

# BIOTECHNOLÓGIA A BAROMFITENYÉSZTÉSBEN

HIDAS ANDRÁS - LIPTÓI KRISZTINA

## ÖSSZEFOGLALÁS

A biotechnológia rohamos technológiai haladása növekvő jelentőséggel bír a baromfitenyésztés számára is. Jelen kitekintésünk az általunk művelt szakterületekre, a genomikára és a szaporodásbiológiára összpontosít. Az elmúlt években az ismeretek és a kutatások költség és információ aránya fejlődött, ami ennek a szakterületnek is komoly lendületet adott, annak ellenére, hogy a tenyészállatok egyedi értéke itt csekély. Megfigyelhető, hogy az alap- és humán kutatások eredményei, eljárásai egyre gyorsabban átjutnak a baromfitenyésztési kutatásokba. Az elmúlt időszakban gyorsan változó piaci igények és technológiai környezet egyre rugalmasabb reagálást igényel a tenyésztés oldaláról. A kihívások és a kutatási eljárások fejlődése izgalmas időszakot hozott a baromfi biotechnológia számára.

## SUMMARY

*Hidas, A. – Liptói, K.: BIOTECHNOLOGICAL ADVANCES IN POULTRY BREEDING*

Current progress in biotechnology has an increasing impact on poultry breeding. Our outlook is focusing on our fields of research: genomics and reproduction biology. In the last years knowledge and research cost and gain ratio development introduced a great progress even in the poultry breeding, despite of the low individual value of breeding animals. Transmission time of the knowledge and techniques from the basic and human researches is decreasing. During this period rapid changes on the market needs and technological environment demand more and more flexible response from the side of the breeding. Challenges and research technological development makes an exciting period of biotechnology in poultry breeding.

Napjainkban a mezőgazdaság számos kihívás előtt áll. A népesség gyarapodása, a klímaváltozás, a fogyatkozó édesvíz készletek a baromfitenyésztést is nagyban befolyásoló kérdések, amelyek megoldásában a kutatás szerepe kétségtelen. Az intenzív tenyésztésben használt genotípusok termelési paraméterei már a biológiailag elérhető maximumot közelítik, amellyel együtt az ellenálló képesség, a szervezeti szilárdság csökken, megnehezítve a változó környezethez való alkalmazkodást. Az iparszerű termeléssel a genetikai erőforrások beszűkültek, de az „*in vivo*” és „*in vitro*” génbankokban őrzött őshonos ill. régóta honosult fajták egy része ma már megtalálható és a későbbi tenyésztői munkában felhasználható.

A nagyüzemi termelés intenzív genetikai alapanyagainak fejlesztése mellett a génbanki erőforrások jellemzése, megőrzése és felhasználásának kidolgozása nagyban igényli a korszerű biotechnológiai eljárásokat, tapasztalatokat.

Az alábbi áttekintés a biotechnológiai (genomikai, szaporodásbiológiai) jellegű kutatási irányokat mutatja be, ezeken belül kiemelten a különböző területeken elért hazai eredményeket ismerteti.

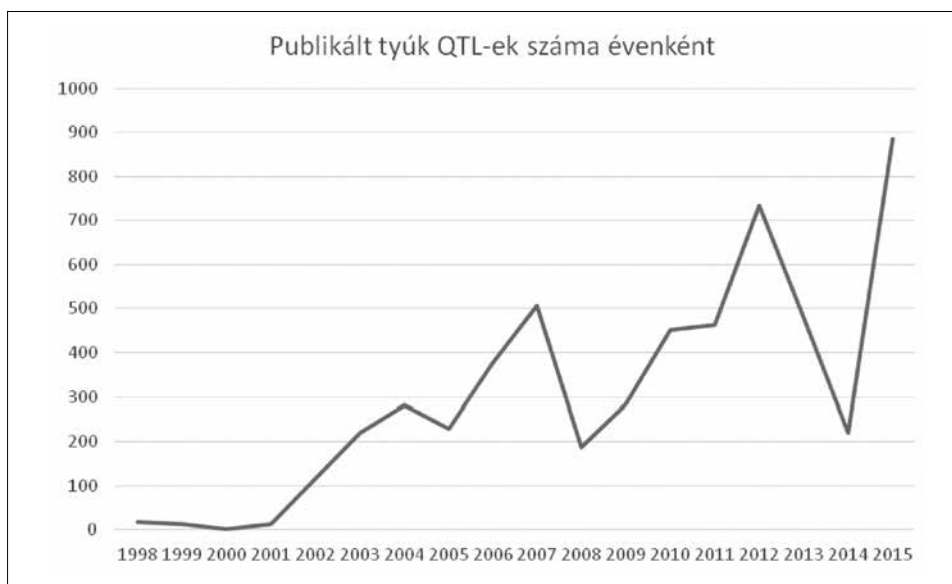
## QTL ÉS MARKERKUTATÁS – MARKEREKEN ALAPULÓ SZELEKCIÓ

Talán a biotechnológia eszköztárának legintenzívebb felhasználása ezen a területen történik. A genetikai állomány analízisére az utóbbi években olyan nagy áteresztőképességű analitikai rendszerek jöttek létre, amelyek jelentősen megnövelték a lehetőségeket. Az áteresztőképesség vonatkozik a mintaszámra és/vagy a vizsgálandó markerek számára. Ez azt jelenti, hogy ma már nem az eszközök elérhetősége, hanem minél gazdaságosabb, legoptimálisabb felhasználása a kulcskérdés a markerkutatásban és a szelekcióba illesztésben. A szarvasmarhánál már piacon elérhető genomikus tenyészértékbecslés a markerkutatások eredményeként. Hasonló törekvések természetesen a baromfitenyésztésben is vannak. Annak ellenére, hogy a baromfifélek hagyományosan a leggyorsabb genetikai előrehaladást mutatják a nemesítésben a faji jellegzetességből fakadóan, ezen a területen egy kicsit bizonytalanság látszik. Ennek több oka van, amelyek már korábban is látszódtak a markeren alapuló szelekcióval kapcsolatban. A korábbi markerkutatások egyik problematikája az volt, hogy viszonylag időigényesek voltak, az elit állományokban több generáció váltotta egymást, mire eredményt lehetett felmutatni. Másik nagy probléma, hogy a markerek szigorúan egy adott állományra, vonalra érvényesek. Ez részben abból fakad, hogy az értékes génváltozatokkal való kapcsolatuk teljesen másként alakulhat más állományokban, ami akár kontraszelekcióhoz is vezethet, vagy pedig egy más genetikai környezetben az adott génváltozat súlya, hatása jelentősen eltérhet.

A markerek feltárása mellett azok alkalmazása is kihívást jelent. Egy tenyészbika genomi tenyészértékének megállapítása igen könnyen kifizetődő lehet, míg egy tenyészka, vagy tyúk egyedi értéke sokkal kisebb. Ezen túlmenően egyedi hatásuk a következő generációra is sokkal kisebb, mivel kevesebb utód származik tőlük. Ez nem kis nehézség, mivel mind a markerek felkutatása, mind állomány szintű diagnosztikájuk sokkal nagyobb hatékonyságot igényel. Valamelyest kedvez a faj esetében, hogy mivel kisebb a területigényük, jóval nagyobb tömegben tarthatók azonos környezetben, mint a nagyállatok. Így a fenotípusok felvételezése megbízhatóbb lehet kisebb környezeti variancia mellett.

A nehézségek ellenére a kutatások folyamatosak a QTL-ek (quantitative trait loci) és markereik feltárásán. Kezdetben ezek a mikroszatellit markerekre alapozódtak. Az utóbbi években áttérés volt megfigyelhető az SNP (single nucleotide polymorphism) markerekre, amelyek a genom szélesebb körű és részletesebb lefedettségét teszik lehetővé. Emellett az új módszerek révén viszonylag gazdaságosan és különösen gyorsan lehet akár újraszekvenálni egyedek genomját, vagy sok ezer lókuszra vonatkozó DNS-chipeket alkalmazni. Megfelelő informatikai kapacitások birtokában pedig SNP-k milliói azonosíthatóak és használhatóak tetszés szerinti számban.

