

AZ ONDÓVÉTELI TECHNIKA, A SPERMAVÉTELEK GYAKORISÁGA ÉS AZ ÉVSZAKOK HATÁSA AZ ONDÓMINŐSÉGRE CSINCILLÁBAN (*CHINCHILLA LANIGERA*)

BABARCZI BIANKA – DROBNYÁK ÁRPÁD – BARNA JUDIT – SZABÓ ZSUZSA – SZŐKE ZSUZSANNA – HEINCINGER MÓNICA – KUSTOS KÁROLY – VÉGI BARBARA

ÖSSZEFOGLALÁS

A szerzők három tényezőt vizsgáltak, amely hatással van a csincsillák ondóminőségére: az ondóvétel módszere és gyakorisága, évszakok hatása. Az általánosan elterjedt elektromos stimuláció kiváltására kidolgoztak egy olyan masszázstechnikát, amely az állatjóléti és gyakorlati szempontoknak is megfelel. Egy éven keresztül monitorozták 46 csincsilla bakon az ondóvételi eljárás sikerességét, és a spermatológiai paraméterek alakulását. Az ondóvétel gyakoriságának ondóminőségre gyakorolt hatását 10 héten keresztül vizsgálták. 11-11 baktól gyűjtöttek ondót hetente 1, 2, 3 illetve 5 alkalommal, feljegyezték a sikeres ondóvételek számát, valamint vizsgálták a spermatológiai paramétereket. Általánosságban elmondható, hogy az északi féltekén a tavaszi időszak bizonyult a leggyengébbnek a sperma minősége szempontjából. Annak ellenére, hogy kissé ingadozó értékeket kaptak az ondóadási hajlandóságban, illetve a minőségi paraméterekben az év során, egész évben gyűjthető termékenyítésre alkalmas ondó. A hetente öt alkalommal történő ondógyűjtés esetén szignifikánsan nagyobb volt az élő, ép sejtek aránya az egyszer és kétszer gyűjtött csoporthoz képest, azonban a túl gyakori spermagyűjtés esetén kisebb volt a sikeresség. A gyakorlati szempontok figyelembevételével, a heti 2x spermagyűjtés elfogadható, hiszen összességében ezzel lehetett a legtöbb spermiumot nyerni, jó motilitási értékekkel és kevesebb rendellenes sejttel.

SUMMARY

Babarczi, B. – Drobnyák, Á. – Barna, J. – Szabó, Zs. – Szőke, Zs. – Heincinger, M. – Kustos, K. – Végi, B.: EFFECT OF DIFFERENT FACTORS ON SEMEN QUALITY IN CHINCHILLAS

The practice of artificial insemination for the long-tailed chinchilla has not yet been fully elaborated, and the existing data available regarding their reproduction properties is contradictory. Until now, the collection of semen for chinchillas has been most-commonly obtained using electro-ejaculation methods exclusively. The first objective of this study was the development of a manual technique for semen collection which meets all animal welfare requirements. An additional aim was to determine the basic spermatological parameters, under typical northern-hemisphere conditions, in Hungary, and the effect of season was studied too. In the present study the optimal frequency of sperm collection by massage technique was also investigated in chinchilla, as the frequency of semen collection can influence greatly the sperm parameters. The semen samples from 11 males/group were collected once (group 1), twice (group 2), three (group 3) and five times a week (group 5) during 10 weeks. The sperm motility and concentration were determined with CASA (SCA®). The proportions of live, intact, morphologically abnormal and dead cells were determined on aniline blue-eosin stained smears. A special massage technique was developed for the study, and using this method, the sperm parameters of 46 males were subsequently analyzed weekly for a period of one year. Approximately 66% of the chinchillas responded positively to this technique, and the success rate of semen-collection attempts showed no variation between seasons. Average sperm concentration for the whole year was 935.17 million/ml using this method. Total cell motility was the highest in winter (90.3%), and the lowest in spring (84.3%). The proportion of live, intact cells were above 80% on average for the year, while the ratios of live, morphologically abnormal and dead cells were 6% and 14%, respectively. Standard deviation among the parameters was relatively high, with the spring season proving to be the weakest in terms of sperm quality. No significant differences were found between groups when the effect of semen collection frequency was examined. The ratio of successful semen collection in groups 1 and 2 was 48.6 and 40.7%, while in groups 3 and 5 was less

productive, only 23.9 and 24.9%. There were no significant differences among the various groups in motility parameters and concentration. In each group, the proportion of cells with rapid, progressive movement showed the optimal high rate. The group 5 had a significantly higher ($p \leq 0.05$) rate of live, intact cells compared to the groups 1 and 2, however, the success of sperm collection was lower in the case of group 5. Morphological abnormalities were highest in group 1, while, there were no differences in the ratios of dead cells among the groups. This study has demonstrated that semen can be successfully collected without the use of electro-ejaculation or anesthesia. Furthermore, although spermatological parameters do show some fluctuation for the different times of the year, semen collected is suitable for the purpose of artificial insemination of chinchillas at any time. Overall, 2 sperm collection/week seemed to be the most optimal frequency in the case of chinchilla, due to the highest successfulness and fewer abnormal cells in semen.

BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A csincsilla (*Chinchilla lanigera*) tenyésztés fontosságát két oldalról is megközelíthetjük. Egyrészt természetes élőhelyén veszélyeztetett állatfaj, másrészt kevésbé ismert, de nagy jelentőségű, mint prémes állat. A reprodukciós tulajdonságok ismerete mindkét megközelítésből fontos, azonban kevés szakirodalom áll rendelkezésünkre a témával kapcsolatban. Ezért a csincsilla szaporodásbiológiai tulajdonságainak kutatása és megismerése nagy jelentőségű, különös tekintettel az ondó sikeres gyűjtésével, kezelésével és megőrzésével kapcsolatos módszerek és protokollok kidolgozása szempontjából.

