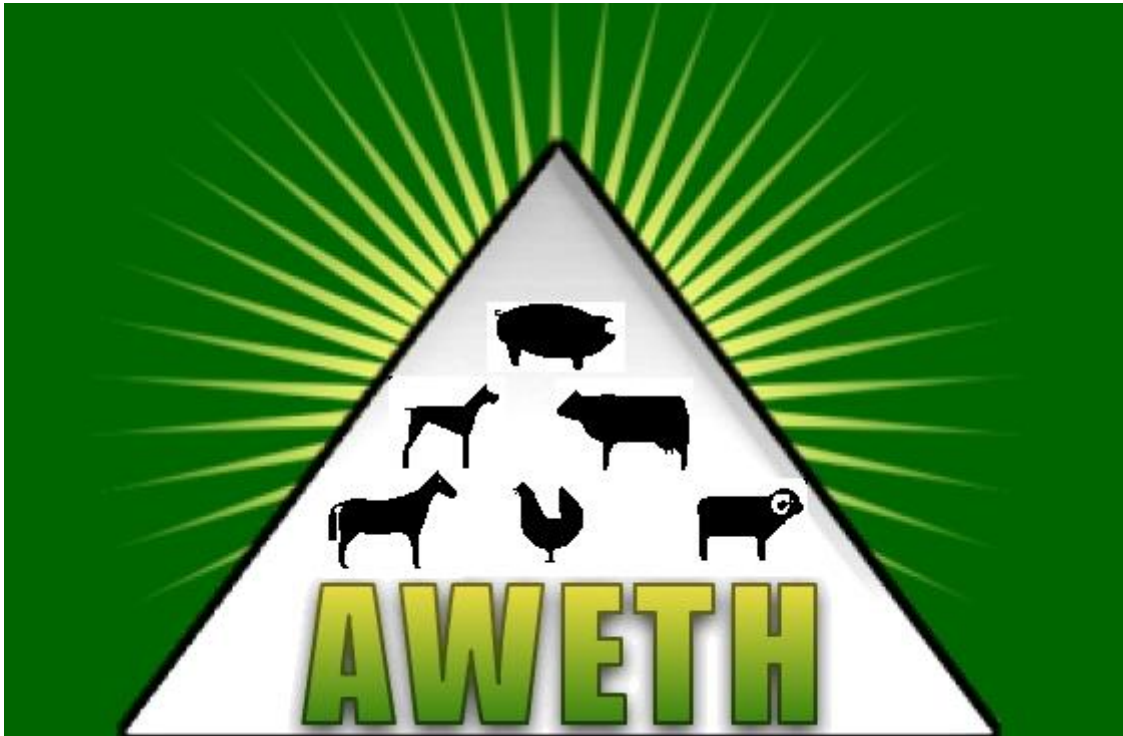


Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 18

Issue 2

Gödöllő
2022

IVARDETERMINÁLT TERMÉKENYÍTŐANYAGBÓL SZÁRMAZÓ HOLSTEIN-FRÍZ TEHENEK ELSŐ LAKTÁCIÓS TELJESÍTMÉNYE

*Polgár József Péter¹, Nagy Szabolcs Tamás², Abella Dorina¹, Faludi Gergely¹,
Bene Szabolcs¹*

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet,

¹Állatnemesítési Tanszék,

²Precíziós Állattenyésztési és Állattenyésztési Biotechnika Tanszék,

8360 Keszthely, Deák Ferenc u. 16.

polgar.jozsef.peter@uni-mate.hu

Received – Érkezett: 19.12.2022.

Accepted – Elfogadva: 30.12.2022.

Összefoglalás

Napjainkban a szarvasmarha-tenyésztésben az ivardeterminált sperma használata a mindennapos gyakorlat része. Többek közt ennek a technológiának is köszönhető az a nagymértékű genetikai előrehaladás, ami egyre magasabb színvonalú termelést tesz lehetővé. Az apai hatás kevésbé vizsgált ezen a területen, mivel a kutatások elsősorban az anyai szervezet embrionális fejlődésre és az utód fenotípusára gyakorolt hatását vizsgálták. Vizsgálatunk célja az apai hatás értékelése volt ivardeterminált és normál termékenyítő anyagból származó utódok termelési tulajdonságaira vonatkozóan. Ehhez egy nagy létszámú, nagy tejtermelési szinttel jellemezhető tehenészet többéves szaporodásbiológiai és tejtermelési adatait használtuk fel, amelyek alapján összehasonlítottuk adott bikák szexált és normál spermából származó utódainak első laktációs tejtermelését. Az adatokat a Riska telepírányítási rendszerből nyertük ki. Az adatbázis felépítéséhez 2015 és 2019 között ellett üszők termelési, valamint származási, adatait használtuk fel. Eredményeink alapján, az első laktációs termelésre hatást gyakorol az egyes bikáktól felhasznált sperma típusa. A jövőben ezért olyan vizsgálatok elvégzése javasolt, amelyek részletesebben kimutatják a szexálási eljárás hatását a bikák termékenyítőanyagára.