Ez idáig rengeteg QTL-t azonosítottak, azaz olyan genomi területeket, amelyek közvetlenül, vagy kapcsolatban, kisebb nagyobb hatást gyakorolnak egyes értékmérőkre:



<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>

Azonosított QTL-ek a különböző értékmérőkkel kapcsolatban:

| értékmérő          | QTL-ek száma |
|--------------------|--------------|
| tojássúly          | 248          |
| hasúri zsír tömege | 200          |
| takarmány felvétel | 189          |
| testsúly (42. nap) | 159          |
| vágott súly        | 150          |
| mellizom súly      | 144          |
| testsúly           | 141          |
| hasúri zsír %      | 139          |

| értékmérő                       | QTL-ek száma |
|---------------------------------|--------------|
| Marekkal kapcsolatos értékmérők | 117          |
| tojástermelés                   | 98           |
| ellenanyag termelés             | 91           |
| lép súlya                       | 87           |
| tollcsipkedés                   | 79           |
| testsúly (21. nap)              | 75           |

<http://www.animalgenome.org/cgi-bin/QTLdb/index>

A genomvizsgálatok olyan részletességet értek el, hogy ma már nemcsak kapcsoltságban lévő markerek felkutatása reális, de maguk a génváltozatok is jó eséllyel felderíthetők, mint akár a takarmányértékesítéssel kapcsolatban (*Rasa* és *mtsa*, 2015).

Az egyre koncentráltabban működő tenyésztőcégek régóta várják az eredményeket, eszközöket. Egyre inkább saját hatáskörükbe vonják ezeket a vizsgálatokat, kutatásokat. Az akadémiai szektoron kívüli tényleges kutatási és alkalmazási eredményekről viszonylag keveset tudni. Amit kommunikációjukból rendszeresen ki lehet hallani, hogy igen nagy erőket fordítanak erre. Akár a projektköltségek bemutatása, akár az együttműködési megállapodások, mind erre mutatnak. Pl. a Cobb-Vantress és Hendrix Genetics 2008 óta működnek együtt és újabb 10 éves megállapodást írtak alá genomikai kutatások területén. Eddigi közös fejlesztésük eredménye a 60.000 SNP diagnosztizálására alkalmas chip (*Ref1*).

A HyLine szakembere szerint a jelenleg egyedenként több, mint 150 dolláros genomi tenyészértékbecsülés kifizetődik a szaporítási fázisokon keresztül előállított termelő állományok szintjén (*Wolc*, 2014). Vizsgálataikban a hagyományos szelekcióhoz képest tojóhibrideknél 16 értékmérőből 12 esetben felülmúlták a hagyományos tenyésztési eljárást. Ezt részben a pontosabb tenyészérték becsléssel, részben a gyorsabb generációváltással magyarázták. Ez lehetséges, de viszonylag régi kritika a markerkutatásokkal szemben, hogy a hagyományos tenyésztési eljárások még mindig költséghatékonyabbak. Ezért elgondolkodtató, hogy ha ennyit költenek az elitállományoknál alternatív fejlesztésekre, milyen hozamot kapnak vissza? Mindenesetre ez már biztató szintje a markeren alapuló szelekciónak.

A hagyományos nemesítésben évtizedekkel ezelőtt azt feltételezték, hogy majd eljön a genetikai kifáradás, amikor már minden értékes allélt fixáltunk az állományokban - ez azonban mégsem következett be. Nagyjából elmondható, hogy mind brojler, mind tojó vonalon töretlen a fejlődés, még a tenyésztőket is meglepve. Ugyanez a helyzet a markeren alapuló szelekcióval. Egy optimális, csúcsteljesítményt jelentő genetikai konstrukció létrehozása a ma jelentős súllyal bíró génváltozatok részvételével azt sugallhatná, hogy ezzel elérjük a csúcst és vége a genetikai varianciának a megcélzott értékmérőkben. Ennek híján a markerkutatás, csakúgy, mint a hagyományos tenyésztési módszerek, nem juthatnak el a végső célig. Ez azt jelenti, hogy egy fenntartható, folyamatos markerkutatásra kell berendezkedni, tehát nem egy egyszeri óriás beruházással kinyert marker-tömeggel tudjuk hosszú távon fenntartani a genetikai előrehaladást.

A fenotípusos variancia genetikai alapjainak egy másik kutatási irányzata a szelekciós lenyomatok (selection signature) keresése az újonnan vagy régóta szelekció alatt álló tulajdonságokkal kapcsolatban. Miként a populáció méretének, összetételének és párosítási rendszerének, így a meghatározott szelekciós irányoknak is megvannak a nyomai a genomban, ami szintén jó forrása lehet a QTL-ek feltérképezésének (*Zhang*, 2013).

## FUNKCIONÁLIS GENETIKA

A korszerű, nagy áteresztőképességű, komplex szekvenciahalmazt kezelni, analizálni képes eljárások nemcsak a genom vizsgálatában, de annak termékeit, átíródott szekvenciáit, RNS darabokat is azonosítani, jellemezni képesek. Ezért

nagy erővel folyik ezek kutatása, mert valójában ezek azok a géntermékek, amelyek talán még közelebb állnak a fenotípus meghatározásához. A különböző szövetekben, élettani (kóros) állapotokban tanulmányozásuk közelebb vihet az értékmérők, betegségek, ill. ellenállóképesség alakulásának megértéséhez. Itt szintén igen sok szekvencia adathalmazát kell kezelni és nem csak a géntermékek, átíródott DNS szakaszok találhatók ebben a tömegben, amelyek későbbiekben fehérjék képződését határozzák meg, de olyan apró RNS szekvenciák is, amelyek szabályozási funkcióval rendelkeznek és talán még bonyolultabbá teszik az átöröklés és a genetikai anyag működésének képét (*Dhanasekaran és mtsai, 2014*)

## GENOTÍPUS – KÖRNYEZET INTERAKCIÓ

Ha a DNS alapú tenyésztés nem egyszerű kérdés, akkor jön a következő nehézségi fokozat. A hagyományos tenyésztés alapegyenlete is tartalmazza a genotípus-környezet interakciót, ezért már elbizonytalaníthat a markerek kutatásában, hogy a környezetet szintén figyelembe kell venni. Így az értékesnek látszó allélek és/vagy markerek nem biztos, hogy minden környezetben hasonló hatásúak.

## EPIGENETIKUS HATÁSOK

Sokáig volt egyszerű a világgépünk, míg azt gondoltuk, hogy a szerzett tulajdonságok nem öröklődnek. Ez továbbra is így van. Meg nem is. Az epigenetikus hatások első leírásukban még beleillettek a képbe, míg többnyire olyan jelenségekkel találkoztak, mint pl., emlősnél az apai és anyai eredetű genom felek eltérő működése, szerepe az utód embrionális fejlődésében, vagy egyes ritka örökletes betegségeknél. Azután kezdtek gyűlni olyan információk, melyek arra utaltak, hogy a szülői generációt ért különbözős környezeti, vegyi, életmódbeli, táplálkozási hatások következményekkel járhatnak az utódokban, esetleg nagyobb mértékben, mint ami pl. magyarázható a magzati élet alatti hatásokkal, környezeti tényezőkkel. Ma talán azokat a jelenségeket nevezhetjük epigenetikus hatásoknak, amelyek ugyan örökletesek, de nem DNS szinten zajlik átörökítésük, amennyiben a DNS szekvenciát értjük ezalatt. Ha a DNS alapú öröklődés jelenségeit időnként túl komplexnek látjuk, akkor ez nem lesz könnyebben átlátható az epigenetikus hatások ismeretében. Főleg, mert alighanem sok szereplője van ennek a jelenségnek. A kromoszómák felépítésében szerepet játszó hiszton fehérjékben előálló változások, kromoszómális területek heterokromatinizációja, a DNS metilációja, a petesejtől az anyától kapott apró szabályozó RNS-ek tömege mind részt vesz a jelenségben. Még a sokáig értelmetlen, repetitív genomi szakaszok is lassan kezdenek értelmet nyerni, mint olyan területek, amelyek a kromatin állomány csomagolásában, és ezzel szoros összefüggésben, a funkciójában is szerepet kapnak és mutathatnak jelentős változatosságot, amelyek olykor tetten is érhetők a fenotípusban. Meg kell említeni az őssejtekkel, a sejtek differenciálódásával kapcsolatos rengeteg kutatást, amelyek folyamatosan feltárják, hogy adott génkészlettel milyen eltérő működések indukálhatók, szabályozó elemek ki vagy bekapcsolásával, anélkül, hogy magába a genetikai állományba beavatkoznánk. Ebből még bizonyosan sokat fogunk tanulni, de egyelőre az epigenetikus hatások súlya még nem ismert.

