualification and fertility determination, which are particularly useful for breeding practice. The significance of *ex situ* gene conservation in poultry is emphasized, which involves – among others – the development of sperm cryopreservation for various poultry species.

A KÜLÖNBÖZŐ BAROMFIFAJOK SZAPORODÁSBIOLOGIAI KUTATÁSAINAK HAZAI ÉS NEMZETKÖZI HELYZETE

Mind hazánkban, mind külföldön, a baromfifélék szaporodásbiológiai kutatásaival kevés kutatóhelyen, viszonylag kis létszámú kutatógárda foglalkozik. Ennek egyik magyarázata lehet a baromfifajok kisebb gazdasági értéke az emlős használatokhoz képest.

Hazánkban, a Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Karán, a Szaporodásbiológiai Tanszéken, elsősorban madarak *endokrinológiai* kutatásai folynak. Jelenleg fókuszban a tojót ért stressz hatások vizsgálata az embrión, illetve az utód generációkon, valamint a szteroid hormonok tojás szikból, illetve bélsárból történő kimutatásának módszertani kérdései állnak. Az Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet Baromfi Szaporodásbiológiai Laboratóriumában az őshonos baromfifajok genetikai anyagának (spermium, embrionális sejtek) hosszú távú megőrzése a fő kutatási irányvonal, mint *ex situ génmegőrzés*. Ez magába foglalja az összes baromfifaj ondósejt- és korai embrionális sejt- mélyhűtésének fejlesztését. Emellett, az elmúlt években, a hústípusú szülőpárok korai termékenység-csökkenésének okait, valamint a gyakorlati kompenzációs lehetőségeket vizsgáltuk. Endokrin vizsgálataink, a gyakorlati igényeket figyelembe véve, elsősorban a káros stressznek utódokra kifejtett hatásaira, valamint a különböző fajok termékenységi problémáinak endokrin hátterének tisztázására irányulnak. *Embriológiai* vizsgálatok házityúk- és lúd fajon folynak. A *viziszárnyasok* szaporodási kérdéseivel kapcsolatos számos vizsgálat zajlik a Kaposvári Egyetem Állattudományi Karának Baromfi- és Társállattenyésztési Tanszékén, amelyek elsősorban a ludak mesterséges termékenyítésének gyakorlati megvalósításával, valamint a mulard-előállítás szaporítási kérdéseivel foglalkoznak.

Külföldi kutatócsoportok, Európában, az Egyesült Királyságban (University Abertay Dundee, Skócia, szaporodás-élettan; Edinburgh, takarmánykiegészítők szaporodásbiológiai hatásai), Németországban (Humboldt Egyetem, Berlin, spermatológia, ondómélyhűtés), Franciaországban (INRA, Nouzilly; szaporodás-élettan, ondómélyhűtés, embrionális sejtmanipulációk) és Lengyelországban (University of Agriculture, Wrocław; University of Technology and Agriculture, Bydgoszcz; ondómélyhűtés, embrionális sejtmanipulációk) végeznek jelentős eredményeket produkáló vizsgálatokat. Emellett, természetesen, kiemelkedő kutatások folynak az USA-ban (USDA Germplasm and Gamete Physiology Laboratory, Beltsville, Maryland; spermatológia, embriológia, szaporodás-élettan), Kínában és Japánban (Miyazaki University, Miyazaki; madárspermiumok élettana).

Érdekes módon nem csak a hazai, de a külföldi kutatók is úgy látják, hogy az elmúlt években jelentősen csökkent a kutatásaikra fordítható pénzügyi keret, ami erősen korlátozza a választható kutatási területeket, és elsősorban az alapkutatások arányának csökkenését eredményezi.

A baromfitenyésztés fejlesztésére a szaporasági mutatók javítása, valamint ma már elfogadottan a genetikai sokszínűség megőrzése elsődleges hatású.

JELENTŐSEBB KUTATÁSI EREDMÉNYEK A BAROMFITENYÉSZTÉS SZOLGÁLATÁBAN

Az alapkutatásoktól azt várjuk, hogy az elméleti ismeretek bővítésén túl – hosszabb távon – a gyakorlatnak átadható eredményeket produkáljon. Ahhoz, hogy akár természetes szaporítással, akár mesterséges termékenyítéssel nagyobb szaporulatot érjünk el a gyakorlatban, fontos ismerni az ivarsejtek produkciójának, funkciójának és a termékenyítési folyamatoknak az élettani hátterét, amelyekről az elmúlt évtizedekben számos új ismeret látott napvilágot.

Az ondótermelés biológiája

A madárspermiumok felépítése a vizsgálati technikák fejlődése következtében ma már teljes mélységében ismert, az elongált feji rész elhegyesedő akroszómából, egy enyhén hajló henger alakú magból, a tengelyből és 30 mitokondriumból áll (Thurston és Hess, 1987), melyek sugarasan helyeződnek az axonema körül. A többi sejthez viszonyítva a spermiumok nagyon kis mennyiségű citoplazmával rendelkeznek (Sprado és Russel, 1988). Minden sejtszervecskének igazolták a speciális funkcióját, pl: a mitokondriumok generálják azt a kémiai energiát, ami az axonéma ritmikus mozgásához szükséges (Ashizawa és mtsai, 1989), a sejt membrán-integritása jelzi a spermiumok életképességét (Bakst és mtsai, 1991), emellett biztosítja a spermium-transzportot a vaginán keresztül (Steele és Wishart, 1992a.; Froman és Thursam, 1994), valamint nélkülözhetetlen a petesejtnak a spermiumok felismerésében (Howarth, 1992).

Az ondótermelés az emlősökétől kissé eltérő, bár alapfolyamatában hasonló neurohormonális szabályozás alatt áll. Fotostimulációs inger hatására az agyban levő fotoreceptor neuronok GnRH szekréciót indukálnak a hypothalamusban, mely az agyalapi mirigy elülső részében LH és FSH szekréciót indukál. Ezek a gonadotrop hormonok a célsejtekben – a Leydig-féle intersticiális sejteken androgén szekréciót, a Sertoli sejtekben a spermatogenezist indítják el.

A spermatogenezis folyamata madarakban ma már minden lépésében tisztázott, japán fürjekben végzett vizsgálatok alapján (Lin és Jones, 1992, 1993), mely így a galliformokra is érvényesnek tekinthető és alapvető lépéseiben hasonló az emlős spermatogenezishez. A gömb alakú spermatidák, amelyek már csak haploid génkészlettel rendelkeznek a másodlagos spermatociták meiotikus osztódása révén, alapvető átalakuláson mennek át, melyet spermiogenezisnek nevezünk. Ennek során alakul ki az akroszóma, kondenzálódik és megnyúlik a sejtmag, kialakul az axonema és a mitokondriumhüvely, és extrém módon csökken a citoplazma mennyisége (Sprado és Russel, 1988). Madarak zöménél 12–13 nap szükséges az őssejt állapotú spermatogoniumok spermiumokká történő átalakulásához, azaz a spermiációhoz. A napi spermium-produkció számszerűleg kifejezhető, házityúk fajban pl. 80–120 millió spermium/here gramm (De Reviers és Williams, 1984). A herecsatornácskák lumenéből a spermiumok az elvezető csatornába jutnak, ahol bizonyos érési folyamaton mennek át, melynek során képessé válnak a motilitásra bizonyos proteinek és ionok sejt-felülethez kötődése révén (Ashizawa és Sano, 1990). Ez a folyamat madarakban rendkívül gyors. Igazolt, hogy az ondóplazma összetétele sok komponensében eltérő a vérplazma

összetételétől (*Esponda és Bedford, 1985*). Azonban a kalcium kivételével (*Ashizawa és Wishart, 1987*), nem ismert még, hogyan hatnak ezek az összetevők a spermiumokra a hím ivari apparátuson történő áthaladásuk során, illetve az ejakulációt követően.

Madarakban a spermiumok tárolási helye a *ductus deferens*, amelynek tárolási hatékonyságával jellemezhető a hím állatok termékenyítő kapacitása. Szövettanilag az elvezető csatornák különböző részei nem különböztethetők meg egymástól, azonos embrionális eredetűek (*Bakst, 1980; Croisille, 1981*). A spermiumtranszport szintén gyors folyamat, pulykakakasok esetében néhány nap (*Cecil és mtsai, 1988*). Ejakuláció során az ondó a *ductus deferens* receptaculumából a simaizmok kontrakciója révén kerül a kloaka felszínére. Baromfifajtól függően előtüremkedő (víziszárnyasok) illetve nem előtüremkedő phallus (galliformok) segítségével kerül az ondó a tojó vaginájába. Ejakulációkor a *phallus* a kloaka vaszkuláris testéből származó nyirokkal telítődik. Az ejakuláció mechanizmusa tehát jelentős eltéréseket mutat az emlősökhöz viszonyítva (*Froman, 1994*).

A tojástermelés és a termékenyülés biológiája

A tojók szaporasági hatékonyságát, a genetikai potenciálon túl, a környezeti tényezők befolyásolják döntően. A tenyészállományok biológiai rendszerének az ismerete nélkülözhetetlen a megfelelő minőségű és mennyiségű keltetőtojás előállításához.

A madarak legtöbbjében, így a háziszárnyasokban is, keléskor csak a baloldali petefészek funkcionál, jöllehet a korai embrionális fejlődéskor még mindkét petefészek kimutatható. Madarakban a nőivar képviseli a heterogametikus ivart ZW ivari kromoszómákkal, míg a hímek a homogametikusak (ZZ), tehát nem a hímiar határozza meg az utód nemét, vagyis az emlősöknél használt spermiumszelekcióval sajnos nem tudjuk befolyásolni a kikelt fióka nemét. A korai embrionális fejlődés során a funkcionáló W kromoszóma egy aromataz enzim aktivitás szabályozása révén ösztrogén szintézist indukál, ennek van szerepe a funkcionáló bal petefészek fejlődésére (*Bruggeman és mtsai, 2002*), míg a jobb petefészek és petevezető felszívódásában apoptotikus folyamatok játszanak szerepet. A petefészek ciklikus működését endogén, ún. circannual ritmicitás, valamint exogén faktorok, főként a fotoperiodicitás és kisebb mértékben a fényintenzitás befolyásolják (*Gwinner, 2003*). A petefészek működésének neuroendokrin szabályozásról is újabb és újabb ismeretek látnak napvilágot, melynek részletezésétől jelen dolgozatban eltekintek, mivel a gyakorlati tenyésztésre közvetlen hatása jelenleg kevésbé érzékelhető.