Kulcsszavak: ivardeterminált sperma, apai hatás, első laktáció, tejtermelés, holstein-fríz

First lactation performance of Holstein-Friesian cows derived from sexed insemination doses

Abstract

Nowadays, the use of sexed sperm is a part of everyday practice in cattle breeding. Among other things, this technology is responsible for the large-scale genetic progress, which enables higher and higher quality production. The paternal effect is less studied in this area, as research primarily focuses on the maternal effects on embryonic development and the phenotype of the offspring. The study's aim was to evaluate the paternal effect on the production parameters of offspring from sexed and conventional AI doses. For this purpose, several years of reproductive and milk production data of a dairy farm characterized by a high level of milk production were used, based on which the first lactation milk production of offspring derived from sexed and normal sperm of given bulls was compared. The data were obtained from the Riska management software. To build the database, data on the production, origin and first calving

age of heifers calved between 2015 and 2019 were used. Based on our results, the type of sperm used from individual bulls affects the first lactation production. In the future, it is therefore recommended to carry out studies that reveal in more detail the effect of sexing procedure on the reproductive material of bulls.

Keywords: sexed sperm, paternal effect, first lactation, milk production, Holstein Friesian

Bevezetés

Napjainkban a szarvasmarha-tenyésztésben az ivardeterminált sperma használata a mindennapos gyakorlat része. Többek közt ennek a technológiának is köszönhető az a nagymértékű genetikai előrehaladás, ami egyre magasabb színvonalú termelést tesz lehetővé. A szarvasmarha-tenyésztésben nagy hangsúlyt fektetünk annak vizsgálatára, hogy a szülői genom miként befolyásolja az utódok teljesítményét. Az apákat elsősorban az alapján értékeljük, hogy genetikailag miként javíthatják a következő generáció teljesítményét. Napjainkban azonban már humán- és állatmodellekben is bizonyított, hogy az apai és az anyai szervezet környezete, illetve maga a szülői szervezet egyaránt hatással van az utód posztnatális fenotípusára. Szarvasmarha-, humán-, illetve egérkísérletekben is kapcsolatba hozták az asszisztált reprodukciós technológiák alkalmazását a fejlődési programozásban tapasztalt eltérésekkel. Szarvasmarhák esetében egyes eredmények arra mutatnak, hogy az ilyen biotechnológiai eljárások (szuperovuláltatás, embriótranszfer, ivardeterminált sperma) használatából származó borjak teljesítményében különbségek lehetnek. Az apai hatás kevésbé ismert ezen a területen, mivel sok kutatás elsősorban az anyai szervezet embrionális fejlődésre és az utód fenotípusára gyakorolt hatását vizsgálja.

Célunk a kutatás során az apai hatás értékelése volt ivardeterminált és normál termékenyítő anyagból származó utódok termelési paramétereire. Ehhez egy intenzív tejelő tehenészet többéves szaporodásbiológiai és tejtermelési adatait használtuk fel. Vizsgálatainkban összehasonlítottuk a szexált (ivardeterminált) és a normál spermából származó utódok első laktációs tejtermelését. Fontos eleme volt a kutatásunknak, hogy az egyes apák eltérő spermatípusból származó utódcsoportjainak átlagos teljesítményét is összehasonlítottuk. Ezzel megvizsgáltuk, hogy az adott bika eltérő spermatípusából származó utódok laktációs és 305 napos tejtermelésében milyen eltérések találhatóak.