## NUTRIGENOMIKA

A genotípus és környezet interakciójának speciális esete az állati szervezet és a takarmányok, ill. komponenseinek kapcsolata. Már korábban is foglalkoztak ezzel, hogy pl. brojlereket szelektáltak magas teljesítményre különböző összetételű (energia és fehérjeszint) takarmánykeverékek mellett (Pym, 1990). A különböző takarmány-alapanyagokkal és azok biológiailag aktív komponenseivel kapcsolatban emésztési, ill. transzformációs sajátosságok és különbségek figyelhetők meg, melyek genetikailag meghatározottak. Ez az irány szintén sokáig fog munkát adni a kutatóknak (Jlali és mtsai, 2014).

## TELOMER RÉGIÓK

Az elmúlt években, többek között egy Nobel díjnak köszönhetően, a társadalom figyelmét felkeltették a kromoszómák telomérikus régióinak sajátosságai. A kromoszóma végeken rendkívül konzervatív, rövid, ismétlődő szekvenciákat találunk (TTAGGG). Ezek fő funkciója a kromoszómális DNS állomány tökéletlen replikációjából származó, aktív genomi területeket érinthető DNS veszteség kikerülése. Felmerült, hogy a változó hosszúságú (kópiaszámú) területek akár az öregedéssel is összefüggésben lehetnek. Ez a kérdés természetesen a baromfiféléknél is érdekes lehet, különösen, ha a telomérikus régiók méretének örökölhetőségét és az egyedfejlődés során a szervezetet érintő hatások ezzel mutatott összefüggések egész sorát vesszük számba (Sohn és Subramani, 2014).

## GYORS GENETIKAI DIAGNOSZTIKA

Egyre gyakrabban hallani különböző célokra fejlesztett, gyors, genomikus információk kinyerésére alkalmas eszközökről, amelyek már szinte elképzelhetetlen lehetőségeket nyitnak a genomika számára. Egy példa a nanopórusokon alapuló szekvenálási technológia, amely eléggé komplex feladatokat képes megoldani egy mobiltelefon méretű kéz eszközzel (Bolisetty és mtsai, 2015), akár a mintavétel helyszínén.

## GMO (GENETIKAI MÓDOSÍTÁS) A BAROMFITENYÉSZTÉSBEN

Az őscsírasejtek (primordial germ cells – PGC) izolálásának, tenyésztésének, valamint a genetikai manipuláció eszköztárának a fejlődésével a genetikai módosítás lehetősége egyre inkább jelen van (Stupar és mtsai, 2016). Ezek a sejtek a korai embriók véráramából könnyen izolálhatók és tenyészthetők is. Hasonló korú embrióba visszajuttatva pedig olyan kimérák hozhatók létre, hogy célzottan a csírahámba épülnek be a donor sejtek. Az izolált és tenyészetben fenntartható PG sejtek genetikai állománya módosítható. Eltekintve a terület társadalmi, politikai megítélésétől, ami voltaképpen eléggé jogos, hiszen ez az a fajta beavatkozás, ami messze megelőzi ismereti környezetét, azaz, olyanba nyúl bele, ami messze van a teljes átláthatóságtól. Nem feltétlenül a kockázatok, a veszélyek, amelyek az irányzat ellen szólnak, bár, amit nem látunk át teljesen, ott mindig van kockázat, hanem, amit a markerkutatásokból is látunk, hogy a genetikai információ jelenléte

mellett számolni kell a genomikus kölcsönhatásokkal, a szabályozó rendszerekkel és a környezeti interakciókkal. Így aztán a meglévő génváltozatok viselkedése, működése sem mindig bizonyosan előre látható.

Ettől függetlenül, számos példa, elképzelés mutatja, hogy gyógyászati, kísérletes területeken igen értékes és ígéretes a terület fejlődése.

Másik, némileg rokon aspektus a GMO a takarmányozásban. Ez a kérdés eléggé nehezen megkerülhető, hiszen a világ egyre nagyobb részén uralkodik el a genetikailag módosított takarmány alapanyagok termesztése. Eddigi vizsgálatok szerint (*Chesson és Flachowsky, 2007*), nem tapasztaltak káros hatást az értékmérőkre baromfinál.

## IVARI DETERMINÁCIÓ

Határterület a genomika és szaporodásbiológia területe között. Nagyon régi kérdés a baromfiféléknél, hiszen hústermelésben a hímivar használata előnyösebb, hatékonyabb, főleg, ahol erős ivari dimorfizmus van (pulyka), míg tojástermelésben nyilván a nőivar előállítása lenne a cél. Ez nagyon erős gazdasági érdek, rengeteg tudományos és áltudományos kísérlet történt ennek kezelésére. Két irány volna lehetséges. Az egyik az ivararány befolyásolása, a másik a korai ivarmeghatározás. Előbbire volt példa az inkubálási hőmérséklettel történő ivararány eltolás (miként a krokodiloknál). Ezt az elképzelést nem tudták igazolni, mivel nem mutatható ki sem ivararány eltolódás, sem különbség a mortalításban az ivarok között (*Collins és mtsai, 2013*). Van olyan feltételezés is, hogy a különböző hőmérsékleten kelteztett állományok utódaiban figyelhető meg ivararány eltolódás (*Yilmaz és mtsai, 2011*)

A DNS technikák fejlődésével a DNS alapú ivar meghatározásban reménykedtek. Ez a mintavétel elvileg történhetett volna akár a csírákorongból még az inkubálás előtt, akár a fejlődő embrióból, bármely stádiumban. A csírákorong megmintázása egyedi szinten sem egyszerű, ezért ez nem reális irány. A későbbi mintavételek már egyszerűbbek és veszélytelenebbek. Azonban a diagnosztika sebessége korlátozó, bár, a már említett, gyors diagnosztikai eszközök elképesztő fejlődése ebbe az irányba is biztat.

Ma ez már nem csak gazdasági érdek. A történelem fura fintora, hogy a gazdasági érdeket jóval meghaladó lehet az állatvédők érdekérvényesítése. Ezért különösen Németországban komoly nyomás helyeződik mind a baromfiágazatra, mind a kormányzati szervekre, hogy a tojóhibrid előállításban felesleges és gyakorlatilag hasznosításra alkalmatlan hímivar megsemmisítését betiltsák, pontosabban kerüljék el, mert a tiltás csak azt eredményezné, hogy külföldön állítanak elő a napos jércéket. Érvelésük azon alapul, hogy mind állatvédelmi, mind etikai okokból elfogadhatatlan, hogy évente 45 millió naposcsibét ölnek le csak azért, mert rossz ivart örökölt. A kormányzat partner ebben és célul tűzte ki, hogy 2017-re ezt a problémát megoldják, amiben persze az érintett szektornak is kell legyen szerepe. Erre elég nagy pénzt is áldoznak egy kutatócsoportnak, akik realisztikus megoldást kínálnak erre. Az elképzelés szerint 3 napos inkubálás után (ekkor még állítólag nem érez fájdalmat az embrió) lézerrel apró lyukat fúrnak a tojáson. Ekkorra már eléggé fejlett érhalózáttal rendelkezik az embrió. Ennek infravörös közeli spektroszkópiával (NIR) történő vizsgálatával kimutatható az áramló vérben a sejtek DNS tartalmának különbsége, ami Z és W kromoszómák

méretbeli különbségéből adódik. Állítólag, jelenleg ez egy 10-20 másodperces beavatkozás egy tojáson, ezt kívánják a fejlesztéssel 10 másodperc alá szorítani (Ref2).

A következő feladat a szektoré lenne, hogy alkalmazzák ezeket a fejlesztéseket. Voltak már hasonló próbálkozások, pl. az allantois folyadék megmintázása és speciális szenzorokkal történő szteroid hormon meghatározások, de nem terjedtek el.

## BAROMFIONDÓ MÉLYHÚTÉS

Magyarország egyetlen „*in vitro*” baromfi génbankja a Haszonállat-génmegőrzési Központban található, ahol jelenleg az őshonos tyúkfajták, a fodrostollú lúd, valamint a gyöngytyúk faj mélyhűtött spermája spermabank formájában már megtalálható és amely folyamatosan bővül embrionális sejtek, valamint korai ivarszerv-szövetek tárolásával. Ez nemcsak a génmegőrző munka számára hasznos, hanem –igény esetén– lehetőséget biztosíthat tenyésztőcégeknek is genetikai anyagok tárolására, amelyet felhasználhatnak a későbbi nemesítő munkájuk során.