A madár-petefészeknek több funkciója is van, melynek végeredménye az érett petesejt ovulációja (*Johnson és Woods, 2006*):

- a májból eredő szikanyag petesejtbe való beépítése
- a petesejt gyors növekedéséhez megfelelő támasz biztosítása
- különféle para-, auto- és endokrin anyagok szintézise és szekréciója, melyek a petesejt életképességét, a tüszők differenciáltságát, és a szteroidképzést hivatottak támogatni, emellett szükség szerint apoptózist indukálnak,
- az ovuláció biztosítása

A madár-petefészek működésében kiemelendő az *aptotikus folyamatok* fontossága (Witty és mtsai, 1996):

- a jobb petefészek regressziója a korai embrionális fejlődés során
- a csírasejtszám csökkentése a kelés idején
- az ovulációra legalkalmasabb tüszők szelekciója
- az ovulációt követő gyors tüszőatrézia a tojásrakási periódusban
- a petefészek regressziója az ivarilag inaktív időszakban

A tüszők szelekciójának molekuláris szabályozása – mely tüszők sorvadnak el és melyek indulnak fejlődésnek az ovuláció felé – máig megválaszolatlan kérdés, jöllehet a tojástermelés fokozásának gyakorlati szempontjából lényeges lenne, mivel az ovulációs ráta attól függ, mennyi kis tüsző sorvad le, illetve lép a hierarchia útjára (Proudman, 1994).

Anélkül, hogy részletezném a nőivarú madarak *petevezetőjének* ismert felépítését, néhány jellegzetességet a termékenyülés szempontjából érdemes kiemelni. A petevezetőnek 5 funkcionálisan és morfológiailag elkülöníthető része van, amelyek funkciói a tojásképzés, a spermium-szelekció, a spermium-tárolás és spermiumtranszport, valamint a termékenyülés és korai embriófejlődés biztosítása.

Spermium-szelekció, tárolás és transzport sajátosságai a madarak petevezetőjében

A madár-petevezető jellegzetessége az *in vivo* spermiumtárolási képesség, mely biztosítja a tojások termékenységet – fajtól függően – hosszabb-rövidebb ideig, egyszeri párzást, illetve termékenyítést követően. A madár-petevezetőben két helyen tárolódhatnak spermiumok, az utero-vaginális szűkületben (elsődleges tárolódás), valamint az infundibulum disztális szakaszán (másodlagos tárolóhelyek). A két tárolóhely jelenlegi ismereteink alapján sem funkcionálisan, sem morfológiailag nem teljesen azonos. Mindkét helyen a nyálkahártya betüremkedéséből származó elágazás nélküli tubulusokba lépnek be a spermiumok. Jelentős kutatási eredmény volt annak igazolása, hogy az inszeminált spermium-mennyiségnek csupán 1–2%-a, az ún. „fitt” spermiumok, képesek a tubulusokba berakódni (Bakst és mtsai, 1994), így a raktározó csövecskékben 10 millió alatt marad a spermiumszám, függetlenül az inszeminált spermium-mennyiségtől (150–300 millió spermium), tehát genetikailag meghatározott a tároló csövecskék kapacitása. A fentiek alapján a vaginában egy intenzív spermium-szelekciós folyamat zajlik, melynek elsődlegesen immunológiai háttere van, de a teljes mechanizmus jelenleg még nem tisztázott. Ami bizonyított, hogy csak a motilis spermiumok képesek raktározódni, és a plazma-membránjukban jelen kell lennie bizonyos glikoproteineknek (Wishart és Horrocks, 2000).

A spermiumok metabolizmusa, motilitása, a membránrendszerek stabilizációja, az akroszomális enzim-aktivitás *in vivo* tárolásuk során elnyomódik, de nem teljesen inaktíválódik. Viszont a tubulusokból való ürülésük közben a spermiumok újra aktiválódnak (kapacitáció?). A spermium tárolási és ürülési mechanizmusára korábban már több feltételezés látott napvilágot (Boldizsár és mtsai, 1991; Bakst és mtsai, 1994; Barna és Boldizsár, 1996; Barna és mtsai, 1996; Barna és mtsai, 1998; Barna, 1999). Azóta igazolták egy aktin hálózat és egy erős idegi hálózat jelenlétét a tubulusok falában, ami arra enged következtetni, hogy a spermiumok ürülésében a tubulus kontrakciójának is szerepe lehet (Freedman és mtsai, 2001).

Froman (2003) szerint a tubulusok epitheliuma által termelt folyadék „mossa ki” a spermiumokat bizonyos időközönként a lumenből.

A spermiumok transzportjában azok önálló motilitásán túl a petevezető-hám csillóinak és a petevezető antiperisztaltikus mozgásának is szerepe van.

Az *in vivo* spermium-szelekció, valamint spermium-tárolás molekuláris hátterének tisztázása vitathatatlanul segítené a mesterséges termékenyítés hatékonyságát az összes baromfifajban. A tojótyúk termékenységi potenciálja a szaporodási ciklus során a petevezető spermium-tárolási kapacitásától függ. Házityúkban a raktározott spermiumok kb. 30%-a ürül naponta, míg pulykában csak 11%. Ez az oka annak, hogy tyúokban kb. 3–4 hétig, pulykában azonban 8–15 hétig is találhatunk termékeny tojást egyszeri termékenyítést követően (Brillard, 1993).

A termékenyítés folyamata

Az ovuláció során az infundibulumba került érett petesejtet a belső perivitellin membrán borítja. A spermiumok ezen a membránon keresztül penetrálnak, zömmel a csírákorong közelében. Ez a preferencia kb. 20-szoros a petesejt többi régiójához képest (Wishart, 1997b), de a preferencia okának tisztázása a mai napig nem történt meg, egyes szerzők a spermium-receptorok eloszlásában látják a különbséget (Kuroki és Mori, 1997), mások ezt nem tudták igazolni (Steele és mtsai, 1994). A termékenyítés kb. 15 percen belül megtörténik az ovulációt követően (Olsen és Neher, 1948). A polyspermiás termékenyítés szükségszerűsége ovipara állatokban a 90-es évek közepéig evidenciának számított. Azóta egyre több vizsgálat azt igazolja, hogy a termékenyítéshez – emlőskökhöz hasonlóan – egyetlen spermium is elegendő, ami a csírákorong közepén hatol a petesejtbe (Wishart, 1997). Ha polyspermia lenne szükséges a termékenyítéshez, akkor a csírákorong centrumában nagyszámú spermiumnak kellene koncentrálnod, viszont a spermiumok zömét nem ott, hanem a csírákorong gyűrűjénél lehet fellelni (Bramwell és Howarth, 1992b; Birkhead és mtsai, 1994; Waddington és mtsai, 1998). Emellett többen is igazolták, hogy a csírákorong centrumában a túlzott spermium-penetráció rendellenes embriófejlődést okoz (Fafanova, 1965; Bramwell és mtsai, 1997). Legfontosabb bizonyítéka annak, hogy egyetlen spermium is elegendő a petesejtnak az embrionális fejlődés aktiválásához Hrabia és mtsai (2003) kísérlete, akik fürjpetesejten sikeres ICSI-t (intracelluláris spermium injektálás) végeztek. Jelenlegi feltételezések szerint tehát a fiziológiás polyspermiára kizárólag azért van szükség madarakban, hogy a nagyméretű petesejt termékenyülésének esélye nagyobb legyen.

A penetrációs nyílások száma a 3 mm-es átmérőjű csírákorong felett több száz lehet, de a membrán egész felületén egyenletesen szétoszolva ennek kb. 50-szeres mennyisége is megtalálható (Wishart, 1997a). Az infundibulum disztális harmadában, ahogy a petesejt halad lefelé, egy külső periveitellin réteg rakódik a felületre, mely az ún. patológiás polyspermiát hivatott megakadályozni. A petevezető felső szakaszában levő spermiumok passzív módon beleragadnak ebbe hálós szerkezetű rétegbe (Okamura és Nishiyama, 1978a). Mivel a heréből származó madárspermiumok *in vitro* képesek megtermékenyíteni a petesejtet, mind a mai napig állja a helyét az a feltételezés, miszerint a madárspermiumoknak nincs szükségük kapacitációra, legalábbis emlős-értelemben (Howarth, 1984; Nakanishi és

mtsai, 1990), bár egyes szerzők szerint valamiféle kapacitációt feltételezhetünk a raktározó tubulusokban történő tárolódás során (*Stepinska és Bakst*, 2007).

A sikeres termékenyülés kritikus pontja, hogy legyen elérhető spermium az infundibulumban az ovuláció idején. A mesterséges termékenyítés hatékonysága elsősorban attól függ, hogy megfelelő mértékben feltöltődtek-e a raktározó tubulusok spermiummal. A feltöltődés mértékét befolyásolja az inszeminált spermium mennyisége, a tojó életkora, az ondó minősége, a termékenyítés időpontja, illetve gyakorisága (*Brillard*, 1993; *Bakst és mtsai*, 1994). Gyakorlati szempontból lényeges, hogy a termékenyítést vagy az ovulációt megelőző, vagy az azt követő 4. óra elteltével kell elvégezni, mivel élettanilag a spermiumok tárolásához ezek a legalkalmasabb időszakok (*Brillard*, 1993). További fontos kutatási eredmény volt annak igazolása, hogy pulykák esetében magasabb termékenységet lehet elérni, ha az első termékenyítést a tojástermelés megindulása előtt végzik el (*Bakst*, 1993). Mindez házityúk esetében nem valósítható meg, ugyanis a kloaka a tojástermelés beindulása előtt nem fordítható ki a mesterséges termékenyítés számára.