Irodalmi áttekintés

A szarvasmarha-tenyésztésben az ivardeterminált sperma használata a nagyhatású biotechnológiai eljárások egyike. Tejelő tehenészetekben való alkalmazásának célja, hogy nagyobb számban szülessenek üszőborjak, amely által nagyobb szelekciós bázist tudunk biztosítani, és javítjuk a genetikai előrehaladást. A legelterjedtebb flow citometriás eljárás segítségével, adott kromoszómára közel 90% tisztaságú mesterséges termékenyítőanyag állítható elő (Johnson és Welch, 1999; De Vries et al., 2008; Healy et al., 2013). Ha a technológia használatának bármilyen negatív hatása van az utódok termelésére, annak direkt következménye van annak alkalmazására és a tenyésztési folyamatra (Djedović et al., 2017). A termékenyítéshez a spermiumoknak megfelelő motilitással, morfológiai tulajdonságokkal, sértetlen akroszómával, ép genetikai anyaggal és aktív mitokondriummal kell rendelkezniük (Vincent et al., 2012). Bizonyított, hogy az ivardeterminált sperma előállítás nagymértékű stressznek teszi ki a spermiumokat, amelyek szerkezete így károsodhat (Cerchiaro et al., 2007). Carvalho et al. (2010) eredményei szerint a szexálás rontja a spermiumok motilitását, valamint károsítja a membrán és akroszóma szerkezetét is. Ezzel van összefüggésben az ivardeterminált sperma alacsonyabb fertilitása a normál termékenyítő anyagéhoz képest. Az ivardeterminált sperma használatakor a bikák termékenyítőképességében, illetve azok normál spermához

viszonyított fertilitás csökkenésében is különbségeket tapasztaltak (Healy et al., 2013; Kurykin et al., 2016; Maicas et al., 2019).

A szarvasmarha-tenyésztésben számos olyan asszisztált reprodukív technológiát használunk, amelyeknél már bebizonyították, hogy azok epigenetikai úton génexpressziós változásokat okoznak, ezzel befolyásolva az embriók és gaméták fejlődését (Urrego et al., 2014). Így nem kizárt, hogy az asszisztált reprodukív technológiákból származó borjak fejlődési programja is módosul. A mesterséges termékenyítéssel szemben az *in vitro* termékenyítésből származó borjak nagyobb arányban születnek halva és hullanak el életük korai szakaszában. Az *in vitro* termékenyítéskor használt tápoldat is hatást gyakorol az utódok posztpartum fenotípusára (van Wagtenonk et al., 2000; Bonilla et al., 2014). A Large Offspring Syndrome (LOS) gyakorlatilag a magzatot, a placentát vagy a borjút érintő, többféle és eltérő szintű fejlődési rendellenesség összefoglaló elnevezése (Farin et al., 2006). Smith et al. (2009) több olyan génexpressziós eltérést talált *in vitro* termékenyített és *in vivo* termékenyített embriók között, amelyek a LOS kialakulásáért lehetnek felelősek. Tanulmányukban arra is rámutattak, hogy ezeknek az oka az eltérő mikro környezet lehet. Az *in vitro* termékenyített embriók génexpressziója heterogénebb volt kísérletükben, ami a LOS inkonzisztens előfordulását okozhatja. Szarvasmarhánál az *in vitro* módon előállított embriók esetében, a LOS és az elnyúlt vemhességprobléma előfordulásának csökkenését a tápoldat, azaz az embrió mesterséges környezetének változtatásával sikerült elérni. Ehhez a petevezeték sejtjeinek társ-kultúrás (co-culture) tenyésztésének elhagyására és a szérum mennyiségének csökkentésére volt szükség (Duranthon és Chavatte-Palmer, 2018). A LOS előfordulásának gyakoriságát több tanulmány is bizonyította *in vitro* termékenyítésből származó borjak esetén (Behboodi et al., 1995; Wilson et al., 1995). Rivera (2019) véleménye szerint a probléma az embrió beültetésekor kezdődik. Kiemeli az *in vitro* termékenyített embriók esetében fennálló epigenetikai változások jelentőségét, melyek az *in vivo*hoz képest eltérő környezetre adott genetikai reakciókat tükrözik. Bermejo-Álvarez et al. (2010), az általuk vizsgált kilenc gén esetében nem találtak különbséget a génexpresszióban a szexált és a nem szexált spermával termékenyített tehének embriói között. Azonban az embriók barázdálódásának mértékében különbséget találtak a spermatípusok és a bikák között is. Mikkola és Taponen (2017), üszök és tehének szuperovuláltatásából gyűjtött embrióknál szintén az embriók késleltetett fejlődését tapasztalták az ivardeterminált sperma esetén, valamint azok minősége is gyengébb volt. Morton et al. (2007), vizsgálatukban nem tapasztalták az embriók fejlődésében való eltérést a szexált és a normál spermából származó embriók között. Azonban az embriók oxidatív stressztűrő képességében (G6PD) és anyagcseréjében szerepet játszó (Glut-3) gének csökkent működését figyelték meg, ezzel is bizonyítva, hogy a szexálási eljárásnak, az addig ismertnél jelentősebb, negatív következményei lehetnek. A szexálás epigenetikai hatását Carvalho et al. (2012) nelore (*Bos indicus*) fajtájú bikák spermája felhasználásával elemezték. Az általuk vizsgált két gén (IGF2 és IGF2R) esetén nem találtak szignifikáns különbséget az ivardeterminált és a normál spermiumok között, azonban a bikák között szignifikáns eltérést tapasztaltak a metilációs mintában, ám ezek biológiai szerepét nem ítélték jelentősnek.