A baromfi ondó mélyhűtésének vizsgálata már a 40-es években megkezdődött. Felismerték, hogy a sejteknek védőanyagra van szükségük. A fruktóz krioprotektánsként való alkalmazása kudarcot vallott (Barna és Varga, 2002). Polge és mtsai 1951-ben végezték az első sikeres kakasondó mélyhűtést. Egy véletlen folytán glicerolt alkalmaztak fruktóz helyett, aminek segítségével -78°C-os mélyhűtést követően 30%-ban életképes spermiumokat nyertek vissza. A következő jelentős lépés a védőanyagok termékenyülést gátló hatásának különféle módszerekkel történő mérséklése volt. A terület intenzív kutatása a 70-es évektől indult, de még a mai napig maradtak megoldandó kérdések. Jelenleg a baromfifajok közül csupán a házityúk-faj ondómélyhűtésével kapcsolatban találhatunk ajánlott mélyhűtési protokollokat a génbankok kialakítását célzó FAO ajánlásban (FAO, 2012). A többi baromfifaj esetében a házityúknál használt protokollok alkalmazását javasolja a leírás, annak ellenére, hogy az elmúlt pár évtized kutatásai alapján nyilvánvalóvá vált, hogy fajspecifikus mélyhűtési protokollokat kell kidolgozni. Mivel a szakirodalomban található mélyhűtési kísérletek ellenére nincs egységes protokoll a különböző fajok ondómélyhűtésével kapcsolatban, ezért vizsgálatok indultak a mélyhűtési eljárások hatékonyságának összehasonlítására hazánkban is (Várdi, 2016; Barna és mtsai, 2008; Barna és mtsai, 2010). A különféle módszerek a hűtési sebesség (lassú programozott, gyors nitrogén gőzös eljárás, ultragyors pellet), összefüggésben a tárolás módjával (szalma, ampulla, pellet) és a krioprotektáns tekintetében különböznek. A HÁGK laboratóriumában a házityúk-fajon végzett ondómélyhűtési kísérletek során a FAO által ajánlott klasszikus glicerolos eljárás hatékonyságát vetették össze a pellet-módszerrel. Az *in vitro* vizsgálatok során nem találtak szignifikáns eltérést az élő, normális morfológiájú spermiumok túlélésében a két eljárás között, ennek köszönhetően a kétféle módon mélyhűtött/felolvasztott mintákkal való termékenyítéseket követően a két csoport termékenysége között sem volt szignifikáns különbség. Mivel az egyszerűsített és gyors pellet-módszer a klasszikus lassú, programozott eljáráshoz hasonlóan hatékonyak bizonyult tyúkfaj esetében, ezért olyan ritka, veszélyeztetett tyúkfajták esetében is alkalmazható a módszer, ahol

kevesebb egyeddel és/vagy kisebb ondómennyiséggel kell számolni, illetve olyan esetekben, amikor nem áll rendelkezésre programozható mélyhűtőberendezés (Váradí, 2016; Váradí és mtsai, 2013).

A világon mindösszesen két kutatócsoportnak sikerült hatékony ondómélyhűtési módszert kidolgoznia gyöngytyúk sperma esetében (Váradí és mtsai, 2013; Seigneurin és mtsai, 2013). A HÁGK szakemberei kétféle (lassú, ill. gyors) programozott, a nitrogéngőzös, valamint a pellet-módszert hasonlították össze a faj sajátosságainak leginkább megfelelő protokoll kidolgozásának érdekében. Vizsgálataik során a spermiumok a lassú, programozott és a pellet-módszer esetében eredményezték a legmagasabb túlélést az élő normális morfológiájú sejtekre vonatkoztatva. Utóbbival szignifikánsan jobb túlélési arányt értek el, ezért a módszer *in vivo* tesztelése, azaz a termékenyítési kísérletek során a pellet-módszerrel mélyhűtött spermiumokkal a világon elsőként 63,6%-os termékenységet sikerült elérniük gyöngytyúkfajban (Váradí, 2013). Seigneurin és mtsai (2013) később lassú programozott mélyhűtési módszerrel 70%-os termékenységről számolt be. Ugyanakkor a hazánkban kidolgozott technológia lényegesen olcsóbb, egyszerű körülmények között kivitelezhető, hatékony eljárás.

A lúdtenyésztés Magyarországon tradicionálisan kiemelkedő szerepet tölt be. Közismert, hogy a faj termékenysége jelentősen elmarad a többi gazdasági baromfietől. Mesterséges termékenyítéssel a szaporasági paraméterek javíthatók. Amennyiben a tavaszi időszakban nyert, jobb minőségű ondót fagyaszttva tároljuk, a későbbiekben rátermékenyítésre használható, ezzel jobb termelési mutatók érhetők el (Barna és mtsai, 2010). Váradí és mtsai (2015) a házilúd-fajjal végzett ondómélyhűtési kísérletében a programozott módszert hasonlították össze az egyszerűbben kivitelezhető nitrogéngőzös eljárással, emellett különböző krio- és ozmoprotektánsok hatását is vizsgálták. Az *in vitro* tesztek szerint az ozmoprotektánsok nem javítottak a túlélési eredményeken, valamint a programozott és nitrogéngőzös módszer között nem volt szignifikáns különbség a normális morfológiájú spermiumok túlélésében, ezért az egyszerűbben kivitelezhető nitrogéngőzös eljárással mélyhűtött ondómintákkal végeztek termékenyítési kísérleteket. Az általuk mélyhűtött gúnáronddóval közel 60%-os termékenységet sikerült elérni. Vizsgálataik alapján megállapítható, hogy a lúdfaj ondómélyhűtésére a nitrogéngőzös eljárás a programozott protokollokhoz hasonlóan alkalmas. A génmegőrzési hasznosítás mellett az eljárás a hétköznapi tenyésztői munkába is beilleszthető, különösen a tenyészállományok előállításánál (Váradí és mtsai, 2014; Váradí és mtsai, 2015; Váradí, 2016).

## A NŐIVAR MEGŐRZÉSÉNEK LEHETŐSÉGEI MADARAKBAN

A baromfi *in vitro* génmegőrzés jelenleg a gyakorlatban a spermium mélyhűtött tárolására korlátozódik. Madarak esetében a nőivar heterogametikus (ZW), a hímivar homogametikus, így a spermasejtek csak Z ivari kromoszómát tartalmaznak. Ahhoz, hogy az eredeti genotípust 99%-ban nyerjük vissza, 6-7 generációs visszakeresztelés szükséges. A W ivari kromoszómát is hordozó petesejt, valamint az embrió madarak esetében nem fagyasztható a nagy mennyiségű szik miatt, így a nőivar kiszorul a génmegőrzésből. Ugyanakkor bizonyítást nyert, hogy a baromfi petefészek szöveti szerkezete és felépítése napos korban nagyon