A hímivarú állatok ondóminőségét számos tényező befolyásolja. Több fajban is részletes vizsgálatokat végeztek ennek vizsgálatára. A bikákat illetően, a tenyészállatoknál közismert, hogy az alul-, vagy túltápláltság az ondóminőséget, ill. a libidót kedvezőtlenül befolyásolja (Domokos, 2011). A sertéseknél a spermatermelést alapvetően befolyásolja az állat kora, fajtája, a takarmányozás, az évszak és az ondóvétel gyakorisága. A kanok rendszeres használata (ugratása) előnyösen hat a sperma minőségére. A kanok 4-5 naponkénti ugratását tartják a legmegfelelőbbnek (Horn, 2011). A juhok reprodukciós tulajdonságai szezonálisan változnak, a mérsékelt övben az évszakoknak van módosító hatása. A juhok reprodukciós képességét befolyásolják a szezonális faktorok, mint a hőmérséklet, páratartalom és napos órák száma. A gyengébb minőségű spermatermelés a nyári időszakra tehető (Ibrahim 1997).

Csincsillában kevés adat áll rendelkezésünkre ezen tényezők hatásáról. A csincsilláknál kísérleti körülmények között eddig kizárólag elektroejakulációval nyertek ondót. Dalziel és Phillips (1948) tengerimalacokon és csincsillákon alkalmazott elektroejakulációs technikákat. Healey és Weir (1967, 1970) pedig részletes elektroejakulációs technikát publikált csincsillára. Napjainkban is úgy tartják, hogy csincsillában az egyetlen használható spermavételi módszer az elektroejakuláció, azonban bizonyított, hogy sem a spermaminőség, sem az állatjólét szempontjából nem ez a legmegfelelőbb módszer (Dieter és mtsai, 1997; Falk és mtsai, 2001; Etson és mtsai, 2004; Busso és mtsai, 2005a; Palmer és mtsai, 2005). A spermatológiai paraméterekről többnyire egymással ellentmondó, illetve tág határok között mozgó irodalmi adatok állnak rendelkezésre (Barnabe és mtsai, 1994; Ponce és mtsai, 1998; Busso és mtsai, 2005a, 2005b; Ponzio és mtsai, 2011; Dominchin és mtsai, 2014).

Munkánk során három tényezőt vizsgáltunk, amely hatással lehet a csincsillák

ondóminőségére: az ondóvétel módszere és gyakorisága, az évszakok hatása. Célunk volt egyrészt kifejleszteni egy olyan természetes ondóvételi technikát, mellyel az állatjóléti szempontokat is figyelembe véve a trenírozási időszakon túl biztonságosan és hosszútávon rutinszerűen gyűjthető akár egész évben ondó. Másrészt célunk volt a hazai körülményekre vonatkozó spermatológiai alap-paraméterek meghatározása *in vitro* ondóvizsgálattal: mennyiség, motilitás, koncentráció, morfológiai rendellenességek és az élő/holt sejtarány, valamint az éves ciklus alatt az évszakok spermatológiai paraméterekre, illetve ondóadási hajlandóságra gyakorolt hatása. Továbbá az általunk kidolgozott spermavételi eljárás alkalmazhatóságának gyakoriságát is kívántuk vizsgálni és az optimális gyakoriságot meghatározni. Mivel ez ideáig nem áll rendelkezésünkre adat csincsilláknál a masszázstechnika alkalmazására, így arról sincs információnk, hogy ezt az ondóvételi eljárást milyen gyakorisággal érdemes, illetve lehet végezni a csincsilla bakoknál.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Kísérleti állatok

Az állatokat a gyakorlati tenyésztésben is alkalmazott ketrecekben helyeztük el, a ketrecblokk mindkét oldalán 4x6 férőhelyen. 12L:12D megvilágítás mellett tartottuk az állatokat. Csincsilla tenyésztáp, lucerna pogácsa és a víz adagolása *ad libitum* történt. Hetente egyszer fürdettük őket csincsilláknak kifejlesztett fürdetőhomokkal.

A csincsillákat a magyar állatvédelmi törvényben (1998. évi XXVIII. törvény) meghatározott állatjóléti irányelveknek megfelelően tartottuk.

Ondóvétel

Kidolgoztunk egy új digitális manipuláción alapuló masszázstechnikát, mely áll egyrészt a végbél környékének, másrészt a pénisz teljes hosszának stimulálásából. A spermadonor állatok nem voltak szelektálva sem kezelhetőségre, sem az ondóvételre való reagáló képességükre. A spermavétel módszerének kidolgozása alatt szokták meg az állatok a kézbevételt is. Amikor már rendszeresen tudtunk ondót gyűjteni (kb. 3 hónap trenírozást követően), akkor kezdtük meg az ondóminősítést. Hetente kétszer masszíroztuk az állatokat, az ondóvizsgálatot hetente egyszer végeztük el folyamatosan egy éven keresztül.

Az ondót a párzási dugó, illetve egyéb szennyeződések elkerülése céljából gézlapra vettük, amit 500 μ l fiziológiás sóoldatot tartalmazó eppendorf csőbe áztattunk, majd a gézlapot az ún. „pázzási dugóval” együtt eltávolítottuk a mintákból.

Az első kísérletben egy éven keresztül vizsgáltuk 46 csincsilla bakon az ondóvételi eljárás sikerességét, és a spermatológiai paraméterek alakulását az évszakok során.