Az abnormális borjak aránya az ivardeterminált spermából születettek esetében nem nagyobb, mint a normál spermából született társaik esetében. Azonban a születési súly, az életképesség és a halva ellés gyakorisága nagyobb. A két ivar közül a bikák esetében nagyobb a holtellés aránya az X kromoszómára szelektált sperma használatakor (DeJarnette et al., 2009; Norman et al., 2010; Healy et al., 2013; Djedović et al., 2016, Diers et al., 2020). Fontos megemlíteni, hogy DeJarnette et al. (2009) vizsgálatában az összes szexált spermából született borjú halva elléseinek aránya nem volt magasabb a normál spermából születettekhez képest abban az esetben, ha az anya korával korrigálták számításait. Az z előbbiekkal ellentétben, Tubman et al. (2004), vizsgálatukban nem talált a két spermatípusból származó borjak születési súlya, életképessége vagy a holtellések számában különbséget. Ennek következtében az

ivardeterminált sperma használatának, a borjak túlélésére vagy életképességére ható következménye a korai életszakaszban nem egyértelmű. Egérkísérletek alapján mutatták ki, hogy a paternális környezet szerepe az utód fejlődésében nem csupán genetikai és epigenetikai úton valósul meg, mivel a szemínális plazma is jelentős szerepet játszik ebben (Watkins et al., 2018; Morgan és Watkins, 2020). A szarvasmarhasperma mélyhűtése esetében a szemínális plazma eltávolításra kerül. Kísérleti eredmények bizonyították, hogy ennek hiányában a flow citometriás szexálás hatékonyabb, és az így szortírozott spermiumok felolvasztás utáni motilitása is jobb (Burroughs et al., 2013; Steinhauser et al., 2016). A környezeten kívül a bika életkora is epigenetikai hatással van a korai embrió metabolizmusra, ugyanakkor az még nem bizonyított, hogy ez a hiba később magát korrigálja vagy elhanyagolható-e a hatása a túlélő embriókban (Wu és Sirard, 2020).

Anyag és módszer

Vizsgálatunkban egy ezer feletti fejt létszámú, intenzív tejtermelő tehenészet adatait értékeltük. A telepen folyamatos és precíz adatrögzítés folyik a tejtermelésről, valamint a szaporodásbiológiai eseményekről. A termékenyítőanyagot több, hivatalos forgalmazótól szerzik be. Az adatokat a telepmenedzsmen által használt Riska telepírányítási rendszerből nyertük ki. Az adatbázis felépítéséhez 2015 és 2019 között ellett üszök termelési, származási, valamint első ellési életkor adatait használtuk fel. A tehenek esetében rögzítettük az apa azonosítóját és a termékenyítéshez használt spermátípust. A normál és az ivardeterminált termékenyítőanyag hatását spermátípusonként és az apák utódcsoportjai esetében egyenként is vizsgáltuk. A viszonyítási alap a vizsgált paraméter esetében a populáció átlaga volt. Az apáknál a két spermátípusból származó tehenek termelése közötti különbségeket csak azokban az esetekben értékeltük, ahol mindkét spermátípusból legalább 10 utód első laktációs tejtermelési adatai megvoltak. Így a lezárt laktációk esetében 6 bika utódaikat használtuk a vizsgálatban, a 305 napos (305 napra korrigált) laktáció esetében pedig 9 apa utódaikat. Az összes zárt laktációs értékelésben szereplő bika része volt a 305 napos értékelésnek is. A lezárt laktációkat úgy választottuk ki, hogy azok laktációs napjainak száma 280 és 330 közé essen. A tejtermelési adatok közül a tejmenyiség, a tejszír, illetve a tejfehérje kg és százalék értékeit is vizsgáltuk. A zárt laktáció esetén a perzisztencia is értékelésre került. Az egyedszámok eltérőek voltak attól függően, hogy csak a spermátípust vagy az apákat hatását is vizsgáltuk. A vizsgálatához felhasznált egyedek száma és arányai az 1., 2. és 3. táblázatban láthatóak. Az apák KPLSZ azonosítója helyett a bikákat egyszerűsített kóddal (A, B, C, D, E, F, G, H, I) jelentítettük meg.