hasonlít a felnőtt egér petefészekhez. Az elsődleges oociták marginálisan, a fejlődés szempontjából nyugvó állapotban helyezkednek el. Genetikailag fontos laboratóriumi egerek és patkányok mélyhűtött ivarszerv szöveteinek génbanki tárolása, ill. darabolása, átültetése már megoldott (*Dorsch és mtsai*, 2004). Az emlősnél alkalmazott módszerekből kiindulva, azokat módosítva madarakban is beszámoltak arról, hogy 35-40 napos korban végzett transzplantáció után 7-12 hónapos korban végzett boncolás során működő donor ivarszervet sikerült kimutatni (*Kosenko*, 2006). Korábbi tanulmányok igazolták, hogy a kelést követő első 24 órában létezik egy „immunológiai ablak”, amelyben az átültetett szervek kilökődésének a valószínűsége rendkívül csekély (*Song és Silversides*, 2007a). A transzplantált szövetek megtapadnak, fejlődnek. Az így létrehozott ivarszervi kiméra tyúkokat az ivaréret követően a donor genotípustól származó fagyasztott/felolvasztott spermiummal mesterségesen termékenyítve már az első utódgenerációban, 100%-ban visszanyerhetjük a megőrizni kívánt genotípust (*Song és Silversides*, 2006, 2007a,b). A kanadai génmegőrzési gyakorlatban már tárolnak baromfi ivarszervszöveteket. Azonban bebizonyosodott, hogy egyes genotípusok alkalmasabbak recipiensnek, míg mások kevésbé, ill. egyes genotípusokat egymással párosítva nem eredményeznek a donortól származó, funkcionáló ivarszervet (*Liptói és mtsai*, 2013). Korábbi irodalmi adatok alapján ismert, hogy fehér leghorn X new hampshire, plymouth X new hampshire, tetra sl X tetra sl donor – recipiens párosítások ebből a szempontból sikeresnek bizonyultak. Genetikai diverzitásvizsgálatok kimutatták, hogy őshonos tyúkfajtáink közül a fehér magyar a fehér leghornhoz, míg a sárga magyar a new hampshirehez közeli genetikai távolságú (*Bodzsár és mtsai*, 2012). Fehér magyar X sárga magyar recipiens - donor kombináció esetén 80%-os arányban találtak megtapadt, szövettani vizsgálatok alapján működőképes ivarszerveket (*Liptói és mtsai*, 2014). Ezek az eredmények már hasznosíthatók azoknak a tenyésztőcégeknek a számára, amelyek tenyésztőmunkájuk során megszüntetik egyes vonalaikat, de elképzelhetőnek tartják, hogy egyes tulajdonságokra a későbbiekben még szükségük lehet, hiszen az intenzív tartásra alkalmas genotípusokban a módszer jól működik. Azonban ahhoz, hogy a módszer valóban génmegőrzési célokat is szolgáljon, olyan kommersz vonal szükséges recipiensnek, amely az őshonos donoroktól származó ivarszervekből nagy valószínűséggel képes utódot előállítani. A HáGK-ban végzett vizsgálatok azt mutatják, hogy fehér leghorn X sárga magyar recipiens - donor pár megfelel ennek a feltételnek és egyben ez az első olyan kombináció, amely őshonos baromfi génmegőrzésére használható (*Liptói és mtsai*, 2016, *in press*). Hasonlóan, a genetikai távolságra alapozva, további cél az összes, *in vivo* génbankban őrzött tyúkfajtához a megfelelő recipiensek azonosítása.

Eredményes ivarszerv-szövet transzplantációt hajtottak végre japánfűrjekben is. Az állatok kis méretüknél fogva nehezen műthetők, így 1 hetes életkorban, immunszuppresszáns adagolása mellett végzett beültetést követően sikerült a dontortól származó utódokat nyerni. Elsősorban a baromfi génmegőrzés számára rendkívül előremutató, hogy 1 hetes recipiensekbe 17 hetes, felnőtt fűrjektől származó pefészek-szövet darabkákat ültetve szintén sikerült donor genotípusú utódokat előállítani (*Liu és mtsai*, 2013, 2013b). *Song és mtsai* (2012) pekingi naposkacsákba azonos korú pézsmarécéből származó petefészek szöveteket ültettek. Az ivarszervi kiméra tojókat ivaréret után pézsmaréce spermiummal

termékenyítve pézsmaréce utódokat kaptak, így elsőként számoltak be fajok közötti sikeres ivarszerv átültetésről.

További kihívást jelent a szövetek fagyasztási és felolvasztási módszerének a fejlesztése. Korábbi közleményekben már beszámoltak a naposkori ivarszerv-szövetek sikeres fagyasztásáról (Liu és mtsai, 2012a, 2012b; Silversides 2013). Váradí (2016) különböző mélyhűtési technikákat (nitrogéngőzben történő mélyhűtés, pellet-módszer, illetve vitrifikációs eljárás) hasonlított össze házi tyúk korai ivarszerv-szöveteinek hatékony tartósítására, mindkét ivarban. Eredményei alapján a vitrifikációs eljárás őrizte meg leginkább a herék eredeti szerkezetét. Ezért a hereszövet fenti eljárással történő mélyhűtése, mint alternatív génmegőrzési módszer lehetővé teszi a veszélyeztetett fajok esetében az értékes hímek genetikai állományának megőrzését. A módszer alkalmazását olyan nagy genetikai értékű hímek esetében javasolt, ahol az ondó mélyhűtése valamilyen okból nem kivitelezhető. A naposkori petefészekszövetek esetében mindhárom mélyhűtési eljárás megőrizte a szervek normális szerkezetét. A mélyhűtött ivarszervek épségét a szövettani és szövettenyésztési vizsgálatainkkal is alátámasztottuk, mely igazolta, hogy a naposkori ivarszervek túléltek a mélyhűtés/felolvasztás procedúráját. A minták könnyebb kezelése és azonosítása miatt génmegőrzési célból a vitrifikációs eljárás alkalmazását javasolta.

A génmegőrzés másik, mindkét ivar megőrzését célzó alternatív módszere a blasztodermális, ill. ősvarsejtek (PGC – primordial germ cell) alkalmazása lehet. A frissen letojó termékeny tojásokban az embrionális fejlődés blasztoderma és korai gasztrula állapotban van. Az itt található sejtek pluripotensek, könnyen kinyerhetők és recipiens blasztodermába injektálhatók. Azonban bebizonyosodott, hogy ezek csíravonal átviteli képessége kevésbé hatékony (Petitte és mtsai, 1990; Carsience és mtsai 1993). A PGC – ősvarsejtek – madarakban az embrionális fejlődés 2,5 napján a vérkeringésbe kerülnek majd az ivarszervekben kolonizálódnak. A véráramból kinyerve recipiens embriókba injektálhatók és segítségével nagy valószínűséggel hozhatók létre donor csíravonalak, ivarszervi kimérák (Ono és mtsai, 1996, 1998). A HÁGK-ban évek óta folynak kísérletek házityúk és egyéb baromfifajok friss embrionális blasztoderma-sejtek segítségével történő kiméra előállítására, igen jó eredményekkel (Barna és mtsai, 2002; Héjja és mtsai, 2006; Sztán és mtsai, 2012; Várkonyi és mtsai, 1994, 1995, 1996, 1997, 2016). Ahhoz azonban, hogy az adott fajta genetikai anyagát később is visszanyerhessük, szükség van a blasztodermális sejtek mélyhűtésére (Kino és mtsai, 1997). Házityúk (Kino és mtsai, 1997; Patakiné és mtsai, 2012; Petite és mtsai, 2006; Sawicka és mtsai, 2011), gyöngytyúk (Patakiné és mtsai, 2016) és fűrj (Ono és mtsai, 1996, 1998) fajokban több kutatócsoport is beszámolt sikeres blasztodermális sejt mélyhűtéséről.

Már a 2000-es években megkezdődtek a primordiális őscsírasejtek (PGC) mélyhűtésével kapcsolatos kutatások is (Petitte, 2006; Nakamura és mtsai, 2010; Nakamura és mtsai, 2012; Nakamura és mtsai, 2013; Silversides és Liu, 2012; Bednarczyk és mtsai, 2013), azonban egy megfelelően hatékony és reprodukálható mélyhűtési technika kidolgozása, melynek segítségével donortól származó utódot nyerhessünk, még folyamatban van. Emellett kidolgozásra vár ezen sejtek minél nagyobb arányú kinyerésének, tisztításának és sejttenyésztetekben való hosszútávú eltarthatóságának kidolgozása (Barna és mtsai, 2016).