Endokrinológiával kapcsolatos, gyakorlati szempontból fontosabb vizsgálati eredmények

Baromfi gazdaságos hús- és tojástermelése komplex összehangolt hormonális működés eredménye. Mindezt a tenyészállományok genetikai szelekciója és számos környezeti tényező befolyásolja. A tojástermelésre szelektált tojóvonalak szaporasága nagyon hatékony, azonban a hústípusú szülőpárok esetében romló szaporasági mutatókkal kell számolni (*Reddy és Sadjadi*, 1990). Brojler szülőpárok esetében – 40 hetes szaporodási ciklusban – 175–178, pulyka szülőpárok esetében – 25 hetes ciklusban – 90–93 keltetőtojással lehet számolni tojónként (*Froman*, 1994). Fontos kutatási terület e téren a molekuláris biológia, a genom-térképezés, valamint azon gének meghatározása, melyek a szaporaság hatékonyságáért felelősek. E gének közül számos az endokrin rendszeren keresztül képes hatását kifejteni. A környezeti tényezők legtöbbje szintén a hormonrendszeren keresztül fejt ki hasznos vagy éppen káros hatását. Az alap kutatások egy része tehát azzal foglalkozik, hogy miként kontrollálja az endokrin rendszer a szaporodást madárban, valamint hogyan hatnak az ivari hormonokra a különböző környezeti faktorok. A baromfifajok szaporodásának hormonális kontrolljáról már sok ismeret áll rendelkezésre, de a komplett rendszer teljes ismertetésétől még távol állunk, jóllehet évről évre újabb neuro-endokrin kapcsolatokat, illetve az azokat szabályozó neuropeptideket, enzimeket, enzimszisztemeket fedeznek fel.

Jelentős kutatási terület a madarak fotoszenzibilitása, illetve fotorefrakter állapotba kerülése, melyek az ivari ciklus hosszát és ezzel a termelést jelentősen befolyásolják. A házityúk, illetve a pulyka faj között e tekintetben nagy különbségek vannak. A fotorefrakter állapot kisebb mértékben érinti a házityúkot, mint a pulykát (*Sharp és mtsai*, 1992). A pulykák, a petefészek regressziót követően „abszolút” refrakter állapotba kerülnek és a fény hosszának növelésével sem lehet újra ciklusba hozni a tojókat, míg házityúk fajban a fotorefrakter állapot relatív, a fényhossz további emelése újabb termelési ciklust képes provokálni (*Sharp*, 1993). Sikeresen alkalmazták pulykáknál a prolaktin RH és a VIP (vasoactive intestinal peptide) elleni aktiv immunizációt a fotorefrakter állapot kifejlődésének késleltetésére (*Caldwell és mtsai*, 1999).

A kotlás, illetve vedlés jelensége szintén tojástermelést befolyásoló tényezők, melyek a pulykatojókat érintik nagyobb mértékben. Ezt az ősi viselkedést – genetikai szelekcióval – a házityúk tojó vonalakban gyakorlatilag sikerült teljesen eliminálni. Ezért elsősorban pulyka fajban folynak kutatások e jelenségek hormonális feltérképezésére. Feltételezik, hogy a petefészek csökkenő szteroid termelése váltja ki a hipotalamusz VIP termelődését, ami a hipofízisben stimulálja a prolaktin termelődést. A prolaktin hirtelen emelkedése, ami a kotlást jellemzi, negatív feedback révén gátolja az LHRH, azon keresztül az LH szintézist, ami petefészek-regressziót vált ki (Mauro és mtsai, 1992; El Halawani és Rozenboim, 1993).

A környezet (elhelyezés, fény, hőmérséklet, takarmányozás) és a technológia hatásai a szaporaságra

A fény döntő szerepéről már volt szó, a tojástermelés alatt bekövetkező technológiai hibából adódó, akár csak néhány napos fénycsökkenés az LHRH szekréció gátlása révén a tojástermelést csökkenti, hosszabb időtartam esetén a petefészek teljes kollapszusát eredményezi. A tojók kora és testsúlya a fotostimuláció idején szintén jelentős tényező a reprodukív ciklus hosszának, illetve a tojás minőségének szempontjából (Hocking és mtsai, 1987; 1988). A takarmánykorlátozás nagyon jó managementet igényel, mert a túlzott takarmány-visszatartás a nevelés alatt, a hormonrendszeren keresztül, késlelteti a tojástermelés beindulását.

Ki kell emelnünk a környezeti stressz gyengítő hatását a szaporasági mutókra. A krónikus vagy akut stressz hatásának tanulmányozása mind a mai napig fontos kutatási terület. Korábban igazolták, hogy a kortikoszteron szint emelkedése csökkenti a hipotalamusz LHRH szintézisét, ami a gyakorlatban csökkent tojástermelésben és termékenységekben nyilvánul meg (Donoghue és mtsai, 1989). Szőke és mtsai (2004) igazolták a stressz hatására bekövetkező tojástermeléscsökkenést, a korai embrióelhalás növekedését, nagyobb méretű tojások megjelenését különböző fajokban. Az akut hőstressz hosszú távú negatív hatását igazolták a baromfifajok ondóminőségére (Végi és mtsai, 2007).

A magas hőmérséklet és alacsony fényintenzitás, mint környezeti faktorok kotlást indukálhatnak a hipotalamusz VIP tartalmának növelése, és ezen keresztül a szérum prolaktin tartalmának megemlése révén (Ghaly és mtsai, 1993). A kotlás megakadályozása céljából alkalmazott különböző kotlásleszoktató ketrecek hatásosak lehetnek a kotlást kiváltó emelkedő prolaktin szint csökkentésében, így a petefészek működésének fenntartásában. Minderre pulyka szülőpártartás esetén kell nagy figyelmet fordítani.

A takarmányok szerepe a szaporodásbiológiai paraméterek alakításában köztudott. Számos takarmány-kiegészítőről igazoltak pozitív hatást a baromfi ivari működésére. Ezek közül a *szerves kötésű szelént* emelném ki, mivel az elmúlt évek baromfiféléken folytatott kutatásainak egyik leggyakoribb témája volt. A szelén, mint természetes antioxidáns, szelenoproteinek formájában található meg a szervezetben különböző enzimek alkotórészeként és így számos élettani folyamatban nélkülözhetetlen szerepet játszik. Eddig már számos szelenoproteint kimutattak a baromfi szervezetében, de a legtöbb kutató egyetért abban, hogy az azonosított szelenoproteinek listája még jelentősen növekedni fog. Eddigi ismereteink szerint az antioxidáns védelem több lépcsőjében kiemelkedő szerepe van,

nélkülözhetetlen a pajzsmirigy metabolizmusában, a redoxregulációs folyamatokban (génexpresszió), a sperma szerkezeti integritásában, így az ondóminőség fenntartásában (Surai, 2002). Több kutatási eredmény igazolta az antioxidánsok pozitív szerepét a baromfifélék szaporodási folyamataiban, különösen a termékenységekben (Surai és mtsai, 2006). Korábban kimutatták a szelénhiány szerepét a csökkent tojástermelésben és a magasabb embrióelhalásban (Combs és Combs, 1984). Később számos kutatási eredmény igazolta pozitív hatását a tojástermelésre, a tojáshéj minőségére, a termékenységre és a keltethetőségre brojler szülőpár állományokban (Renema és Sefton, 2004; Petrosyan és mtsai, 2006). Sefton és Edens (2004) hústípusú kakasok ondóminőségének javítását mutatták ki szerves szelén hatására. Szerves kötésű szelén és emelt adagú E vitamin-kiegészítés hatását saját vizsgálatainkban is igazoltuk hústípusú szülőpár kakasok ondóminőségének szignifikáns javításában a termelési ciklus második felében (Barna és mtsai, 2007). Érdekes tapasztalat, hogy a különböző típusú brojler szülőpár kakasok, ondóminőségük függvényében, eltérően reagálnak a szerves szelén és E vitamin kiegészítésre (Végi és mtsai, 2008). Az ondó *in vivo* és *in vitro* tárolása során a glutation-peroxidáz aktivitás növelése révén a lipid peroxidáció csökkentésében, így a tárolás prolongálásában is igazolható volt szerepe (Surai és mtsai, 1998; Bréque és mtsai, 2003). Kimutatták hatását hústípusú szülőpárok termékenységeinek hosszú távú fenntartásában is (Bréque és mtsai, 2003), amelyet azóta gyakorlati példák is igazolnak (Barna, még nem közölt adatok).