1. táblázat: A vizsgált utódok száma

	Összes utód a vizsgálatban	Ivardeterminált spermából származó utódok	Normál spermából származó utódok
Zárt laktációs termelés vizsgálata	1164	822	342
305 napos termelés vizsgálata	1966	1385	581

Table 1: Number of tested offsprings

2. táblázat: 305 napos laktáció vizsgálatában szereplő utódok száma

bika	Összes utód a vizsgálatban	Ivardeterminált spermából származó utódok	Normál spermából származó utódok
A	116	70	46
B	103	21	82
C	281	256	25
D	51	25	26
E	94	64	30
F	41	28	13
G	130	99	31
H	74	33	41
I	35	23	12
összesen	925	619	306

*Table 2: Number of tested offsprings in the lactation adjusted to 305 days***3. táblázat: Zárt laktáció vizsgálatában szereplő utódok száma**

bika	Összes utód a vizsgálatban	Ivardeterminált spermából származó utódok	Normál spermából származó utódok
A	61	30	31
C	185	168	17
D	23	11	12
E	51	30	21
G	100	72	28
H	43	16	27
összesen	463	327	136

Table 3: Number of tested offsprings in full lactation

Az adatok RISKÁ programból letöltött anyagát MS Office Excel programmal rendszereztük. Az értékelést az SPSS 27.0 statisztikai adatfeldolgozó szoftver ANOVA modelljével végeztük el. Az alkalmazott statisztikai próba az adatbázis eloszlása alapján Tukey próba volt.

Eredmények és értékelésükA spermatípus hatása az utódok zárt laktációs tejtermelésére

A zárt laktációs tejtermelési adatok vizsgálatakor, a spermatípus szignifikáns hatását nem tudtuk kimutatni a tejmennyiségre és a tejbeltartalmi mutatókra (4. táblázat). Az ivardeterminált és a normál termékenyítőanyagból származó tehenek átlagos laktációs tejtermelése között elhanyagolható volt a különbség (37,72 kg). Az egyedülként szignifikáns hatást a laktáció perzisztenciája esetében találtunk ($P < 0,05$). Az ivardeterminált termékenyítőanyagból származó utódok perzisztencia értékszáma 81,53, míg a normál termékenyítőanyagból származóké 82,27 volt (4. táblázat), azaz ez utóbbi esetben némileg kiegyenlítettebb volt az utódok tejtermelése a laktációban.

4. táblázat: Eltérő spermátípusból származó tehenek termelési paramétere

	Spermátípus		P
	Ivardeterminált	Normál	
Zárt laktáció			
Tej (kg)	10883,44	10921,16	NS
Zsír (kg)	380,63	386,53	NS
Zsír (%)	3,55	3,58	NS
Fehérje (kg)	354,15	353,74	NS
Fehérje (%)	3,27	3,26	NS
Perzisztencia	81,53	82,27	0,02
305 napos laktáció			
Tej (kg)	11235,96	11295,28	NS
Zsír (kg)	391,26	399,73	0,02
Zsír (%)	3,53	3,57	0,04
Fehérje (kg)	367,19	366,07	NS
Fehérje (%)	3,28	3,25	<0,01

Table 4: Production parameters of cows from different sperm types

A spermátípus hatása az utódok 305 napos laktációs termelésére

A 305 napos laktációs termelési tulajdonságok elemzésekor, már több esetben igazoltuk a spermátípus szignifikáns hatását (4. táblázat). A legtöbb beltartalmi értékekben különbség mutatkozott az eltérő spermátípus szerint. A tejszír kg (P=0,02) esetében a szexált spermából származó utódok átlagosan 8,47 kg-mal kevesebb zsírt termeltek, ami közel 2,3%-os különbséget jelent. A csoportokon belüli eltérések nem jelentősek (normál spermából származó tejszír mennyisége: 386,5 és 399,7 kg, míg a szexált spermából származó tehenek tejének tejszír mennyisége: 380,6 és 391,3 kg). A tejszír százalékra a spermátípus szintén szignifikáns hatással volt (P=0,04). A szexált spermából származó csoport átlaga 3,53 % volt, míg a normál spermából származóké 3,57 %. A két csoporton belüli eltérés mindkét esetben megközelítőleg 1% volt. A tejfehérje százalékos értékét is befolyásolta a spermátípus (P<0,01). A szexált spermából származó csoport átlaga 3,28 %, viszont a normál spermából származó csoporté csak 3,25 %. Az eltérés hasonlóan kismértékű volt, mint a tejszír százalék esetében, azonban ebben az esetben a szexált spermából származó csoporté volt a nagyobb érték.