Csincsillában a masszázstechnika gyakoriságának ondóminőségre gyakorolt hatásáról nincs adat. Ennek tisztázása érdekében a második kísérletben 10 héten keresztül vizsgáltuk a spermavétel gyakoriságának hatását az ondó minőségére. 11-11 baktól gyűjtöttünk ondót hetente 1, 2, 3, ill. 5 alkalommal, jegyeztük a sikeres ondóvételek számát, valamint vizsgáltuk a spermatológiai paramétereket.

Ondóminősítés

A motilitás és koncentráció vizsgálata

A spermatológiai vizsgálatokat a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ, Haszonállat – génmegőrzési Intézetének Szaporodásbiológiai Laboratóriumában végeztük el.

A minősítés CASA rendszerrel (Microptic S.L. SCA®) történt, amely a spermaminősítés jelenleg használatos legobjektívebb módszere. A vizsgálathoz az ondót oly mértékben hígítottuk (0-20x-os hígítás), hogy a program elemezni tudja az egyedi mozgásokat. Melegített tárgylemezre 10 μ l-t cseppentettünk, majd a program 500 sejt mozgásának elemzését végezte el. Ezt követően a program eredményét ellenőriztük és a téves kategóriába sorolt sejteket manuálisan javítottuk. A program segítségével meghatároztuk a gyorsan, közepesen gyorsan előre haladó sejtek, az egyhelyben mozgó és a nem mozgó sejtek arányát. Ezen kívül az összes motilis sejtarányt is megállapítottuk

A motilitáson kívül CASA rendszerrel határoztuk meg az egyes ondóminták koncentrációját is.

Az élő, ép és morfológiailag rendellenes sejtek vizsgálata

Anilinkék-eozin festett kenetekben határoztuk meg az élő, ép és morfológiailag rendellenes sejtek arányát. Az anilinkék-eozin festett kenetek elkészítéséhez 20 μ l anilinkék-eozint (Anilin SIGMA-Aldrich, Eosin Y Merck Hungary) mértünk egy eppendorf csőbe, melyhez 10 μ l ondót adtunk. Majd a festék és az ondó keverékéből 10 μ l-t tárgylemezen kihúзва kenetet készítettünk és meleg levegővel szárítottuk. Az elkészített kenetekben 1200 x nagyításban immerziós olaj alatt, kenetenként 200 sejtet vizsgáltunk.

Statisztikai elemzés

Az adatok statisztikai elemzését a *Statistica 10.0* program segítségével végeztük el. A százalékban kifejezett és ábrázolt adatok esetén *arcsin transzformációt* követően (Reiczigel és mtsai, 2007) végeztük el a statisztikai elemzéseket. Az adatok normalitás vizsgálatának eredményei alapján az adatok nem voltak normál eloszlásúak, ezért nem paraméteres próbákkal végeztük a szignifikancia vizsgálatokat. Az egymástól független minták összehasonlítására első lépésként a Kruskal-Wallis ANOVA próbát végeztük el. Ha a teszt eredménye indokolta, akkor pedig a Kolmogorov-Smirnov two-sample test-et alkalmaztuk. A függő minták (hónapok közötti változások) elemzéséhez Friedman ANOVA teszttel ellenőriztük a változásokat, ha így szignifikáns eredményt kaptunk, akkor pedig Wilcoxon matched pair test-tel határoztuk meg pontosan a szignifikancia szinteket.

EREDMÉNYEK

Az ondóvételek módszerének vizsgálata

Mivel nem volt lehetőségünk az elektroejakulációs módszer alkalmazására, így az általunk kifejlesztett manuális masszázstechnikával kapott spermológiai paramétereket a szakirodalomban fellelhető elektroejakulációs adatokkal hasonlítottuk össze. Eredményeink szerint az általunk kifejlesztett masszázstechnikának nincsenek negatív hatásai/következményei az elektroejakulációval szemben. A kapott értékek megfeleltek a szakirodalmi adatoknak (1. táblázat).

1. táblázat

Szakirodalomban fellelhető csincsillákra vonatkozó spermológiai paraméterek

Ondómenyiség (μl) (1)	Spermium koncentráció (millió/ml) (2)	Spermium-motilitás (szubjektív becslés, %) (3)	Szerzők (4)
30-481	419-710,4	71	<i>Barnabe és mtsai</i> (1994)
50-200	172-540	97,4 +/- 0,3	<i>Ponce és mtsai</i> (1998)
3,9-45	175,8-204,1	84,7-97,8	<i>Busso és mtsai</i> (2005a)
20-60	20 - 11712	93,9 +/-7	<i>Busso és mtsai</i> (2005b)
10-150	1-39,735	96,3 +/- 0,8	<i>Ponzio és mtsai</i> (2011)
114,5	4383,33	86,67	<i>Niedbala és mtsai</i> (2015)
44,3-75	10,6 - 162,2	96,8-98,5	<i>Dominchin és mtsai</i> (2014)
n.a.	102,2-5800	87	Saját adatok

Table 1. Data on the spermatological characteristics of chinchilla

ejaculate volume (μl) (1); sperm concentration (million/ml) (2); sperm motility (%) (3); authors (4)

A manuális ondóvételek sikerességének aránya hónapról hónapra változott az év során (2. táblázat). A kísérleti állatoktól legsikeresebben októberben és júniusban tudtunk ondót gyűjteni. Az állatok ondóadási hajlandósága júliusban, augusztusban és szeptemberben volt a legalacsonyabb.

Évszakhatás vizsgálat

Koncentráció

Az ondóminták között nagy egyedi koncentrációbeli különbségeket találtunk. Az átlagos spermiumkoncentráció egész évben 935,17 millió/ml volt, de változó tendenciát mutatott az év folyamán. Szezonális összehasonlításban tavasszal volt a legalacsonyabb (102,2 millió/ml), amit télen és nyáron egyaránt növekvő tendencia követett, ősszel volt a legmagasabb (5800 millió/ml) (1. ábra).