ASSZISZTÁLT REPRODUKTÍV TECHNIKÁK A BAROMFI-FÉLÉK TENYÉSZTÉSÉBEN

Mesterséges termékenyítés (MT)

A MT alapvetően egy kétlépcsős eljárás: az ondó begyűjtése (1) és az inszeminálás (2). A két lépés közötti tevékenységek, mint az ondóminősítés, ondóhígítás, tárolás, a termékenységek, illetve a sikeres termékenyítés zálogai. Ma már az összes baromfifajban kidolgozott technikák léteznek, alkalmazásuk a különböző fajokban eltérő intenzitású. Kizárólagos a használata hústípusú *pulyka szülőpár* állományokban, ahol ez a termékenyítés egyetlen alternatívája a két ivar közötti méretbeli különbségek miatt. Elkerülhetetlen használata a *mulard kacs*a előállítás esetén is, ugyanis fajhibrid lévén, a természetes párzás hatékonysága a pézsmaréce és a pekingi szülők között nagyon gyenge. A hústípusú *gyöngytyúk* szülőpárokat szintén kizárólag mesterségesen termékenyítéssel szaporítják. Házityúk fajban, a pedigréállományok nagyszülői szintjén, esetenként, szintén alkalmazzák. A 80-as évek elején még úgy gondolták, hogy hústípusú szülőpárok tenyésztésében a jövőben döntő szaporítási mód lesz a MT, egyrészt a kakasok egyre nagyobb testsúlya miatt, másrészt egyértelműnek tűnt, hogy a kakasok korosodásával és növekvő testsúlyukkal párhuzamosan csökken a termékenyítőképességük. Emellett használata a szelekciós nyomás növelésével, valamint a ketreces tartás nagyobb telepítési sűrűségével és a kevesebb hím tartásával jelentősen fokozhatja a szülőpárok gazdaságos teljesítményét. Ma már tudjuk, hogy a termékenyesség-csökkenésért nagyobb részben a tojók a felelősek (Bilgili és Renden, 1985;

Fasenko és mtsai, 1992; Bramwell és mtsai, 1996; Gumulka és Kapkowska, 2005; Végi és mtsai, 2006). A nagyobb munkaigény és a kvalifikált személyek alkalmazása egyelőre oly mértékben emeli a költségeket, hogy ezekben az állományokban a MT alkalmazása ritka, és inkább csak a termelési ciklus utolsó harmadában, kiegészítő termékenyítésként jön szóba.

Lúd tenyészállományokban viszont egyre nagyobb az igény alkalmazására (Sellier és Rousselot-Pailley, 1999; Bogenfurst, 2005).

Az ondó gyűjtésére különböző módosításokban, Burrows és Quinn (1937) által kidolgozott masszázstechnikák szolgálnak, kacsafajban a fantom tojó használata is elterjedt. Az ondót, hacsak nem használják fel 30 percen belül, hígítani kell a spermiumok életképességének megőrzése, a sperma gazdaságos használata, de főként a sperma eltarthatóságának meghosszabbítása céljából. Így nyer fontosságot az ondó minősítése is. A spermium-koncentráció ismerete lehetőséget ad az optimális mennyiségű spermium inszeminálására. Az ondó minőségének ismertetében jobb managementet tudunk biztosítani a jobb hímek számára, ezáltal jelentősen fokozható a szelekciós nyomás.

A különböző fajok számára eltérő összetételű egyszerűbb és komplikáltabb onдохígítókát fejlesztettek ki (Christensen, 1995), amelyhez antibiotikumok, illetve antioxidánsok adását is kipróbálták, az eredmények azonban nem egyértelműek (Surai, 1999; Breque és mtsai, 2003). Az ondó gyűjtésében, hígításában és az inszeminálásban nem sok változás történt az elmúlt évtizedekben, ami fejlődött, az, az ondó minősítésének a termékenység meghatározásának a technikája.

Az ondóminősítés fejlődése

A spermiumkoncentráció meghatározásához hemocytometer, különféle típusú fotométerek, illetve spermatocrit (packed cell volume) használhatók. A spermiumok életképességének meghatározására máig legelterjedtebb módszer a nigrozin-eozinnal, illetve anilin-eozinnal festett kenetek vizsgálata, kissé igényesebb az etidium-bromid exklúziós teszt (Bakst és Cecil, 1997), illetve a különböző fluoreszcens festékek alkalmazása (a SYBR-14 élő sejtek magját festi, a propidium jodid pedig az elhalt sejteket festi) kombinálva a hypo-ozmotikus stresszel (Donoghue, 1997), melyeknek alapja a spermiumok membrán-integritásának vizsgálata. A legnagyobb problémát a spermiumok motilitásának objektív meghatározása jelenti. Szubjektív számszerű becslések is elfogadhatók, ha a kellő gyakorlattal rendelkező vizsgáló mindig ugyanaz a személy. A „függő csepp” technika egyszerű és a tömegmozgás meghatározására kielégítő, hiszen szoros a korrelációja a termékenységgel. Objektív módszer egy videofelvevő alkalmazása a motilitás százalékos megítélésére, a különböző spektrofotométerek, valamint a tetrazólium festék-redukciós próba, mely egyúttal a spermiumok metabolizmusáról is tájékoztat (Wishart, 1997b). Viszonylag új, megbízható, és nem mechanikus módszer, a Robertson és mtsai, (1996) által kidolgozott *in vitro* spermium-pete interakciós teszt (Sperm-Egg Interaction Assay), melynek során a tojás belső szikmembránjának adott darabját inkubálják 39 °C-on a spermiumokkal és az akroszóma-reakciót követő penetrációs nyílások számának meghatározásával ítélik meg a hím állatok termékenyítő képességét, illetve a tárolt sperma minőségét. Mivel a termékenyítő képesség és a spermiumok progresszív motilitása között

szoros pozitív korreláció mutatható ki, tyúk húshibrid elit vonalakban a hímek szelekciójára használják e tulajdonságot. Az utóbbi évtizedben számos komplett műszert fejlesztettek ki a baromfiondó minőségének objektív vizsgálatára, kimondottan gyakorlati használatra, mint a „Sperm Quality Analyzer” (SQA), az „Accudenx procedura” (Sperm Mobility Assay, *Froman és mtsai*, 1999), valamint *Parker és mtsai* (2002) által vizsgált „OptiBreed” Sperm Quality Index (SQI). Az elmúlt dekádkhoz kapcsolódnak a számítógépes szoftver-fejlesztések (CASA = Computer Aided Sperm Analysis) is, melyek az objektív spermaminősítés legújabb (és legdrágább) eszközei. Mind a házityúk, mind a pulyka spermaminősítésére léteznek CASA-rendszerek, jóllehet egyes nézetek szerint a precíz mérésekhez olyan extrém hígítás szükséges, ami az eredeti spermimum-motilitást jelentős mértékben módosíthatja, így meg tévesztő lehet (*Bakst*, szóbeli közlés).

A termékenység-meghatározások újabb módszerei

Egy baromfiállomány szaporításának eredményességét – akár természetes, akár mesterséges úton történik – általában a termékeny tojások százalékában fejezik ki. A tojások termékenységének meghatározása leggyakrabban lámpázáskor történik, vagy a keléskor kieső tojások feltörésével, ismert azonban, hogy már a keltetés előtt vagy alatt néhány tojás feltörésével is tájékozódni lehet az embrió jelenlétéről (ún. Kosin-teszt, *Wishart*, 1995). E módszerek hátránya, hogy az esetleges terméketlenségre csak több hetes késéssel derül fény, az utóbbi módszer esetén pedig statisztikai problémák merülhetnek fel a mintavétel miatt, valamint a tojások elvesztése is hátrányos. Ezekon túlmenően a nem inkubált tojásokban a termékenység csak kb. 80, a terméketlenség 50%-os biztonsággal ítéltető meg (*Végi és mtsai*, 2005). Az említett módszerek további közös, lényeges hátránya, hogy a tojás termékeny volta csupán arról ad tájékoztatást számunkra, hogy egyetlen spermium megtermékenyítette a petesejtet, azonban nem tudjuk, mi van a többi több millió spermiummal. Köztudott, hogy a termékenyítés hatékonysága, a fertilis periódus hossza, a normális fejlődésű embriók aránya a petevezetőbe jutott hímvarsejtek mennyiségétől függ, ezért érthető, hogy a termékeny tojások százalékos arányának ismerete nem mond sokat számunkra.

A sikeres spermium-transzport meghatározásának sokkal közvetlenebb módja a letoj, nem inkubált tojásokban azon spermiumok kimutatása, amelyek a termékenyítés idején és helyén körülveszik a petét, azaz kapcsolatba kerülnek a szikahártyával. Ennek kétféle módja lehetséges, vagy a belső szikmembránban a penetráló spermiumok által hidrolizált nyílásokat számoljuk a csírákorong környezetében, sötét látótérben, kis nagyítással (egyszerűbb, olcsóbb és kevésbé veszélyes) vagy a külső szikmembránba ragadt, fluoreszcens festékkel festett spermiumokat számoljuk fluoreszcens mikroszkóppal. A nyílások (max. 1000) medián értékei pozitív korrelációban vannak a termékenységgel (*Wishart*, 1995), míg a membránban kimutatható spermiumok (kb. 200 ezer) azt a spermium-populációt képviselik, melyek az infundibulumban vannak és a raktározó tubulusokban levő spermiumpopulációval mutatnak szoros korrelációt. A termékenység valószínűsége 6 vagy annál több nyílás esetén 100%, míg 3 nyíláskor 50% az esélye a termékenyülésnek. A belső szikmembránban kimutatható nyílások és a külső membránban levő spermiumok száma lineárisan korrelál egymással (*Wishart és mtsai*,

2001). Segítségükkel megjósolható a fertilis periódus időtartama egyedi és állomány szinten egyaránt.

A tojásban kimutatható spermiumok meghatározása hasznos alternatívát nyújt a különböző rendszerekben működő tyúk- és pulykatenyészetekben a termékenység ellenőrzéséhez. Gazdasági szempontból jól használható egy állomány teljesítményének vizsgálatához és ma az egyedüli eszköz a gyakorlatban a pároztatás, illetve a mesterséges termékenyítés hatékonyságának precíz értékeléséhez. Segítségével előre jelezhető egy állomány eljövendő termékenységi szintje, valamint a termékenység csökkenésének ideje. Kutatásban használható ondóminőség-vizsgálatokban, amelyekben az ondó termékenyítőképességére vagyunk kíváncsiak, akár friss, akár különböző módon tartósított spermáról van szó, valamint olyan kísérletekben, amelyekben a takarmányozás, a környezeti változtatások, vagy az ivararány hatásának ellenőrzése a cél. E vizsgálatok segítségével jobban kifejezhetők a különbségek, sokszor olyan esetekben is, amikor a termékenységben látszólag nincs különbség, mivel ezeknek a technikáknak az informatív értéke jóval nagyobb (Wishart és Barna, 2001).