A bikák eltérő spermátípusának hatása az utódok zárt laktációs termelésére

A zárt laktáció esetében az összes vizsgált tejtermelési tulajdonságra együttes szignifikáns hatást gyakoroltak az apák és eltérő spermátípusaik (5. táblázat). Így a tej kg és a perzisztencia értékszám (P<0,05), valamint a tejfehérje és a tejszír mennyisége (kg) és aránya (%) esetében is szignifikáns különbséget mutattunk ki az egyes bikák eltérő spermátípusából származó utódai között (P<0,01). Ugyanakkor, egy esetben sem tudtuk egyértelműen meghatározni, hogy az egyes bikáknak csak az ivardeterminált, vagy csak a normál spermából származó utódai teljesítettek jobban a vizsgált tulajdonságok tekintetében.

5. táblázat: A bikák eltérő spermátípusából származó utódainak zárt laktációs termelése

		Tej (kg)	Zsír (kg)	Zsír (%)	Fehérje (kg)	Fehérje (%)	Perzisztencia
bika	P	0,047	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,048
H	S	9702,88	329,78	3,45	308,14	3,20	82,31
	N	10095,68	339,26	3,40	314,28	3,14	81,21
A	S	10924,05	374,73	3,44	348,84	3,21	83,87
	N	10546,51	370,99	3,54	341,64	3,26	83,98
D	S	10481,85	327,32	3,16	325,21	3,13	83,54
	N	10222,43	315,81	3,09	326,10	3,21	80,45
C	S	11331,00	376,40	3,36	369,22	3,27	80,17
	N	11340,19	378,07	3,36	363,59	3,22	83,55
E	S	11035,68	392,40	3,59	352,11	3,21	82,73
	N	10640,93	384,71	3,67	351,68	3,32	85,47
G	S	11454,53	405,43	3,57	379,21	3,32	81,96
	N	11710,29	400,35	3,45	383,23	3,29	83,32
Populáció átlaga		10790,50	366,27	3,42	346,94	3,23	82,71

N= normál termékenyítőanyagból származó utódok; S= ivardeterminált spermából származó utódok

Table 5: Closed lactation production data of bull offsprings from different sperm types

A zárt laktációs tejmenyiség esetében, a hat bika eltérő spermátípusból származó utódainál három esetben a szexált, három esetben pedig a normál spermából származó csoport teljesített jobban. Azonban abban az esetben, amikor a szexált utódok csoportja teljesített jobban, az átlagok közötti eltérések valamivel nagyobbak voltak az eltérések ahhoz képest, mint amikor a normál termékenyítőanyagból származó utódok termeltek többet. A tejsírmennyiség esetében a hatból négy esetben az ivardeterminált utódcsoporthoz teljesítettek jobban. Ebben az esetben a különbségek a két bika utódcsoporthoz között 1,67 kg és 11,51 kg között változtak. A tejsír százalékos értéke esetében szintén három-három a megoszlás a spermátípus csoportok között. A legnagyobb különbséget, 0,12 %-ot, a G bika esetében tapasztaltuk az ivardeterminált termékenyítőanyagból származó utódok javára. A többi 5 esetben a különbség kisebb volt, mint 0,1 %. Két bika esetében, mindkét tejsír tulajdonságban ugyanaz az utódcsoporthoz teljesített jobban: a C bika esetében a normál spermából származó utódok, a D bikánál pedig az ivardeterminált spermából származó utódok voltak jobbak a tejsír mennyiségi és százalékos mutatója esetében is. A tejfehérje kg és százalék esetében is ugyanazon két bikánál (C és D) volt kimutatható, hogy a tejfehérje két mutatójában ugyanazon utódcsoporthoz teljesítménye volt jobb, viszont most, az előbbivel ellentétben, a másik csoport javára. A perzisztencia esetében figyelhető volt, hogy hatból négy esetben az apák normál spermából származó utódai teljesítettek jobban.

A bikák eltérő spermátípusból származó utódainak átlagait összehasonlítva a vizsgált populáció átlagával, eltéréseket tapasztaltunk az egyes bikák utódainak teljesítményében (5. táblázat). Azt láthatjuk, hogy a legtöbb esetben a két spermátípus utódcsoporthoz átlagai azonos irányba tértek el a populáció átlagától, viszont egyes esetekben, az egyik spermátípusból származó utódok jelentősen jobban teljesítettek. A tejmenyiségét tekintve, két bika esetében is a szexált spermából származó utódok teljesítettek jobban, a populáció átlagához viszonyítva. Az „A” bika normál spermából származó utódainak közel 244 kg-mal volt kevesebb az átlagteljesítménye, míg a szexált spermából származó utódoké 133,6 kg-mal volt több. A „E”