2. táblázat

Sikeres ondóvételek havi eloszlása

	Ondóvételek száma (db) (1)	Sikeres ondóvételek száma (db) (2)	%
Április (3)	56	43	76,8
Május (4)	56	40	70,5
Június (5)	56	46	82,1
Július (6)	56	34	60,7
Augusztus (7)	75	36	48,0
Szeptember (8)	60	30	50,0
Október (9)	67	59	88,1
November (10)	60	37	61,7
December (11)	60	41	68,3
Január (12)	75	55	73,3
Február (13)	68	43	63,2
Március (14)	30	15	50,0

Table 2. The ratio of successful semen collection

semen collection (1); successful semen collection (2); April (3); May (4); June (5); July (6); August (7); September (8); October (9); November (10); December (11); January (12); February (13); March (14)

1. ábra A spermiumkoncentráció évszakonkénti változása

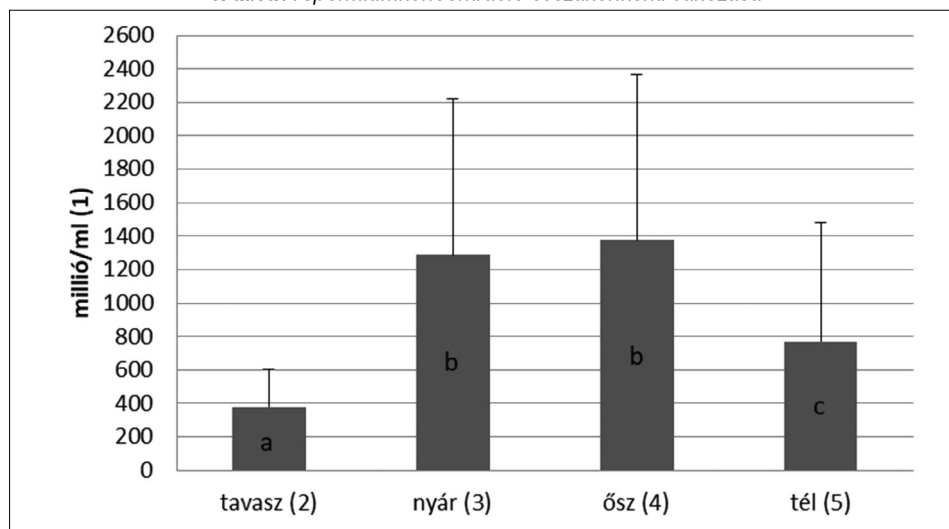


Figure 1. Seasonal variations in sperm concentration during the study period

million/ml (1); spring (2); summer (3); autumn (4); winter (5)

a,b,c szignifikáns különbséget jelöl $p < 0,05$; a,b,c means significant differences at $p < 0.05$

Spermium-motilitás

Az összes motilis sejt aránya tavasztól télig növekvő tendenciát mutatott, tavasszal volt a legalacsonyabb, ezt követte a nyár és az ősz, majd télen volt a legmagasabb.

Egész évben a gyors előrehaladó mozgást végző sejtek aránya volt a legmagasabb a mintákban, melyeknek aránya ősszel és télen volt a legnagyobb, a legalacsonyabb pedig tavasszal. A közepesen gyors előrehaladó mozgást végző sejtek aránya tavasszal szignifikánsan magasabb, ősszel pedig alacsonyabb volt a többi évszakhoz képest.

Az egyhelyben mozgó sejtek átlagos értéke 18%, míg az immotilis sejteké 12,7 % volt az év során. Minden kategória esetében észrevehető különbség volt a sejtmozgásban az évszakok között, a legmagasabb értékeket összességében télen érték el. (3. táblázat).

3. táblázat

A motilitási paraméterek évszakonkénti változása

Évszak (1)	Gyors előrehaladó mozgást végző sejtek % (2)	Közepesen gyors előrehaladó mozgást végző sejtek % (3)	Egy helyben mozgó sejtek % (4)	Nem mozgó sejtek % (5)	Összes motilis sejt % (6)
Tavaszi (7)	56,1 ^a	13,3 ^a	15,0 ^a	15,7 ^a	84,3 ^a
Nyár (8)	59,8 ^{a,b,c}	5,7 ^b	20,2 ^{b,c}	14,3 ^{a,b}	85,7 ^{a,b}
Ősz (9)	65,0 ^b	1,8 ^c	21,7 ^b	11,5 ^b	88,5 ^b
Tél (10)	70,7 ^{b,d}	4,8 ^b	15,1 ^{a,c}	9,4 ^c	90,3 ^c
	a-b;c-d	a-b;a-c;b-c	a-b;b-c	a-b;a-c;b-c	a-b;a-c;b-c

Table 3. Seasonal distribution of motility parameters

season (1); rapid progressive % (2); medium progressive % (3); non-progressive % (4); immotile % (5); total motile cells % (6); spring (7); summer (8); autumn (9); winter (10)

a,b,c,d szignifikáns különbséget jelöl $p < 0,01$; a,b,c,d means significant differences at $p < 0.01$

Az élő, ép és morfológiailag rendellenes sejtek vizsgálata

Az eozin-anilin késsel festett kenetekben az élő, ép sejtek aránya tavasszal volt a legalacsonyabb (81,09%), a nyár és az ősz között nem jelentkezett különbség (84,71% és 83,58%), a legmagasabb értékeket pedig télen kaptuk (87,07%). Tavasszal és nyáron (3,49% és 3,52%) nem találtunk különbséget a rendellenességek mennyiségében, ezeket enyhe csökkenés követte ősszel (2,82%) és télen (1,76%) (2. ábra).