Szintén új és a gyakorlat számára fontos technika a keltetői lámpázáskor „terméketlennek” minősített tojásokban a szabad szemmel nem látható, igen korai embrióelhalás detektálása a csírákorong kimetszésével és fluoreszcens propidium jodidos festésével (Liptói és mtsai, 2004). Tenyészállományok esetében az ún. valódi termékenység ismerete a szelekciós szempontok egyike lehet, mivel a nagyon korai elhalások oka többnyire genetikai hibára vezethető vissza (Liptói és Hidas, 2006).

In vitro fertilizáció (IVF)

A technika alkalmazását az emlősökétől eltérően komplikálja, hogy az ovulált petesejtet sebészi úton kell az infundibulumból kinyerni, amikor az még csak a belső szikhártyával rendelkezik és termékenyíthető állapotban van. Az első kísérlet Howarth (1971) nevéhez fűződik, akiknek sikerült a petevezetőből közvetlenül az ovulációt követően kinyerni a petesejtet és friss spermával *in vitro* körülmények között termékenyíteni. 24 óra elteltével igazolták a több sejtből álló embrió jelenlétét. Nakanishi és mtsai, (1990) a csírákorong fluoreszcens festésével igazolták, hogy az IVF és *in vivo* jelenségek, a pronucleus formáció tekintetében, a termékenyítést követő 1–4. órában azonosak voltak. Tanaka és mtsai, (1994) életképes csírkét nyertek, amikor IVF-val termékenyített petesejtet transzplantáltak recipiens tojó petevezetőjébe, majd kikeltették a letojt tojást. Olszanska és mtsai, (2002) bizonyították, hogy az így nyert embriók kb. 25%-ában nem osztódik a sejtmag, tehát nincs embrionális fejlődés, csupán a csírákorong szegmentációja kezdődik el. A fenti eredmények figyelemre méltóak, gyakorlati hasznuk inkább az alapvető fiziológiai folyamatok tisztázásában, mint a konkrét tenyésztői munkában van.

Spermium-injektálás a citoplazmába (ICSI)

Az ICSI módszerét madarakon első ízben sikerrel Hrabia és mtsai, (2003) végezték. A termékenyülés hatékonysága a IVF-val elért eredményekhez volt hasonló. Sikeres embrionális fejlődést értek el közvetlenül a heréből származó –

éppen csak elongált – spermium injektálásával is, azonban gömb alakú spermátidával nem lehetett embriófejlődést elindítani. Vizsgálataikkal közvetlen bizonyítékot adtak a polyspermiás termékenyítés szükségességével szemben.

A BAROMFIONDÓ MÉLYHÜTÉSE, MINT AZ *EX SITU* GÉNMEGŐRZÉS RÉSZE

A kriobiológia látványos fejlődése *Polge és Parkes (1949)* felfedezésével indult, akik a véletlennek köszönhetően felismerték a glicerol sejtvédő hatását kakas-spermiumok mélyhűtésekor. A baromfiondó mélyhűtésének nagyobb ütemű fejlődése az elmúlt 20 évre tehető (*Lake, 1986; Bellagamba és mtsai, 1993; Hammerstedt, 1995; Surai és Wishart, 1996; Donoghue és Wishart, 2000; Blesbois és Labbé, 2003; Massip és mtsai, 2004*). A metodikai fejlesztések először a házityúk fajban indultak, majd az utóbbi 10 évben, a többi fajokban (pulyka, kacska, lúd, gyöngytyúk) is egyre több sikerrel próbálkoznak ondómélyhűtéssel. Az intenzív kutatások ellenére a gyakorlati tenyésztésben a mélyhűtött sperma alkalmazásának csekély jelentősége van, amelynek oka, hogy magát a mesterséges termékenyítést is csak kevés fajban használják rutinszerűen, valamint a mélyhűtési/felolvasztási technika költsége – különösen a naposbaromfi piaci árához képest – magas.

A baromfiondó mélyhűtése iránti fokozott érdeklődés, a Braziliában 1992-ben aláírt – a biodiverzitás megőrzéséről szóló – nemzetközi megegyezést követően nőtt látványosan.

A cél tehát:

- az őshonos és egyéb ritka baromfi- és nem domesztikált madárfajok genetikai állományának megőrzése
- szelektált szülőpár vonalak fenntartása
- kivételes tulajdonságú fajták, vonalak genetikai anyagának hosszú távú megőrzése

Az ondómélyhűtés fejlesztése tehát az *ex situ* génbankok kialakítása iránti igényen alapul, az *in situ* állományok viszonylag kockázatos (természeti katasztrófák, balesetek, járványok, mint a manapság gyakran emlegetett madárinfluenza) fenntartása mellett (*Pisenti és mtsai, 1999; Fulton, 2006; Woelders, 2006*).

Madarak esetében a genetikai anyag megőrzésének legkönnyebben megvalósítható módja a hímivar-sejtek mélyhűtéses tárolása, annak ellenére, hogy ezzel csak a haploid genomot tudjuk tartósítani. Így a kívánt genotípus visszanyerésére 4–6 generációs visszakeresztelés szükséges. A petesejtben a W kromoszóma megőrzésének egyedüli módja a letojtt tojásban 40–60 ezer sejt állapotban levő blastodermális sejtek, vagy a 2,5 napos inkubált embrió keringéséből a primordiális csírasejtek kinyerése és azok mélyhűtése, majd a felolvasztott sejtek recipiens tojásba való átültetése. Az utóbbi módszerekre is vannak már próbálkozások (*Petitte és mtsai, 1990; Várkonyi és mtsai, 1994; Reedy és mtsai, 1995; Naito, 1998; Naito és mtsai, 2000; Pokorny, 2002; Bednarczyk és mtsai, 2000, 2002; Barna és mtsai, 2003; Petitte, 2006; Patakiné és mtsai, 2008*), de ezek hatékonysága még kevésbé felel meg génmegőrzési célokra.

A madárspermiumok fagyasztásának hatékonysága messze nem éri el a különböző emlősfajokét. Mivel a madárspermium jellegzetessége a nagyon alacsony citoplazma-tartalom, amihez egy relatíve nagy sejtmembrán felület tartozik, vala-

mint sok intracelluláris membrán a mitokondriumok és egyéb sejtszervecskék révén, a mélyhűtés káros hatása kifejezettebb, mint az emlősspermiumok esetében. Ehhez jön még a madárszaporodás másik jellegzetessége, nevezetesen a spermiumok hosszabb-rövidebb ideig történő tárolódása a petevezetőben, azaz a mélyhűtött-felolvasztott spermiumoknak sokkal több ideig kell megőrizni élet- és termékenyítőképességüket, mint az emlősspermiumoknak.

Számos vizsgálat kutatja a különböző fajok, sőt fajták legmegfelelőbb krioprotektív anyag típusát, annak koncentrációját, a hűtés-felolvasztás sebességét, a fagyasztáshoz használt tárolóedény típusát (Barna és Varga, 2002).

A házityúk faj ondója mélyhűthető a legeredményesebben, különböző lassú, vagy gyors fagyasztási protokoll segítségével, glicerol (Lake és Stewart, 1978), dimetil-szulfoxid (DMSO) (Sexton, 1980), dimetil-formamid (DMF) (Schramm, 1991) vagy dimetil-acetamid (DMA) (Tselutin, és mtsai, 1995) intracelluláris krioprotektánsok használatával. A módszerekkel 67–68, estenként 80%-os termékenységet tudtak elérni. A pulykaondó érzékenyebb a mélyhűtési sérülésekre, ebben a fajban 25-35% termékenységgel lehet számolni attól függően, hogy műszal-mában vagy pellet formában történik a hűtés, illetve eltávolítják-e előzetesen az ondóplazmát vagy sem (Blanco és mtsai, 2000; Blesbois és Grasseau, 2001). Az eddigi vizsgálatok alapján bizonyos vonalak gúnárjainak spermája viszonylag jól ellenáll a mélyhűtésnek, több mint 60%-os termékenyülési eredménnyel (Lukasze-wicz, 2001; Tai és mtsai, 2001), más fajták esetében gyengébbek az eredmények (Lukasze-wicz és mtsai, 2004; Blesbois és mtsai, 2006). A gácsérok spermája szintén fajtától függően ellenálló, illetve kevésbé ellenálló lehet, de még elfogadható szinten mélyhűthető (Tselutin és mtsai, 1995). A baromfifajok közül – az eddigi vizsgálatok szerint – a gyöngytyúk faj spermája a legérzékenyebb a mélyhűtésre (Seigneurin és Blesbois, 2006). Laboratóriumunkban jelenleg ígéretes vizsgálatok folynak gyöngytyúk faj spermiumainak mélyhűtésével.

Jelen helyzetben elmondhatjuk, hogy a házityúk és lúd faj spermája alkalmas spermabankban történő hosszú távú, *ex situ* génmegőrzésre, de a folyamatban levő kutatásoknak köszönhetően valószínűleg az elkövetkező években a többi baromfifaj spermája is használható lesz hasonló célokra.

A mélyhűtéssel szembeni tolerancia eltérései a különböző baromfifajokban, illetve az egyes egyedek között, további kutatásokra ösztönöz. Ismertté váltak olyan biológiai és biofizikai tényezők, amelyek befolyásolják a spermiumok ellenállóképességét a mélyhűtéssel szemben, mint pl.: a membránáteresztő-képesség, a sejtmembrán lipidtartalma és összetétele, valamint a membránfluiditás, melyek hatnak a spermiumok motilitására, valamint az ATP koncentrációra (Blanco és mtsai, 2000; Long, 2006). Kimutatták, hogy a friss ondómintában mért membránfluiditás értéke összefüggésben van a spermium koleszterin/foszfolipid arányával és jelezni képes a spermium fagyaszthatóságát, azaz ismeretében előre jelezhető az egyes fajok, vagy egyedek közötti toleranciakülönbség a mélyhűtéssel szemben (Blesbois és mtsai, 2005, 2006), aminek gyakorlati szempontból nagy jelentősége van. További, a gyakorlat számára fontos eredmény, miszerint bizonyos diétával a spermiumok membránjának lipid-összetételét befolyásolni lehet (Blesbois és mtsai, 1997), és ezáltal fokozni a madárspermiumok fagyaszthatóságát.