bika esetében hasonló eltéréseket tapasztaltunk, a normál spermából származó utódok 149,6 kg-mal kevesebb tejet termeltek átlagosan, míg a szexált spermából származó utódok 245,2 kg-mal többet. Két bikánál volt magasabb mindkét utódcsoport tejtermelése a populáció átlagához képest: mind a két esetben a normál spermából származó utódok termelése tért el nagyobb mértékben. A populációátlaggal való összehasonlításkor a tejsírmennyiség volt az egyetlen olyan vizsgált tulajdonság, amely esetében mindegyik bikára jellemző volt, hogy mindkét spermátípusból származó utódcsoportjai egységesen kevesebbet vagy többet termeltek. Az eltérés mértéke közel azonos volt. A tejsír százalékos arányát tekintve, a hat bika közül egy esetben nem volt megegyező a populáció átlagától való eltérés iránya a két csoport esetében. A tejfehérje-mennyiség esetében, egy bikánál különbözött a populációátlagtól való eltérés irányában a két spermátípusból származó csoport, de ezek az egyik legkisebb eltérések voltak a populációátlaghoz viszonyítva. A másik 5 bika utódai mindkét spermátípusban ugyanolyan módon tértek el, két esetben kevesebb és három esetben pedig több tejfehérjét termeltek a bika utódai. A tejfehérje százalékban már több eltérést mutattak a bikák spermátípus szerinti utódai a populációátlaggal összevetve: három esetben is jelentős volt az eltérés a csoportok között. A populációátlaghoz képest az eltérés a tejfehérjetermelés mennyiségi és százalékos mutatóinál a legegységesebb. A populáció perzisztenciaértékével összehasonlítva, 4 bikánál volt a két utódcsoport perzisztenciája között legalább 1% különbség. Azonban egyik bika egyik utódcsoportja sem mutatott a populációátlaghoz viszonyítva 3%-nál nagyobb eltérést. Az eltérések mértéke változó volt, és hatból csak három bika esetében tapasztaltunk azonos irányú eltérést mindkét spermátípus esetében, a populáció átlagához viszonyítva.

A bikák eltérő spermátípusának hatása az utódok 305 napos laktációs termelésére

Az apa és a spermátípus együttes hatásának vizsgálata esetén, a 305 napos termelési tulajdonságokra mutattuk ki a legnagyobb szignifikáns hatást. Mind a tejmennyiség, mind a tejsír mennyisége és százalékos aránya, valamint a tejfehérje mennyisége is jelentős eltérést mutatott az egyes bikák eltérő spermátípusból származó utódcsoportjai között (6. táblázat). A tejfehérje százalék volt az egyedüli tulajdonság, amelyre nem volt igazolható hatása az apáknak és a spermátípusnak. A tejmennyiséget tekintve, ($P < 0,01$) a kilencből 5 esetben az ivardeterminált utódcsoportnál, 4 esetben pedig a normál spermából származó utódok esetén volt a nagyobb. Azonban a két csoport különbségeit tekintve, a zárt laktációs vizsgálatokhoz hasonlóan, a szexált spermából származó utódcsoportok esetében voltak nagyobbak a különbségek. A legnagyobb tejtermelési eltérés a két utódcsoport között a „P” bikánál volt, 992,58 kg. A legkisebb, 46,07 kg, az „A” bika utódainál. A tejsírmennyiségben három esetben volt 10 kg feletti a különbség a bika utódcsoportjai között (A, I, G). Ebből a háromból két esetben az ivardeterminált csoport termelt többet. A tejsír százalék ($P < 0,01$) különbsége három bika esetében volt nagyobb egy tized százaléknál, ebből 2 esetben a normál spermából származó utódok teljesítettek jobban.

6. táblázat: A bikák eltérő spermátípusból származó utódainak 305 napos laktációs termelése

		Tej (kg)	Zsír (kg)	Zsír (%)	Fehérje (kg)	Fehérje (%)
bika	P	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	NS
H	S	10128,61	339,80	3,40	318,20	3,16
	N	10782,01	362,49	3,40	338,33	3,15
A	S	11277,97	392,19	3,49	365,87	3,25
	N	11324,04	395,13	3,50	366,45	3,25
I	S	12115,52	386,11	3,20	361,46	2,99
	N	11122,94	378,12	3,41	344,77	3,10
D	S	11636,41	381,66	3,28	369,81	3,18
	N	10663,45	339,81	3,18	338,96	3,19
B	S	11446,78	418,27	3,68	367,84	3,22
	N	11206,34	413,62	3,72	362,72	3,25
C	S	11959,62	391,12	3,30	390,16	3,27
	N	11771,61	396,00	3,39	383,31	3,27
F	S	12980,09	416,05	3,23	416,39	3,21
	N	13850,59	419,65	3,03	443,45	3,20
E	S	11928,87	419,05	3,54	390,37	3,28
	N	11512,71	415,27	3,65	382,18	3,33
G	S	11550,52	394,51	3,44	386,23	3,35
	N	11856,58	412,46	3,53	386,20	3,28
Populáció átlaga		11617,48	392,85	3,41	372,93	3,22