Ondóvétel gyakorisága

Az ondóvételi gyakoriság hatásának vizsgálata során a csoportok között nem találtunk szignifikáns különbséget. A sikeres ondóvételek aránya gyakoribb spermagyűjtés esetén alacsonyabb (48,6% vs. 24,9%) volt (3. ábra).

2. ábra Az élő, ép és élő, morfológiailag rendellenes sejtek arányának évszakonkénti megoszlása eozin-anilin kékkel festett kenetekben

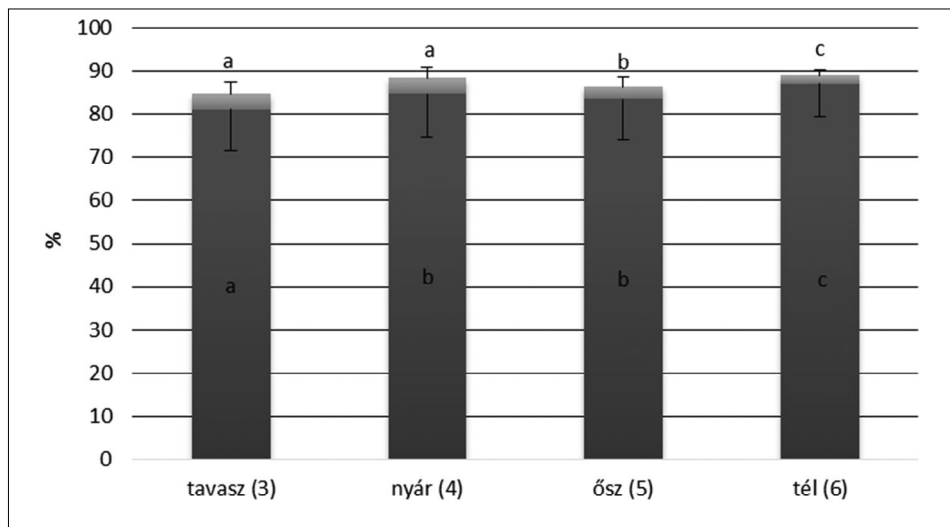


Figure 2. Seasonal distribution ratio of live, intact and live, abnormal spermatozoa in eosin-aniline blue-stained smears

live, intact cells (1); live, morphologically abnormal cells (2); Spring (3); Summer (4); Autumn (5); Winter (6)

,a,b,c szignifikáns különbséget jelöl $p < 0,05$; a,b,c means significant differences at $p < 0.05$

3. ábra A sikeres ondóvételek aránya a különböző gyakoriságú ondóvételek esetén

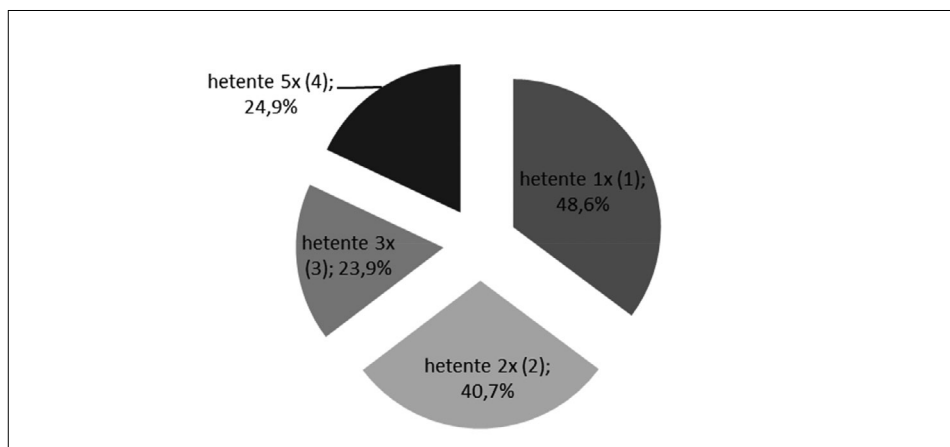


Figure 3. Effect of semen collection frequency of successful semen collection once a week (1); twice a week (2); three times a week (3); five times a week (4)

4. ábra A spermium-koncentráció alakulása a különböző ondóvételi gyakoriságú csoportokban

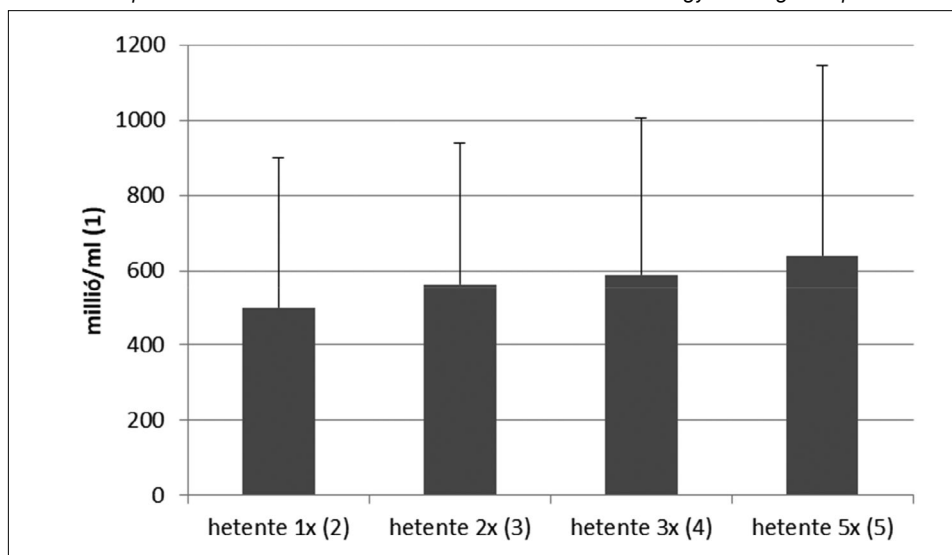


Figure 4. Seasonal variations in sperm concentration during the study period

million/ml (1); once a week (2); twice a week (3); three times a week (4); five times a week (5)

Koncentráció

Az átlagos spermium-koncentrációban sem találtunk lényeges különbséget a különböző gyakoriságú ondóvételek között (4. ábra), de az értékek – érdekes módon - a spermavételek gyakoriságával párhuzamosan nőttek. A spermium koncentráció a vizsgált időszakban 499,7 és 639,3 millió/ml között változott az egyes csoportokban.