A fenti áttekintés a baromfifajok szaporodásbiológiai kutatásaival és annak gyakorlati alkalmazásával, illetve alkalmazhatóságával kapcsolatban korántsem

teljes. Köztudott, hogy a szaporodásbiológia palettája rendkívül széles, így munkámban elsősorban azokra a vizsgálati eredményekre koncentráltam, amelyekkel – legalábbis részben – a mi laboratóriumunk is foglalkozik, illetve amelyeknek a gyakorlati tenyésztői munkában nagyobb jelentősége lehet.

IRODALOM

- Ashizawa, K. – Sano, R. (1990): Effect of temperature on the immobilization and initiation of motility of spermatozoa in the male reproductive tract of the domestic fowl, *Gallus domesticus*. Comp. Biochem. Physiol., 96A., 297–301.
- Ashizawa, K. – Suzuki, Y. – Okauchi, K. (1989): Flagellar movement in demembrated preparations of ejaculated fowl spermatozoa. J. Reprod. Fertil., 86. 263–270.
- Ashizawa, K. – Wishart, G. (1987): Resolution of the sperm motility-stimulating principle of fowl seminal plasma into Ca^{2+} and an unidentified low molecular weight factor. J. Reprod. Fertil., 81. 495–499.
- Bakst, M. (1980): Luminal topography of the male chicken and turkey excurrent duct system. Scan. Electron. Microsc., 3. 419–426.
- Bakst, M. (1993): Oviducal sperm storage in poultry: a review. Reprod. Fertil. Dev., 5. 595–599.
- Bakst, M. – Cecil, H. (1997): Techniques for semen evaluation, semen storage and fertility determination. Poultry Science Association, Savoy, USA.
- Bakst, M. – Cecil, H. – Sexton, T. (1991): Modification of ethidium bromide exclusion procedure for evaluation of turkey semen. Poultry Sci., 70. 366–370.
- Bakst, M. – Wishart, G. – Brillard, J.P. (1994): Oviducal sperm selection, transport and storage in poultry. Poult. Sci. Rev., 5. 117–143.
- Barna, J. (1999): Examination of some physical and chemical factors affecting the motility and storage of fowl spermatozoa. PhD Thesis. Pannon University, Kaposvár, Hungary
- Barna, J. – Ashizawa, K. – Boldizsár, H. – Inoue, M. (1998): Effects of taurine on the motility and intracellular free Ca^{2+} concentration of fowl spermatozoa *in vitro*. J. Reprod. Fert., 114. 225–229.
- Barna, J. – Boldizsár, H. (1996): Motility and agglutination of fowl spermatozoa in media of different amino acid content and pH value *in vitro*. Acta Vet. Hung., 44. 2. 221–232.
- Barna, J. – Boldizsár, H. – Zsolnai-Harcsi, I. (1996): Amino acid secretion of the hen's oviduct during the egg formation cycle. Acta Vet. Hung., 44. 2. 233–241.
- Barna, J. – Varga, Á. (2002): Ondósejtek mélyhűtéses tárolása baromfiféléknél, mint *ex situ* génmegőrzési módszer. In: Génmegőrzés; kutatási eredmények régi haszonállatfajták értékeiről. Tudományos ülés kiadványa, Debrecen, 227–232.
- Barna, J. – Várkonyi, E. – Varga, Á. – Hidas, A. (2003): Gamete manipulations: tools for poultry gene conservation. Proc. 3rd Vietnamese – Hungarian Conference on Domestic Animal Production and Aquaculture – “Quality and rural development”, 18–20 November, Hanoi, Vietnam, 123–133.
- Barna, J. – Végi, B. – Váradi, É. (2007): A szerves-kötésű szelén, mint természetes alapú takarmány kiegészítés hatása kakasok spermaminőségére. Proc. VI. Alternatív Állatgyógyászati Konferencia, Budapest, Magyarország
- Bednarczyk, M. – Lakota, P. – Sivek, M. (2000): Improvement of hatchability of chicken egg injected by blastoderm cells. Poultry Sci., 78. 1283–1288.
- Bednarczyk, M. – Lakota, P. – Slomski, R. – Plawski, A. – Lipinski, D. – Siemieniako, L. – Lisowski, M. – Czekański, P. – Grajewski, B. – Dłuzniewska, P. (2002): Reconstitution of donor blastoderm cells breed of chicken by *inter se* mating of germline chimeric bird. Poultry Sci., 80. 1347–1353.
- Bellagamba, F. – Cerolini, S. – Cavalchini, L. (1993): Cryopreservation of poultry semen: a review. World's Poultry Sci. J., 49. 157–166.
- Bilgili, S. – Renden, J. (1985): Relationship of body fat to fertility in broiler breeder hens. Poultry Sci., 64. 1394–1396.
- Birkhead, T. – Sheldon, B. – Fletcher, F. (1994): A comparative study of sperm-egg interaction in birds. J. Reprod. Fertil., 101. 593–600.
- Blanco, J. – Gee, G. – Wildt, D. – Donoghue, A. (2000): Species variation in osmotic, cryoprotectant, and cooling rate tolerance in poultry, eagle and falcon spermatozoa. Bio. Reprod., 63. 1164–1171.

- Blesbois, E. – Dubos, F. – Grasseau, I. – Richard, M. – Roman, Y. – Saint Jalme, M. – Seigneurin, F. (2006): Cryopreservation of avian spermatozoa and predictors of ability to freezing. *Les actes du BRG.*, 6. 415–431.
- Blesbois, E. – Grasseau, I. (2001): Seminal plasma affects liquid storage and cryopreservation of turkey sperm. *Cryobiol.*, 43. 334.
- Blesbois, E. – Grasseau, I. – Seigneurin, F. (2005): Membrane fluidity and the ability to survive cryopreservation in domestic bird spermatozoa. *Reprod.*, 129. 371–378.
- Blesbois, E. – Labbé, C. (2003): Main improvements in semen and embryo cryopreservation for fish and fowl. In: Cryopreservation of animal genetic resources in Europe. *Planchenault, D. (ed) SIA*, 23 Février 2003., BRG, Paris, 55–66.
- Blesbois, E. – Lessire, M. – Hermier, D. (1997): Effect of cryopreservation and diet on lipids of fowl sperm and fertility. *Poult. Av. Biol. Rev.*, 8. 149–154.
- Bogenfürst, F. (2005): Importance of technological developments on improvement of reproduction parameters of geese. *Proc. 3rd World Waterfowl Conference*, 3-6 November 2005., Guangzhou, China, 119-122.
- Boldizsár, H. – Wekerle, L. – Vén, E. – Sarlós, P. – Barna, J. (1991): Neurotransmitter Amino Acids as Modulators of Biological Processes of Spermatozoa. In: *GABA outside the CNS 199.* (ed: S.L. Erdő) Springer Verlag, Berlin, 199–211.
- Bramwell, R. – Howarth, B. (1992b): Preferential attachment of cock spermatozoa to the perivitelline layer directly over the germinal disc of the hen's ovum. *Biol. Reprod.*, 47. 1113–1117.
- Bramwell, R. – Howarth, B. – Geurts, L. – Graham, J. (1997): Effect of low or high sperm penetration values at the germinal disc on early embryonic mortality in chicken eggs. *Poult. Sci.*, 76 (suppl. 1.) 338.
- Bramwell, R. – McDaniel, C. – Wilson, J. – Howarth, B. (1996): Age effect of male and female broiler breeders on sperm penetration of the perivitelline layer overlying the germinal disc. *Poultry Sci.*, 75. 755–762.
- Bréque, C. – Surai, P. – Brillard, J.P. (2003): Roles of antioxidants on prolonged storage of avian spermatozoa *in vivo* and *in vitro*. *Mol. Reprod. Dev.*, 66. 314–323.
- Brillard, J.P. (1993): Sperm storage and transport following natural mating and artificial insemination. *Poultry Sci.*, 72. 923–928.
- Bruggeman, V. – Van As, P. – Decuyper, E. (2002): Developmental endocrinology of the reproductive axis in the chicken embryo. *Comp. Biochem. Physiol., Part A*. 131. 839–846.
- Burrows, W. – Quinn, J. (1937): The collection of spermatozoa from domestic fowl and turkey. *Poult. Sci.*, 26. 19–24.
- Caldwell, S. – Johnson, A. – Yule, T. – Grimes, J. – Ficken, M. and Christensen, V (1999): Increased egg production in juvenile turkey hens after active immunization with vasoactive intestinal peptide. *Poultry Sci.*, 78. 899–901.
- Cecil, H. – Bakst, M. – Monsi, A. (1988): Daily output of spermatozoa and extragonadal spermatozoal reserves in turkeys. *Poultry Sci.*, 67. 327–332.
- Christensen, V. (1995): Diluents, dilution and storage of poultry semen for six hours. In: *Proc. 1st Int. Symp. on AI of Poultry*. Bakst, M – Wishart, G. (eds). Poultry Science Association, Savoy, USA, 90–106.
- Combs, G. – Combs, S. (1984): The nutritional biochemistry of selenium. *Annual Review of Nutrition*, 4. 257–280.
- Croisille, Y. (1981): Differentiation of the epididymis in birds, with particular reference to the rooster. *Prog. Reprod. Biol.*, 8. 1–11.
- De Reviers, M. – Williams, J.B. (1984): Testis development and production of spermatozoa in the cockerel (*Gallus domesticus*). In: *Reproductive Biology of Poultry*. *Cunningham, F. – Lake, P.E. – Hewitt, D.* eds.: British Poultry Science Ltd. Harlow, UK.
- Donoghue, A. (1997): Determination of membrane integrity of sperm using fluorescent stains and hypo-osmotic stress. In: *Techniques for semen evaluation, semen storage and fertility determination*. Poultry Science Association, Savoy, USA, 43–45.
- Donoghue, D. – Krueger, B. – Hargis, B. – Miller, A. and El Halawani, M. (1989): Thermal stress reduces serum luteinizing hormone and bioassayable hypothalamic content of luteinizing hormone-releasing hormone in hens. *Biol. Reprod.*, 41. 419–424.
- Donoghue, A. – Wishart, G. (2000): Storage of poultry semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 62. 313–322.
- El Halawani, M.E. – Rozenboim, I. (1993): The ontogeny and control of incubation behavior in turkeys. *Poult. Sci.*, 72. 906–911.