## A KLÍMAVÁLTOZÁS HATÁSAINAK KIVÉDÉSÉRE IRÁNYULÓ KUTATÁSOK

A globális felmelegedés valószínűsíthetően a világ számos régiójában befolyásolni fogja a baromfitenyésztést. Nem csupán az átlaghőmérséklet emelkedésével, hanem időszakosan bekövetkező hőhullámokkal is számolni kell (Porter, 2016). A magas hőmérséklet stresszor, amely minden szaporasági és termelési paramétert negatívan befolyásol (Mignon-Grasteau és mtsai, 2015). Erre az állatházak klimatizálása sem ad teljes védelmet. Magyarországon a 2015-ös, heteken keresztül, éjjel sem enyhülő hőség jelentős veszteségeket okozott, elsősorban a brojler ágazatban. 2006-ban egy hőhullám Kaliforniában mintegy 700.000 csirke és 160.000 pulyka pusztulásához vezetett. Észak-Karolinában 2011-ben, mintegy 50.000 csirke hullott el egyetlen farmon, miután elment az áram kevesebb, mint egy órára és megállt a szellőzés az ólakban. Ugyanezen a nyáron, több mint 250.000 csirke pusztult el a hőhullámok alatt Arkansasban, 2003-ban, több mint 1 millió csirke Franciaországban, 2012-ben, több mint 780.000 csirke Dél-Koreában. 2015-ben, a hőhullám megölt több mint 17 millió madarat Indiában (Porter, 2016). Mindemellett a szakembereket régóta foglalkoztatja annak a problémának a megoldása, hogy a hűvösebb éghajlati területeken kitenyésztett, nagyteljesítményű házityúk genotípusok teljesítménye ne romoljon magas hőmérsékletű környezetben. Ötven évvel ezelőtt a magas hőmérsékletű területek alatt a trópusi éghajlatú területeket értették, ma azonban ideszámíthatjuk azokat a mérséklet övben elhelyezkedő vidékeket is, ahol igen forró és hosszú nyarak alakulnak ki. Kiderült, hogy az állatok, így a baromfi hőtűrő-képessége „hőkezeléssel” javítható. Ez azt jelenti, hogy bizonyos időszakokban rövidebb-hosszabb ideig magasabb hőmérsékleten tartják az állatokat. Az első ilyen akklimatizálást kifejlített baromfival végezték (Weiss, 1963; Sykes és Al-Fataftah, 1981; Molnár, 1990). Megfigyelték, hogy a kifejlített baromfi esetében akkor érhető el nagyobb mértékű hőtűrés, ha nem hosszabb ideig tartják állandó magas hőmérsékleten a madarakat, hanem ciklikusan változtatják a magas és alacsony hőmérsékletet. A kifejlített állatok akklimatizálása azonban hosszabb időt igényel és csak a kezelést követő rövid időszakra fejt ki hatását, nem a madár teljes életére (Sykes és Al-Fataftah, 1981). A keléskor, neonatális korban történő (Arjona és mtsai, 1988; Vinoth és mtsai, 2015; Tzschentke és mtsai, 2016; Loyau és mtsai, 2016) vagy a későbbi, de még fiatal korban végzett hőkezeléssel (Yahav, 2001) hatékonyabban növelhető a madarak hőtűrése. A fiatal korban elvégzett, rövid ideig tartó magas hőmérséklettel való kezelés a házityúk fajban jó eredményeket hozott (Yahav, 2001). Ez a hőkezelés kedvezően befolyásolta a későbbi termelést (35-42 napos élősúly, takarmányértékesítés) is. A vizsgálatok alapján megállapították, hogy akkor a legeredményesebb a hőkezelés, ha olyan életkorban alkalmazzák, amikor még nem fejlődött ki teljesen a madár hőszabályozó-rendszere (Dunnington és Siegel, 1984). A fiatakkori hőkezelés kedvező eredményeiről (súlygyarapodás, mortalitás csökkenése) számoltak be brojlercsirke (Yahav, 2001) és növendék liba (Kőrösiné, 2003) nevelésével kapcsolatosan. Azonban nemzetközi vonatkozásban is hiányoznak a többi baromfifajra, továbbá a kifejlített baromfira vonatkozó adatok. Korábbi vizsgálatok szerint a fiatal korban történő beavatkozás érvényesíti hatását a baromfi későbbi életkorában is, így pl. a tojástermelés időszakában, javítva

ezzel a nyári tojástermelés, termékenység eredményeit (Liptói, 2010, 2011; Szabó, 2010). Általánosan elfogadott, hogy az őshonos fajták tűrőképessége nagyobb a modern kereskedelmi fajtákhoz/hibridekhez viszonyítva, ugyanakkor kevés információ áll rendelkezésünkre az ennek hátterében álló mechanizmusokról. Ígéretes kutatási területet jelenthet e tekintetben a hősokk- vagy stresszfehérjék génjeinek polimorfizmus- és expressziós vizsgálata őshonos és modern fajták összevetésével. Az időjárás, a tartástechnológia, vagy a környezet változásai potenciális hatással lehetnek a stresszfehérjék termelődésére, aminek a nyomon követéséből (pl. génexpresszió mérésével) származó eredmények nemzetközi szinten is érdeklődésre tarthatnak számot. Lázár és mtsai (2016) napos korban hőkezelt, majd ivaréret követően magas hőmérsékleten tartott erdélyi kendermagos kopasznyakú tyúktól származó embriók PG sejtjében magasabb hősokk fehérje (HSP 70) expressziót mutattak ki a kontroll csoporthoz képest. Elképzelhető, hogy a hőkezelt állományok utódaiban is jobb hőtűrés tapasztalható, de ennek bizonyítása még további vizsgálatokat igényel. Anand és mtsai (2016) hőkezelt állománytól származó embriók ivarszervében mutattak ki emelkedett HSP 70 expressziót.

## ZÁRSZÓ

A biotechnológiai alkalmazások és kutatások ma már a baromfifélék, elsősorban a tyúk esetében is a humán kutatások színvonalára emelkedtek. A módszertan rohamos fejlődésével, és különösképpen fajlagos költségeik csökkenésével, egyre gyorsabban és szélesebb körben tevődnek át az alap kutatások területéről a haszonállatok körébe. Míg a kutatás egyre elmélyültebb, párhuzamosan egyre nagyobb kihívás, hogy a kutatások eredményei, módszerei miként ültethetők át úgy a gyakorlatba, hogy az valóban versenyképes legyen. A kutatók számára fontos feladat, hogy eredményeik gazdaságilag is jelentős hatásúak legyenek. Ma azonban még mindig a terület fő felvevő piaca az alap kutatás és humán egészségügyi kutatások, amelyeknél jóval kisebb a költségérzékenység, mint az állattenyésztési kutatások vagy nemesítéssel foglalkozó cégek esetében. A technikákban, szolgáltatásokban megfigyelhető fejlődéssel remélhetőleg a gyakorlati, gazdasági hatások is erősödni fognak.

## IRODALOMJEGYZÉK

- Anand, M. - Tóth, R. - Kidane, A. - Nagy, A. - Lázár, B. - Patakiné Várkonyi, E. - Liptói, K. - Gócsa, E. (2016): Examination the Expression Pattern of HSP70 Heat Shock Protein in Chicken PGCs and Developing Genital Ridge Lucrari Stiintifice Zootehnie Si Biotehnologii / Scienti. Papers Anim. Sci. Biotechnol., 49. 78-82. (2016)
- Arjona, A. A. - Denbow, D. M. - Weaver, W. D. (1988): Effect of Heat Stress Early in Life on Mortality of Broilers Exposed to High Environmental Temperatures Just Prior to Marketing. Poultry Sci., 67: 226-231.
- Barna J. - Hidas A. - Szalay I. - Várkonyi E. (2002): Baromfifélék ivarsejtjeinek mélyhűtéses tárolása, mint ex situ génmegőrzés. Állattenyésztés és Takarmányozás, 51. 74-76.
- Barna J. - Liptói K. - Patakiné Várkonyi E. (2016): Mentsük a menthetőt – új lehetőségek baromfifélék in vitro génmegőrzésének terén - Irodalmi áttekintés / Save what can be saved – new possibilities in in vitro gene preservation of poultry species. MÁL (in press)