Spermium-motilitás

Az összes motilis sejt arányában nem volt különbség az egyes spermavételi gyakoriságok között (74,2-76,3%). Mindegyik spermavételi gyakoriságnál a gyors, előrehaladó mozgást végző sejtek fordultak elő legnagyobb arányban, a legmagasabb a heti 3x csoportban (63,1%), a legalacsonyabb pedig a heti 1x csoportban (54,7%) volt. Majd ezt követte a nem mozgó sejtek aránya (24,2-26,2%). Az egyes motilitási paramétereket szignifikánsan nem befolyásolta az ondóvétel gyakorisága (4. táblázat).

Az élő, ép és morfológiailag rendellenes sejtek vizsgálata

A hetente öt alkalommal történő ondógyűjtés esetén szignifikánsan magasabb volt az élő, ép sejtek aránya (83,15%) az egyszer (76,33%) gyűjtött csoporthoz képest. A morfológiai rendellenességek a heti egyszeri gyűjtés során voltak a legmagasabbak (4,47%). Az elhalt sejtek arányában nem volt szignifikáns különbség a csoportok között (5. ábra).

4. táblázat

A motilitási paraméterek változása az ondóvételek gyakoriságának függvényében

Ondóvétel gyakoriság (1)	Gyors előrehaladó mozgást végző sejtek % (2)	Közepesen gyors előrehaladó mozgást végző sejtek % (3)	Egy helyben mozgó sejtek % (4)	Nem mozgó sejtek % (5)	Összes motilis sejt % (6)
Hetente 1x (7)	54,7	7,4	12,0	26,2	74,2
Hetente 2x (8)	62,1	4,1	9,4	24,4	75,6
Hetente 3x (9)	63,1	2,4	10,2	24,2	75,8
Hetente 5x (10)	60,9	3,8	11,5	23,7	76,3

Table 4. Effect of semen collection frequency on motility parameters

frequency of sperm collection (1); rapid progressive % (2); medium progressive % (3); non-progressive % (4); immotile % (5); total motile cells % (6); once a week (7); twice a week (8); three times a week (9); five times a week (10)

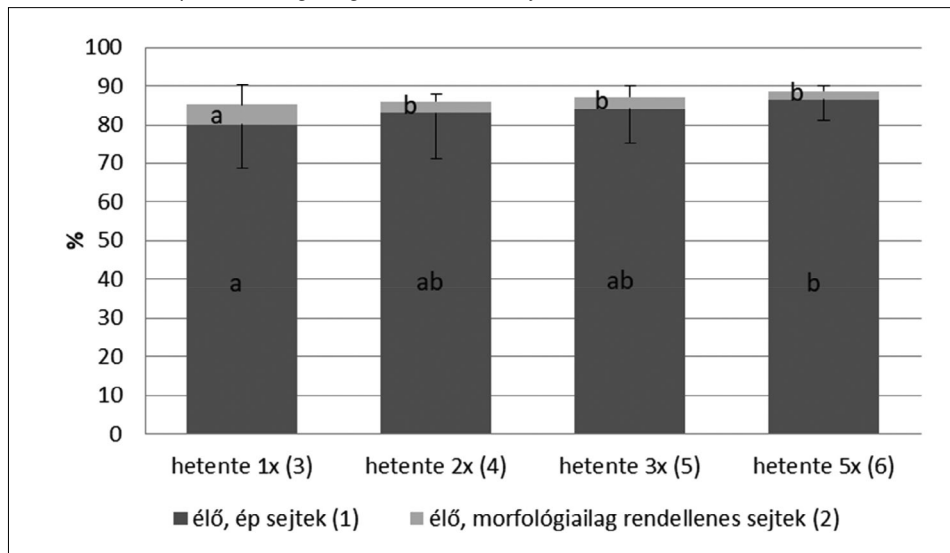
5. ábra Az élő, ép; a morfológiailag rendellenes aránya az eozin-anilin késsel festett kenetekben

Figure 5. Distribution ratio of live, intact and live, abnormal spermatozoa in eosin-aniline blue-stained smears

live, intact cells (1); live, morphologically abnormal cells (2); once a week (3); twice a week (4); three times a week (5); five times a week (6)

^{a,b} szignifikáns különbséget jelöl $p < 0,05$; ^{a,b} means significant differences at $p < 0,05$