- Esponda, P. – Bedford, J.M. (1985): Surface of the rooster spermatozoon changes in passing through the Wolffian duct. J. Exp. Zool., 234. 441–449.
- Fafanova, K. (1965): Morphological data on polyspermy in chickens. Federation Proceedings, Translation Supplement, 24. 239–247.
- Fasenko, G. M. – Hardin, R. T. – Robinson, F. E. (1992): Relationship of hen age and sequence position with fertility, hatchability, viability, and preincubation embryonic development in broiler breeders. Poultry Sci., 71. 1374–1383.
- Freedman, S. – Akuffo, V. – Bakst, M. (2001): Evidence for the innervation of the sperm storage tubules in the turkey (*Meleagris gallopavo*). Reprod., 121. 809–814.
- Froman, D. (1994): Biology of semen production and ejaculation. Proc 1st Int. Symp. on AI in Poultry. Beltsville, Maryland, 21–38.
- Froman, D. (2003): Deduction of a model for sperm storage in the oviduct of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). Bioi. Reprod., 69. 248–253.
- Froman, D. – Feltman, A. – Rhoads, M. – Kirby, J. (1999): Sperm mobility: A primary determinant of fertility in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). Bioi. Reprod., 61. 400–405.
- Froman, D. – Thursam, K. (1994): Desialylation of the rooster sperm's glycocalyx decreases sperm sequestration following intravaginal insemination of the hen. Biol. Reprod., 50. 1094–1099.
- Fulton, J. (2006): Avian genetic stock preservation: an industry perspective. Poultry Sci., 85. 227–231.
- Ghaly, K. – Galal, A. – Ibrahim, A. – Abded El Nabi, A. – Rozenboim, I. – El Halawani, M. (1993): Effect of thermal environment on serum prolactin (PRL) and luteinizing hormone (LH) and on hypothalamic vasoactive intestinal peptide (VIP) and gonadotropin releasing hormone I and II (GnRH-I and GnRH-II) of turkey hens. Poultry Sci., 72. (Suppl. 1) 62.
- Gumulka, M. – Kapkowska, E. (2005): Age effect of broiler breeders on fertility and sperm penetration of the perivitelline layer of the ovum. Anim. Reprod. Sci., 90. 135–148.
- Gwinner, E. (2003): Circannual rhythms in birds. Curr. Opin. Neurobiol., 13. 770–778.
- Hammerstedt, R. (1995): Cryopreservation of poultry semen – current status and economics. In: Proc. 1st Int. Symp. on AI in Poultry. Poultry Science Association, Savoy, Illinois, US. Bakst, M – Wishart, G. (eds). 229–250.
- Hocking, P. – Gilbert, A. – Walker, M. – Waddington, D. (1987): Ovarian follicular structure of white leghorns fed ad libitum and dwarf and normal broiler breeders fed ad libitum or restricted until point of lay. Br. Poult. Sci., 28. 493–506.
- Hocking, P. – Gilbert, A. – Whitehead, C. – Walker, M. (1988): Effects of age and of early lighting on ovarian function in breeding turkeys. Br. Poult. Sci., 29. 223–229.
- Howarth, B. (1971): An examination for sperm capacitation in the fowl. Bioi. Reprod., 3. 338–341.
- Howarth, B. (1984): Maturation of spermatozoa and mechanism of fertilization. In: Reproductive Biology of Poultry. (Eds). Cunnungham, F. – Lake, P. – Hewitt, D. British Poultry Science Ltd., The 4 Alden Press Ltd., Oxford, 161–174.
- Howarth, B. Jr. (1992): Carbohydrate involvement in sperm-egg interaction in the chicken. J. Recept. Res., 12. 255–265.
- Hrabia, A. – Takagi, S. – Ono, T. – Shimada, K. (2003): Fertilization and development of quail oocytes after intracytoplasmic sperm injection. Biol. Reprod., 69. 1651–1657.
- Johnson, A.L. – Woods, D.C. (2006): Ovarian dynamics and follicle development. In: Reproductive biology and phylogeny of birds. Jamieson, B. (ed.) Science Publishers, USA. Vol. 6A, Chapter 6. 243–277.
- Kuroki, M. – Mori, M. (1997): Binding of spermatozoa to the perivitelline layer in the presence of a protease inhibitor. Poultry Sci., 76. 748–752.
- Lake, P. (1986): The history and future of the cryopreservation of avian germ plasma. Poultry Sci., 65. 1–15.
- Lake, P. – Stewart, J. (1978): Preservation of fowl semen in liquid nitrogen – an improved method. Br. Poultry Sci., 19. 187–194.
- Lin, M. – Jones, R.C. (1992): Renewal and proliferation of spermatogonia during spermatogenesis in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. Cell Tissue Res., 267. 591–601.
- Lin, M. – Jones, R.C. (1993): Spermiogenesis and spermiation in the Japanese Quail, (*Coturnix coturnix japonica*). J. Anat., 183. 525–535.
- Liptói, K. – Hidas, A. (2006): Investigation of possible genetic background of early embryonic mortality in poultry. World's Poultry Sci. J., 62. 326–353.
- Liptói, K. – Varga, Á. – Hidas, A. – Barna, J. (2004): Detection of the rate of true fertility in duck breeds by the combination of two *in vitro* methods. Acta Vet. Hung. 52. 227–233.

- Long, J. (2006): Avian semen cryopreservation: what are the biological challenges? *Poultry Sci.*, 85. 232–236.
- Lukaszewicz, E. (2001): Effects of semen filtration and dilution rate on morphology and fertility of frozen gander spermatozoa. *Theriogen.*, 55. 1819–1829.
- Lukaszewicz, E. – Chrzanowska, M. – Jerysz, A. – Chelmonska, B. (2004): Attempts on freezing the Greylag (*Anser anser* L.) gander semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 80. 163–173.
- Massip, A. – Leibo, S. – Blesbois, E. (2004): Cryobiology and the breeding of domestic animals. In: *Life in the frozen state*. Benson, E. – Fuller, B. – Lane, N. (eds.) Taylor and Francis Group, London (GBR), 12. 371–392.
- Mauro, L.J. – Youngren, O.M. – Proudman, J.A. – Phillips, R.E. – El Halawani, M.E. (1992): Effects of reproductive status, ovariectomy and photoperiod on vasoactive intestinal peptide in the female turkey hypothalamus. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 87. 481–493.
- Naito, M. (1998): Manipulation of primordial germ cells for avian transgenesis. Review Article, www.agbiotechnet.com/reviews/DEC98/.
- Naito, M. – Tajima, A. – Yasuda, Y. – Tagami, T. – Harumi, T. – Matsubara, Y. – Sano, A. – Kagami, H. – Sakurai, M. – Kuwana, T. (2000): Cryopreservation of avian germline cells. *Proc. XXI. World's Poultry Congress*, Montreal, Canada, S1.9.
- Nakanishi, A. – Utsumi, K. – Iritani, A. (1990): Early nuclear events of *in vitro* fertilization in the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Mol. Reprod. Dev.*, 26. 217–221.
- Okamura, F. – Nishiyama, H. (1978a): The passage of spermatozoa through the vitelline membrane in the domestic fowl, *Gallus gallus*. *Cell Tiss. Res.*, 188. 497–508.
- Olsen, M. – Neher, B. (1948): The site of fertilization in the domestic fowl. *J. Exp. Zool.*, 109. 355–366.
- Olszanska, B. – Stepinska, U. – Perry, M. (2002): Development of embryos from *in vitro* ovulated and fertilized oocytes of the quail (*Coturnix coturnix japonica*). *J. Exp. Zool.*, 292. 580–586.
- Parker, H. – Karaca, A. – Yeatman, J. – Frank, L. – McDaniel, C. (2002): Fertility of broiler breeders following categorization by the OptiBreed Sperm Quality Index when hens are inseminated with a constant number of sperm. *Poultry Sci.*, 81. 239–245.
- Patakiné Várkonyi, E. – Végi, B. – Váradi, É. – Liptói, K. – Barna, J. (2008): Embryonic cell manipulation of geese for gene preservation purposes. XXIII. World's Poultry Congress. Brisbane, Australia, World's Poultry Sci. J., 64. (Suppl.) 2. 552.
- Petrosyan, A. – Papzyan, T. – Nollat, L. (2006): Administration of Se as Sel-Plex on top of sodium selenite still improves fertility and hatchability of a broiler breeder flock. *Proc. XII. European Poultry Conference*, Verona, Italy, 10–14 September 2006, CD.
- Petitte, J. (2006): Avian germplasm preservation: embryonic stem cells or primordial germ cell? *Poultry Sci.*, 85. 237–242.
- Petitte, J. – Clark, M. – Liu, G. – Verrinder Gibbins, A. – Etches, R. (1990): Production of somatic and germline chimeras in the chicken by transfer of early blastodermal cells. *Dev.*, 108. 185–189.
- Pisenti, J. – Delany, M. – Taylor, R. – Abott, U. – Abplanalp, H. – Arthur, J. – Baxts, M. – Baxter-Jones, C. – Bitgool, J. – Bradley, F. – Cheng, K. – Dietret, R. – Dodgson, J. – Donoghue, A. – Emsley, A. – Etches, R. – Frahm, R. – Gerritz, R. – Goetinck, P. – Grunder, A. – Harry, D. – Lamont, S. – Martin, G. – McGuire, P. – Molberg, G. – Pierro, L. – Qualset, C. – Qureshu, M. – Schultz, F. – Wilson, B. (1999): Avian genetic resources at risk: an assessment and proposal for conservation of genetic stocks in the USA and Canada. Report No.20. California Univ. Agriculture and Natural Resources Division, Genetic Resources Conservation program. Davis, CA USA, 120.
- Pokorny, P. (2002): Obtaining chicken chimeras after injecting cryopreserved blastoderm cells into the subgerminal cavity of recipient embryos. *Anim. Sci. Papers Rep.*, 20. 55–66.
- Polge, C. – Parkes, A. (1949): Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature*, 164. 666.
- Proudman, J. (1994): Biology of egg production and fertility. *Proc. 1st Int. Symp. on AI in Poultry*. Beltsville, Maryland, 128–148.
- Reddy, R.P. – Sadjadi, M. (1990): Selection for growth and semen traits in the poultry industry: what can we expect in the future. In: *Control of fertility in birds*, Tours, France, July 2–4 1990. Ed. INRA, Paris, 47–60.
- Reedy, S. – Leibo, S. – Clark, M. – Etches, R. (1995): Beyond freezing semen. *Proc. 1st Int. Symp. on AI of poultry*. Bakst, M. – Wishart, G. (eds) Poultry Science Association, Savoy, IL. 251–261.
- Renema, R. – Setton, A. (2004): Dietary selenium source can affect egg production, shell quality and fertility of broiler breeders. *Proc. XXII. World's Poultry Congress*, Istanbul, Turkey, CD.