- Barna J. – Varga Á. (2002): Ondósejtek mélyhűtéses tárolása baromfiféléknél, mint ex situ génmegőrzési módszer. /Long term storage of poultry sperm as a tool of gene conservation. Review/ In Hungarian. In: Génmegőrzés; kutatási eredmények régi haszonállatfajták értékeiről. Tudományos ülés kiadványa, Debrecen. 227-232.
- Barna J. - Végi B. - Váradi É. – Liptói K. (2010): Comparative study on cryopreservation procedures of gander sperm. Proc. XIII European Poultry Conference, 23-27 August 2010. Tours, France. World's Poultry Sci. J., 66. 508.
- Barna J. - Végi B. - Váradi É. (2008): Comparison of various freezing protocols of native roosters' semen. Reprod. Dom. Anim., 43. 139.
- Bednarczyk, M., Chojnacka-Puchta, L. (2013): Effectiveness of transgenic chickens production by non-viral, cell-based method. Proc. International Forum on Avian Germplasm. 2013. 25-28 October, Seoul National University, Korea. 35-36.
- Bodzsar, N. - Weigend, A. - Janssen-Tapken, U. - Weigend S. (2012): Large scale analysis of genetic diversity using a comprehensive dataset from different studies in chickens. Worlds Poultry Sci. J., 68. 61-64.
- Bolisetty, M.T. – Rajadinakaran, G. – Brenton, R. (2015): Detrmining exon connectivity in complex mRNAs by nanopore sequencing. Genome Biology. 16. 204.
- Carsience, R.S. – Clark, M.E. - Verrinder Gibbins, A.M. – Etches, R.J. (1993): Germline chimeric chickens from dispersed donor blastodermal cells and compromised recipient embryos. Development, 117. 669-675.
- Chesson, A. – Flachowsky, G. (2007): Transgenic plants in poultry nutrition. World's Poultry Sci. J., 59. 201-207.
- Collins, K.E. – Jordan, B.J. – McLendon, B.L. – Navara, K.J. – Beckstead, R.B. – Wilson, J.L. (2013): No evidence of temperature-dependent sex determination or sex-biased embryo mortality in the chicken. Poultry Sci., 92. 3096-102.
- Dhanasekaran, S.- Bhattacharya, T.K. - Chatterjee, R.N. – Paswan, C. - Dyushanth, K. (2014): Functional genomics in chicken (Gallus gallus) - status and implications in poultry. World's Poultry Sci., 70. 45-56.
- Dorsch, M. - Vedekind, D. - Kamino, K. - Hedrich, H.J. (2004): Orthotopic transplantation of rat ovaries as a tool for strain rescue. Laboratory Animals, 38. 307-312.
- Dunnington, E. A. - Siegel, P. B. (1984): Thermoregulation in newly hatched chickens. Poultry Sci., 63. 1303-1313.
- FAO (2012): Cryoconrevation of animal genetic resources. FAO Animal Production and Health Guidelines No. 12. 2012. Rome
- Héjja I. – Várkonyi E. – Zöldág L. – Barna J. (2006): Génmegőrzés lehetősége kimérizmussal pulykában. (előzetes közlemény) MÁL, 128. 351-357.
- Jlali, M. – Graulet, B. - Chauveau-Duriot, B. – Godet, E. – Praud, C. – Nunes, C.S. - Le Bihan-Duval, E. – Berri, C. – Duclos, M.J. (2014): Nutrigenetics of carotenoid metabolism in the chicken: a polymorphism at the  $\beta,\beta$ -carotene 15,15'-mono-oxygenase 1 (BCMO1) locus affects the response to dietary  $\beta$ -carotene. Br. J. Nutr., 28. 2079-88.
- Kino, K. – Pain, B. (1997): Production of chicken chimeras from injection of frozen-thawed blastodermal cells. Poult. Sci., 76. 753-760.
- Kosenko, O.V. (2006): Orthotopic Transplantation of Donor Ovary as an Alternative Method of Artificial Reproduction of Fowl. Doklady Rossijskoi Akademii Sel'skokhozjaistvennykh Nauk, 33. 44–46.
- Kőrösiné Molnár A. - Varga S. - Nógrádi J. (2003): Hőkezelés hatása a ludak hőtűrőképességének javítására. EU Konform Mezőgazdaság és Élelmiszer-biztonság, Szent István Egyetem – Debreceni Egyetem, 2003. II. kötet 422–427.
- Lázár, B. - Südy, Á. - Németh, K. - Drobnyák, Á. - Váradi, É. - Barna, J. - Liptói, K. – Gócza, E. (2016): Investigation the effect of thermal manipulation on early embryonic development and during PGCcultivationindomesticfowl. Proc. of XXV World's Poultry Congress, Beijing, China. 286.

- Liptói K. - Szabó Zs. - Podmaniczky B. - Kőrösi Molnár A. (2010): Preliminary investigation of the effect of heat treatment on fertility and embryonic mortality in goose. *Worlds Poultry Sci. J.*, 66. 513.
- Liptói K. - Horváth G. - Gal J. - Varadi E. - Barna J. (2013): Preliminary results of the application of gonadal tissue transfer in various chicken breeds in the poultry gene conservation. *Anim. Reprod. Sci.*, 141. 86-89.
- Liptói K. - Horváth G. - Rohn E. - Gal J. - Varadi E. - Barna, J. (2014): Various donor/recipient combinations for gonadal tissue transfer in chicken. *Proceedings of XIVth European Poultry Conference. WPSA*, P262. 3.
- Liptói K. - Szabó Zs. - Végi B. - Váradi É. - Kőrösiné Molnár A. - Varga S. - Barna J. (2011): A fiatal kori hőkezelés hatása a lúd szaporaságára a nyári termelési ciklus során MÁL., 133. 18-23.
- Liu, J - Cheng, K. M. - Silversides, F. G. (2012b): Novel needle-in-straw vitrification can effectively preserve the morphology, viability, and vascularization of ovarian tissue in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Anim. Reprod. Sci.*, 134. 197-202.
- Liu, J - Cheng, K. M. - Silversides, F. G. (2013b): Recovery of fertility from adult ovarian tissue transplanted into week-old Japanese quail chicks. *Reprod. Fert. Develop.* <http://dx.doi.org/10.1071/RD13256>.
- Liu, J. - Cheng, K. M. - Purdy, P. H. - Silversides, F.G. (2012a): A simple vitrification method for cryobanking avian testicular tissue. *Poult. Sci.*, 91. 3209-3213.
- Liu, J. - Cheng, K.M. - Silversides, F.G. (2013): A model for cryobanking female germplasm in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Poultry Sci.*, 92. 2772-2775.
- Loyau, T. - Hennequet-Antier, C. - Coutham, V. - Berri, C. - Leduc, M. - Crochet, S. - Sannier, M. - Duclos, M.J. - Mignon-Grasteau, S. - Tesseraud, S. - Brionne, A. - Métayer-Coustard, S. - Moroldo, M. - Lecardonnel, J. - Martin, P. - Lagarrigue, S. - Yahav, S. - Collin, A. (2016): Thermal manipulation of the chicken embryo triggers differential gene expression in response to a later heat challenge. *BMC Genomics*. 2016 May 4;17:329. doi: 10.1186/s12864-016-2661-y.
- Mignon-Grasteau, S. - Moreri, U. - Narcy, A. - Rousseau, X. - Rodenburg, T. B. - Tixier Boichard, M. - Zerjal, T. (2015). Robustness to chronic heat stress in laying hens: A meta-analysis. *Poult Sci.*, 94. 586-600.
- Molnár A. (1990): A trópusi klíma hatása a ludak anyagcseréjére és tojástermelésére. Kandidátusi értekezés. Budapest, 1990.
- Nakamura, Y. - Kagami, H. - Tagami, T. (2013): Development, differentiation and manipulation of chicken germ cells. *Dev. Growth Differ.*, vol. 55. 1. 20-40, Jan. 2013.
- Nakamura, Y. et al. (2010): Efficient system for preservation and regeneration of genetic resources in chicken. concurrent storage of primordial germ cells and live animals from early embryos of a rare indigenous fowl (Gifujidori). *Reprod. Fert. Dev.*, 22. 1237-1246.
- Nakamura, Y. et al. (2012): X-irradiation removes endogenous primordial germ cells (PGCs) and increases germline transmission of donor PGC in chimeric chickens. *J. Reprod. Dev.*, 2012. 58. 432-437.
- Ono, T. - Matsumoto, T. - Arisawa, Y. (1998): Production of donor-derived offspring by transfer of primordial germ cells in Japanese Quail. *Exp. Anim.*, 1998. 47. 215-219.
- Ono, T. - Yokoi, R. - Aoyama, H. (1996): Transfer of male or female primordial germ cells of Quail into chick embryonic gonads. *Experimental Animals*, 1996. 45. 347-352.
- Patakiné Várkonyi, E. - Horváth, G. - Sztán, N. - Váradi, É. - Barna, J. (2012): Vitrification of early avian blastodermal cells with a new type of cryocontainer. *Acta Vet. Hung.*, 60. 501-509.
- Patakiné Várkonyi, E. - Molnár, M. - Sztán, N. - Drobnyák, Á. - Váradi, É. - Végi, B. (2016): Optimization of deep-freezing method of early embryonic cells of Guinea fowl (*Numida meleagris*) for genepreservation purpose
- Patakiné Várkonyi, E. - Molnár, M. - Sztán, N. - Drobnyák, Á. - Váradi, É. - Végi, B. (2016): Optimization of deep-freezing method of early embryonic cells of Guinea fowl (*Numida meleagris*) for genepreservation purpose. *Proc. of XXV World's Poultry Congress - Abstracts*. Beijing, China. 449.