ÉRTÉKELÉS ÉS KÖVETKEZTETÉSEK

A csincsilla természetes élőhelyén veszélyeztetett állatfaj, illetve nagy jelentőségű, mint prémes állat. A reprodukciós tulajdonságainak ismerete fontos, azonban kevés szakirodalom áll rendelkezésünkre a témával kapcsolatban. Napjainkban is úgy tartják, hogy csincsillában az egyetlen használható spermavételi módszer

az elektroejakuláció. Mára már bizonyított tény, hogy az állatok számára ez egy fájdalmas és jelentős stresszel járó eljárás. Számos tanulmány kimutatta, hogy az elektroejakuláció fiziológiai, neuroendokrin és viselkedési változásokat idéz elő, amelyek a fájdalomhoz kapcsolódó stresszválaszra utalhatnak (Falk és mtsai 2001; Etson és mtsai, 2004; Palmer és mtsai, 2005; Busso és mtsai, 2005a). Az érzéstelenítés nélkül végzett elektroejakulációt számos európai országban be is tiltották (Mosure és mtsai, 1998). Gyakorlati szempontból sem a leghatékonyabb és legegyszerűbb módszer, hiszen az állatok altatása/érzéstelenítése szükséges a végrehajtásához (Nathavut és mtsai, 2012). Az elektroejakuláció során az ondó rendszerint vizelettel keveredik, amely rendkívül kedvezőtlen hatást gyakorol az ondóra. Megfigyelték, hogy a spermiumok mozgékonyasága 5 perc alatt minimum felére csökkenhet a vizelettel való keveredés következtében (Makler és mtsai, 1981). Mindezek ellenére mégis számos állatfajban ez a legelterjedtebb módszer az ondó nyérése.

Azonban eredményeink alapján elmondhatjuk, hogy az általunk kifejlesztett digitális manipuláción alapuló technikával, megfelelő rutinnal elektroejakuláció és altatás nélkül is lehet sikeresen ondót gyűjteni, ami alapvető és nélkülözhetetlen lépése a faj fenntartásának, valamint a további spermatológiai paraméterek meghatározásához és állatvédelmi szempontból is jelentős eredmény. Az ondóvételek sikeressége az általunk vizsgált egy év alatt nem volt kiegyenlített, tehát nem tudtunk minden alkalommal minden baktól ondót gyűjteni. Azonban úgy gondoljuk, hogy tudatos szelekciós munkával, illetve az ondóvételi technika finomításával javítható az ondóvétel sikeressége.

Korábbi szakirodalmak szezonalitást állapítottak meg a csincsillák reprodukciós teljesítményében (Healey és Weir, 1970; Orostegui és mtsai, 2000; Busso, 2006). Kutatásunkban mi is tapasztaltunk az egy éves ciklus folyamán változásokat, mind az ondóvételek sikerességében/ondóleadás hajlandóságában, mind pedig az ondó minőségi paramétereik között. Ezen változó tényezőkkel kalkulálva azonban elmondható, hogy egész év során gyűjthető termékenyítésre alkalmas ondó, amely a mesterséges termékenyítés kidolgozására és alkalmazására, valamint a reprodukciós teljesítmény növelése érdekében nélkülözhetetlen.

A csincsilla spermatológiai paramétereiről is kevés irodalmi adat áll rendelkezésünkre és tág határok között mozognak (pl. koncentráció 1 - 11712 millió/ml), melyeket szubjektív becsléssel határoztak meg, ezek értékeit az 1. táblázatban foglaltuk össze. CASA rendszerrel történő analízisre egyáltalán nem találtunk irodalmi adatot.

Ezek a tág határok talán a szakirodalmak által sejtett reprodukciós szezonalitásnak tudható be, valamint a különböző elektroejakulációs technikáktól is függhetnek. Ezen kívül nem találtunk még egy olyan munkát, melyben ilyen nagy számú egyed (46 db bak csincsilla) vizsgáltak volna egy éven keresztül.

Az általunk vizsgált ondóminták paramétereik között szintén nagy eltéréseket tapasztaltunk, de nem egy határozott szezonális csúccsal, hanem az év során ingadozó értékekkel.

A spermavétel gyakorisága nagymértékben nem befolyásolta az egyes spermatológiai paramétereket, sőt az ejakulátumban található élő, ép sejtek arányában a sűrűbb ondóvétel kedvezőbbnek bizonyult. Azonban a spermaadási hajlandóság a gyakoribb spermavételek esetében volt a legalacsonyabb, ezért a

gyakorlati szempontok figyelembevételével a heti 2x spermagyűjtés elfogadható, hiszen összességében ezzel lehet a legtöbb spermiumot nyerni, jó motilitási értékekkel és kevesebb rendellenes sejttel.