- Roberson, L. – Brown, H. – Wishart, G. (1996): In vitro assay of sperm-egg interaction: characterization and applications. *Int. Hatchery Practice*, 23–27.
- Schramm, P. (1991): Eignung verschiedener Gefrierschutzstoffe zur Kryoprotektion von Hahnensperma. *Monatsh. Veterinärmedizin*, 46. 438–440.
- Sefton, A.E. – Edens, F.W. (2004): Sel-plex improved semen quality in broiler breeder males in a cage environment. *Proc. XXII. World's Poultry Congress, Istanbul, Turkey, CD*.
- Seigneurin, F. – Blesbois, E. (2006): The first method of cryopreservation of guinea fowl semen. *World Poultry Science Association*: <http://www.animalscience.com/uploads/additionalFiles/wpsa.htm>. 23. 1–2.
- Sellier, N. – Rousselot-Pailley, D. (1999): Effect of lighting programs, artificial insemination and improvement of goslings' production. *Symposium INRA/COA Toulouse, France*, 123–135.
- Sexton, T. (1980): Optimal rate for cooling chicken semen from +5 °C to -196 °C. *Poultry Sci.*, 59. 2765–2770.
- Sharp, P.J. (1993): Photoperiodic control of reproduction in the domestic hen. *Poultry Sci.*, 72. 897–905.
- Sharp, P.J. – Dunn, I.C. – Cerolini, S. (1992): Neuroendocrine control of reduced persistence of egg-laying in domestic hens: evidence for the development of photorefractoriness. *J. Reprod. Fertil.*, 94. 221–235.
- Sprado, R.L. – Russel, L.D. (1988): Spermiogenesis in the red-ear turtle (*Pseudemys scripta*) and the domestic fowl (*Gallus domesticus*): A study of cytoplasmic events including cell volume changes and cytoplasmic elimination. *J. Morphol.*, 198. 95–118.
- Steele, M. – Meldrum, W. – Brillard, J.P. – Wishart, G. (1994): The interaction of avian spermatozoa with the perivitelline layer *in vitro* and *in vivo*. *J. Reprod., Fertil.*, 101. 599–603.
- Steele, M. – Wishart, G. (1992a): Characterization of a mechanism impeding sperm transport through the vagina of the chicken. *Proc. Int. Congr. Anim. Reprod.* 12. 1593–1595.
- Stepinska, U. – Bakst, M. (2007): Fertilization. In: *Reproductive Biology and Phylogeny of Birds*. Jamieson, B. (ed.) Vol 6A. Science Publishers, USA, 553–587.
- Surai, P. (1999): Vitamin E in avian reproduction. *Avian and Poultry Biol. Rev.*, 10. 1–60.
- Surai, P. (2002): Selenium in poultry nutrition. *World's Poultry Sci. J.*, 58. 333–347.
- Surai, P. – Kostjuk, I. – Wishart, G. – Macpherson, A. – Speake, B. – Noble, R. – Ionov, I. – Kutz, E. (1998): Effect of vitamin E and selenium supplementation of cockerel diets on glutathione peroxidase activity and lipid peroxidation susceptibility in sperm, testes and liver. *Biol. Trace Elem. Res.*, 64. 119–132.
- Surai, P. – Sparks, N. – Speake, B. (2006): The role of antioxidants in reproduction and fertility of poultry. *Proc. XII. European Poultry Conference, Verona, Italy, 10–14 September 2006, CD*
- Surai, P. – Wishart, G. (1996): Poultry artificial insemination technology in the countries of the former USSR. *World's Poultry Sci. J.*, 52. 27–43.
- Szöke, Zs. – Ferenczi, Sz. – Biczó, A. – Péczely, P. (2004): Effect of maternal handling stress on the steroid deposition into the yolk and on the offspring. *Proc. 8th International Symposium on Avian Endocrinology, Phoenix, AZ, USA*, 78.
- Tai, J. – Chen, J. – Wu, K. – Wang, D. – Tai, C. (2001): Cryopreservation of gander semen. *Br. Poultry Sci.*, 42. 384–388.
- Tanaka, K. – Wada, T. – Koga, O. – Nishio, Y. – Hertelendy, F. (1994): Chick production by *in vitro* fertilization of the fowl ovum. *J. Reprod. Fertil.*, 100. 447–449.
- Thurston, R.J. – Hess, R.A. (1987): Ultrastructure of spermatozoa from domesticated birds: Comparative study of turkey, chicken and guinea fowl. *Scanning Microsc.*, 1. 1829–1838.
- Tselutin, K. – Narubina, L. – Maorodina, T. – Tur, B. (1995): Cryopreservation of poultry semen. *Br. Poultry Sci.*, 36. 805–811.
- Várkonyi, E. – Hidas, A. – Szalay, I. (1994): Embryo manipulation of chicken chimeras. *Proc. 10th Roundtable Conference on Animal Biotechnology, Kosice, Oct. 11–12*.
- Végi, B. – Szöke, Zs. – Barna, J. (2006): Monitoring effects of various spiking techniques in broiler breeder flocks by counting of IPVL holes of the eggs. *XII. European Poultry Conference, 10–14 September. 2006. Verona, Italy, World's Poultry Sci. J., (Suppl) 62. 530*.
- Végi, B. – Varga, Á. – Szöke, Zs. – Lennert, L. – Barna, J. (2005): A termékenység előrejelzése új *in vitro* technika alapján hústípusú szülőpár-állományban. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 54. 3. 208–215.
- Végi, B. – Váradi, É. – Ferencziné Szöke, Zs. – Barna, J. (2008): Changes in sperm quality of broiler breeder males supplemented with organic selenium. *Proc. 16. Int. Cong. Anim. Reprod., Budapest, Hungary, 13–17 July 2008*. 140.

- Végi, B. – Váradi, É. – Szabó, Zs. – Szőke, Zs. – Kőrösiné Molnár, A. – Barna, J. (2007): A hőkezelés hatása hímvárú baromfifélék spermatológiai mutatóira. 14. Szaporodásbiológiai Találkozó, Keszthely, 2007. október 5–6. 39.
- Waddington, D. – Gribbin, C. – Sterling, R. – Sang, H. – Perry, M. (1998): Chronology of events in the first cell cycle of the polyspermic egg of the domestic fowl (*Gallus domesticus*). *Int. J. Dev. Biol.*, 42. 625–628.
- Wishart, G. (1995): New approaches to evaluating male and female fertility. In: *Proc. 1st Int. Symp. on AI of Poultry*. Bakst, M – Wishart, G. (eds). Poultry Science Association, Savoy, USA, 207–223.
- Wishart, G. (1997a): Quantitative aspects of sperm-egg interaction in chickens and turkeys. *Anim. Reprod. Sci.*, 48. 81–92.
- Wishart, G. (1997b): Sperm motility and metabolism. In: *Techniques for semen evaluation, semen storage and fertility determination*. Poultry Science Association, Savoy, USA, 46–67.
- Wishart, G. – Barna, J. (2001): A szaporítás hatékonyságának becslése a tojás spermiumtartalmának meghatározásával. *A baromfi*, 4. 3. 14–17.
- Wishart, G. – Horrocks, A. (2000): Fertilization in birds. In: *Fertilization in Protozoa and Metazoan Animals. Cellular and molecular aspects*. Tarin, J. – Cano, A. (eds). Springer Verlag, Berlin, 193–222.
- Wishart, G. – Staines, H. – Hazary, R. (2001): Evaluation of fertility: biological basis and practical application. *World's Poultry Sci. J.*, 57. 309–314.
- Witty, J. – Bridgham, J. – Johnson, A. (1996): Induction of apoptotic cell death in hen granulosa cells by ceramide. *Endocrinol.*, 127. 5269–5277.
- Woelders, H. – Zuilberg, C. – Hiemstra, S. (2006): Animal genetic resources conservation in the Netherlands and Europe: poultry perspective. *Poultry Sci.*, 85. 216–222.

Érkezett: 2008. szeptember
Szerző címe: Állattenyésztési és Takarmányozási Kutatóintézet,
Author's address: Baromfi Szaporodásbiológiai Laboratórium
Research Institute for Animal Breeding,
Lab. of Reproduction Biology of Poultry
H-2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.