- Petitte, J.N. – Clark, M.E. – Liu, G. – Verrinder Gibbins, A.M. – Etches, R.J.* (1990): Production of somatic and germline chimeras in the chicken by transfer of early blastodermal cells. *Development*, 108. 185-189.
- Pettite, J.N.* (2006): Avian germplasm preservation: embryonic stem cells or primordial germ cells? *Poult. Sci.*, 85. 237-242.
- Polge, C.* (1951): Functional survival of fowl spermatozoa after freezing at -70°C. *Nature*, 1951. 167. 949-950.
- Porter, T.E.* (2016): Future challenges and the need for poultry science research: a global perspective. *Proc. of XXVWorld'sPoultryCongress2016 – Invited Lecture Papers*, Beijing, China. 9-13.
- Pym, R.A.E.* (1990): Nutritional genetics. In: Crawford, R.D. editor. *Poultry breeding and genetics*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam. 847-876.
- Rasal, K.D. – Shah, T. M. – Vaidya, M. – Jakhesara, S.J. – Joshi, C.G.* (2015): Analysis of consequences of non-synonymous SNP in feed conversion ratio associated TGF- $\beta$  receptor type 3 gene in chicken. *Meta Gene*, 4. 107-117.
- Ref1: <http://www.thepoultrysite.com/poultrynews/36093/cobbvantress-and-hendrix-genetics-sign-up-for-a-decade-in-joint-rd/>
- Ref2: <http://www.thepoultrysite.com/poultrynews/34741/germany-aims-for-chicken-sexing-in-the-egg-by-2016/>
- Sawicka, D. – Brzezińska, J. – Bednarczyk, M.* (2011): Cryoconservation of embryonic cells and gametes as a poultry biodiversity preservation method. *Fol. Biol. (Krakow)* 59. 1-5.
- Sawicka, D. – Chojnacka-Puchta, L.* (2015): Cryoconservation of chicken blastodermal cells: effects of slow freezing, vitrification, cryoprotectant type and thawing method during *in vitro* processing. *Fol. Biol. (Krakow)* 63. (2). DOI:103409/fb63\_2.129.
- Seigneurin, F. – Grasseau, I. – Chapuis, H. – Blesbois, E.* (2013): An efficient method of guinea fowl sperm cryopreservation. *Poultry Sci.*, 92. 2988–2996.
- Silversides, F.* (2010): Novel techniques for preserving genetic diversity in poultry germplasm. *CAB Rev. Perspect. Agric. Vet. Sci. Nutr. Nat. Resour* 7(068):Dec. 2012.
- Silversides, F. G. – Robertson, M. C. – Liu, J.* (2013a): Cryoconservation of avian gonads in Canada. *Poult. Sci.*, 92. 2613-2617.
- Sohn, S.H. – Subramani, V.K.* (2014): Dynamics of telomere length in chicken. *World's Poultry Sci.*, 70. 721-735.
- Song, Y. – Cheng, K. M. – Robertson, M. C. – Silversides, F. G.* (2012): Production of donor-derived offspring after ovarian transplantation between Muscovy (*Anas platyrhynchos*) and Pekin (*Cairina moschata*) ducks. *Poult. Sci.*, 91. 197-200.
- Song, Y. – Silversides, F.G.* (2006): The technique of orthotopic ovarian transplantation in the chicken. *Poultry Sci.*, 85. 1104-1106.
- Song, Y. – Silversides, F.G.* (2007a): Offspring produced from orthotopic transplantation of chicken ovaries. *Poultry Sci.*, 86.107-111.
- Song, Y. – Silversides, F.G.* (2007b): Heterotopic Transplantation of Testes in Newly Hatched Chickens and Subsequent Production of Offspring via Intramaginal Insemination. *Biol. Reprod.*, 76. 598-603.
- Stupar, M. – Vidovic, V. – Lukac, D. – Puvaca, N.* (2016): Chicken genome modelling for the benefit of science. *World's Poultry Sci. J.*, 72. 81-92.
- Sykes, A. H. – Al-Fataftah, A.* (1981): Heat acclimatization in laying hens. *Zootech. Int. Genova*, 4. 14–16.
- Szabo Zs. – Korosi Molnar A. – Podmaniczky B. – Liptói K. – Végi B.* (2010): Effect of early age heat treatment to egg production and egg quality of broilers. *Worlds Poultry Sci. J.*, 66. 755.
- Sztán, N. – Patakiné Várkonyi, E. – Liptói, K. – Barna, J.* (2012): Baromfifajok embrionális sejteinek kezelésével szerzett tapasztalatok. *MÁL*, 134. 475-481.
- Tzschentke, B. – Halle, I. – Boerjan, M. – Schrader, L. – Tatge, S. – Noack, S. – Bogatyrev, S. – Kloas, W.* (2016): Improvement of robustness and performance in broiler chickens by short-term temperature train- ing in the hatchery. *Proc. of XXVWorld'sPoultryCongress2016 – Abstracts*. 485.

- Váradí É. - Drobnyák Á. - Végi B. - Liptói K. - Barna J. (2015): Study on the effect of various combinations of cryoprotectants used in gander sperm freezing Konferencia helye, ideje: Budapest; Gödöllő, Magyarország, 2015.09.23-2015.09.27.
- Váradí É. - Végi B. - Drobnyák Á. - Zöld O. - Barna J. (2014): Practical cryopreservation of gander sperm using various combinations of cryo- and osmoprotectants. Ausztrália XII. International Symposium of Spermatology, Newcastle
- Váradí É. (2016): Hímivarsejtek és korai ivarszerv-szövetek mélyhűtéses tartósításának fejlesztése baromfifajokban génmegőrzési célokból. Doktori disszertáció. SZIE, Gödöllő.
- Váradí, É. - Végi, B. - Liptói, K. - Barna, J. (2013): Freezing trials on chicken and guinea fowl semen with low quality. CRYOBIRD Final Meeting, St Malo, France, 15-16 October 2013.
- Várkonyi, E. – Hidas, A. – Szalay, I. (1994): Embryo manipulation of chicken chimaeras. *Xth Roundtable Conference on Animal Biotechnology*, 1994. Kosice, Slovak Republic. Oct.11-12.
- Várkonyi, E. – Hidas, A. – Szalay, I. (1997): Manipulations of poultry embryonic cells. *Applied Science Reports of Current Problems in Avian Reproduction International Scientific Symposium*, 24-26th of April, 1997. Wroclaw, Poland. 31. 240-241.
- Várkonyi, E. – Hidas, A. – Szalay, I. (1995): Production of chicken chimaeras by blastoderm cell transfer. *Proc. First Egyptian-Hungarian Poultry Conference*, 1995. 17-19 September, Alexandria, Egypt. Part I, 10-13.
- Várkonyi, E. (1996): Using of new methods in the poultry breeding and the gene preservation. *Proc. XX. World's Poultry Congress and Exhibition*, 2-8 September 1996., New Delhi, India. Vol. IV. 14.
- Vinoth, A. – Thirunalasundari, T. – Tharian, J.A. – Shanmugam, M. – Rajkumar, U. (2015): Effect of thermal manipulation during embryogenesis on liver heat shock protein expression in chronic heat stressed colored broiler chickens. *J Therm Biol.* 2015 Oct;53:162-71. doi: 10.1016/j.jtherbio.2015.10.010. Epub 2015 Oct 31.
- Weiss, H. S. - Frankel, H. - Hollands, K. G. (1963): Acclimatization to hot climate. *Can. J. Biochem. Physiol.*, 41. 805–815.
- Wolc, A. (2014): Understanding genomic selection in poultry breeding. *World's Poultry Sci. J.*, 70. 309-314.
- Yahav, S. (2001): Different strategies to alleviate climatic stress in poultry production. 13th Eur. Symp. Poult. Nutr., Blankenberge, Belgium, Proc. 233–236.
- Yilmaz, A. – Tepeli, C. – Garip, M. – Caglayan, T. (2011): The effects of incubation temperature on the sex of Japanese quail chicks. *Poultry Sci.*, 90. 2402-2406.
- Zhang, W. (2013): Development of genome-wide scan for selection signature in farm animals. *J. Integrative Agriculture.*, 12. 1461-1470.

Érkezett: 2016. szeptember

Szerzők címe: Hidas A. – Liptói K.

Haszonállat-génmegőrzési Központ

Authors' address: Research Centre for Farm Animal Gene Conservation

H-2100 Gödöllő, Isaszegi u. 200.