IRODALOMJEGYZÉK

- Barnabe, V. H. – Duarte, M. – Barnabe, R. C. – Vizintin, J. A. – Freitas, M. T. L. (1994): Electroejaculation and seminal characteristics in chinchilla (*Chinchilla lanigera*). Rev. Fac. Med. Vet. Zoot., 31. 29-297.
- Busso, J. M. – Ponzio, M. F. – Chiaraviglio, M. - Fiol de Cueno, M. – Ruiz, R. D. (2005a): Electroejaculation in the Chinchilla (*Chinchilla lanigera*): effects of anesthesia on seminal characteristics. Res. Vet. Sci., 78. 93-97. doi: 10.1016/j.rvsc.2004.06.004.
- Busso, J. M. – Ponzio, M. F. - de Cuneo, M. F. – Ruiz, R. D. (2005b): Year-round testicular volume and semen quality evaluations in captive *Chinchilla lanigera*. Anim. Reprod. Sci., 90. 127–134.
- Busso, J. M. (2006): Estudio de la función reproductora y optimización de biotecnologías para mejorar la eficacia reproductiva del género chinchilla [Study of reproductive function and improvement of biotechnology for optimizing reproduction in Chinchilla]. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales-Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba-Argentina [PhD Thesis]
- Dalziel, C. F. – Phillips, C. L. (1948): Electric ejaculation. Determination of optimum electric shock to produce ejaculation in chinchillas and guinea-pigs. Am. J. Vet. Res., 9. 225-227.
- Löchner-Ernst, D. - Mandalka, B. - Kramer, G. - Stöhrer, M. (1997): Conservative and surgical semen retrieval in patients with spinal cord injury. Spinal Cord., 35. 463-468. doi: 10.1038/sj.sc.3100412.
- Dominichin, M. F. – Bianconi, S. – Ponzio, M. F. - Fiol de Cuneo, M. F. – Ruiz, R. D. – Busso, J. M. (2014): Seasonal evaluations of urinary androgen metabolites and semen quality in domestic long-tailed chinchilla (*Chinchilla lanigera*) under natural photoperiod. Anim. Reprod. Sci., 145. 99-104.
- Domokos, Z. (2011): A hazai charolais szarvasmarha állomány típusinak és értékmérő tulajdonságainak elemzése. SZIE Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola, Doktori értekezés
- Etson, C. J. - Waldner, C. L. - Barth, A. D. (2004): Evaluation of a segmented rectal probe and caudal epidural anesthesia for electroejaculation of bulls. Can. Vet. J., 45. 235–240.
- Falk, A. J. - Waldner, C. L. - Cotter, B. S. - Gudmundson, J. - Barth, A. D. (2001): Effects of epidural lidocaine anesthesia on bulls during electroejaculation. Can. Vet. J., 42. 116–120.
- Healey, P. – Weir, B. J. (1967): A technique for electro-ejaculation in chinchillas. J. Reprod. Fertil., 13. 585-588.
- Healey, P. – Weir, B. J. (1970): Changes in the ultrastructure of Chinchilla spermatozoa in different diluents. J. Reprod. Fertil., 21. 191-193.
- Horn, P. - Pászthy, Gy. – Bene, Sz. – Wekerle, L. (2011): Sertésenyésztés. Kaposvári Egyetem; Nyugat-Magyarországi Egyetem; Pannon Egyetem. <http://dtk.tankonyvtar.hu/xmlui/handle/123456789/13078>
- Ibrahim, S. A. (1997): Seasonal variations in semen quality of local and crossbred rams raised in the United Arab Emirates. Anim. Reprod. Sci., 49. 161–167.
- Makler, A. – David, R. – Blumenfeld, Z. – Better, O. S. (1981): Factors affecting sperm motility. VII. Sperm viability as affected by change of pH and osmolarity of semen and urine specimens. Fertil. Steril., 36. 507–511.
- Mosure, W. L. - Meyer, R. A. - Gudmundson, J. - Barth, A. D. (1998): Evaluation of possible methods to reduce pain associated with electroejaculation in bulls. Can. Vet. J., 39. 504–506.
- Nathavut, K. – Kornchai, K. – Piyawan, S. – Anuchai, P. (2012): Effect of semen collection techniques on semen quality and sperm motility parameters in siamese fighting cock (*Gallus gallus*). Thai Vet. Med., 42. 439-445.

- Niedbala, P. - Szeleszczuk, O. - Kuchta-gładysz, M. - Joneczek, M. - Dobrzńska, M. - Maj, D. (2015): Influence of selected extenders for liquid storage at 4°C of breeding chinchilla (*Chinchilla lanigera*) semen on sperm DNA integrity. *Folia Biol* (Krakow), 63. 279-287. doi: 10.3409/fb63_4.279.
- Orostegui, P. C. - Parraguez, V. H. - Adaro, L. A. - Peñailillo, P. G. - Cepeda, R. C. (2000): Histological and morphometric changes of the seminal vesicles of *Chinchilla lanigera* in captivity, induced by seasonal variations. *Revista Chilena de Anatomia*, 18. 1–5.
- Palmer, C. W. - Brito, L. F. C. - Arteaga, A. A. - Söderquist, L. - Persson, Y. - Barth, A. D. (2005): Comparison of electroejaculation and transrectal massage for semen collection in range and yearling feedlot beef bulls. *Anim. Reprod. Sci.*, 87. 25–31.
- Ponce, A. A. – Carrascosa, R. E. – Aires, V. A. - Fiol de Cuneo, M. – Ruiz, R. D. – Ponzio, M. F. – Lacuara, J. L. (1998): Activity of *Chinchilla lanigera* spermatozoa collected by electroejaculation and cryopreserved. *Theriogenology*, 50. 1239-1249. doi: 10.1016/s0093-691x(98)00223-4.
- Ponzio, M. F. - Roussy-Otero, G. N. – Ruiz, R. D. - Fiol de Cuneo, M. (2011): Seminal quality and neutral alpha-glucosidase activity after sequential electroejaculation of chinchilla (*Ch. lanigera*). *Anim. Reprod. Sci.*, 26. 229-233. doi: 10.1016/j.anireprosci.2011.06.010.
- Reiczigel, J. - Harnos, A. - Solymosi, N. (2007): Biostatistika nem statisztikusoknak. p. 42. Pars Kft, Nagykovácsi, HU ISBN 978-963-06-3736-7.

Érkezett: 2022. december

Szerzők címe: Babarczy B. – Szőke Zs.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Genetika és Biotechnológia Intézet

Authors' address: Hungarian University of Agriculture and Life Sciences
Institute of Genetics and Biotechnology Sciences
H-2100 Gödöllő Szent-Györgyi Albert utca 4.
babarczy.bianka@uni-mate.hu

Drobnyák Á. – Barna J. – Szabó Zs. – Végi B.
Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ
Haszonállat-génmegőrzési Intézet
National Centre for Biodiversity and Gene Conservation
H-2100 Gödöllő Isaszegi út 200.

Heincinger M. – Kustos K.
Lab-Nyúl Kft.
Lab-Nyúl Ltd.
H-2100 Gödöllő Kossuth Lajos utca 27. 3/10.