N= normál termékenyítőanyagból származó utódok; S= ivardeterminált spermából származó utódok

Table 6: Lactation production data adjusted to 305 days of bull offsprings from different sperm types

Ha az utódcsoportok átlagos tejtermelését a populáció átlagához hasonlítjuk, kilencből öt esetben láthattunk azonos irányú pozitív vagy negatív eltérést. Azonban az eltérések mértéke nagymértékben szórt. A szexált spermából származó utódok esetében a legkisebb eltérés 18,93 kg, a legnagyobb 1488,87 kg volt. A normál spermából származó utódoknál a legkisebb eltérés 104,77 kg, a legnagyobb 2233,11 kg volt. A legtöbb esetben az ivardeterminált utódok termelése kevesebb volt, mint a populációs átlag. A tejsírmennyiség esetében csupán két bika utódainál tapasztaltunk eltérő irányú eltérést az utódcsoportok között, a populációátlaghoz viszonyítva. Mindkét esetben mindegyik utódcsoport eltérése minimális, kisebb, mint 3,2 kg. Négy bikánál (B, F, E, G) mindkét utódcsoport jobban teljesített a populációs átlagnál. Ebből három bika esetében a két utódcsoport populációs átlagtól való eltérése kismértékben különbözött egymástól. A tejszír százalék esetében az egyes bikák utódcsoportjai azonos irányú eltérést mutattak a populáció átlaghoz viszonyítva. Három bika mindkét utódcsoportjánál nagyobb volt az eltérés egy tizednél, ebből két esetben kisebb volt az utódok termelése. Az eltérések mértéke közel azonosan oszlik meg a spermátípus szerinti utódcsoportok között. A tejfehérje mennyisége és százaléka esetében szintén minden csoport eltérésének iránya azonos volt az egyes bikák esetében, a populáció átlagához képest. A tejfehérje százalékot nézve azonban, már csak három bika (I, E, G) esetében figyeltünk meg egy tizednél magasabb eltérést, és csak egy bika (I) esetében igaz ez mindkét utódcsoportra. Minden más esetben a tejfehérje

százalék eltérése a populációátlagtól néhány század százalékos. A vizsgálat érdekes eredménye, hogy három bika (H, B, F) esetében az egyes szignifikáns tulajdonságok azonos irányban (pozitív vagy negatív) tértek el az utódcsoportokban.

Következtetések és javaslatok

A két laktációs vizsgálat alapján megállapíthatjuk, hogy az utódok termelése esetében a spermatípusnak szignifikáns hatása elsősorban a tej beltartalmi mutatóira van. A zárt laktáció esetében, a két spermatípusból származó utódok és a populáció egyes termelési tulajdonságai közötti eltérés bikánként jelentősebb, és ez 305 napos termelésnél még nagyobb mértékben jelenik meg. Három bika esetében a vizsgált tulajdonságokban a populációtól való negatív vagy pozitív eltérés azonos volt a különböző utódcsoportok esetén, azonban azok mértéke egymástól eltért. A bikák egyedi hatása az egyes spermatípusból származó utódcsoportok teljesítményére, igazolható volt.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy az egyes bikák spermatípusának különbsége nem kizárólag a termékenységi képességben jelenik meg. A jövőben ezért olyan vizsgálatok elvégzése javasolt, amelyek részletesebben értékelik a szexálási eljárás hatását a bikák termékenyítőanyagára. Ezek eredményei alapján hatékonyabbá tehető az eljárás vagy meghatározható lesz azon apák köre, amelyek termékenyítőanyaga kevésbé alkalmas a kromoszóma szerinti flow citometriás szortírozásra.

Irodalomjegyzék

- Behboodi, E., Anderson, G.B., BonDurant, R.H., Cargill, S.L., Kreuzscher, B.R., Medrano, J.F., Murray, J.D.* (1995): Birth of large calves that developed from in vitro-derived bovine embryos. *Theriogenology*, 44. 2. 227-232.
- Bermejo-Álvarez, P., Lonergan, P., Rath, D., Gutiérrez-Adan, A., Rizos, D.* (2010): Developmental kinetics and gene expression in male and female bovine embryos produced in vitro with sex-sorted spermatozoa. *Reproduction, Fertility and Development*, 22. 2. 426.
- Bonilla, L., Block, J., Denicol, A.C., Hansen, P.J.* (2014): Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. *Journal of Dairy Science*, 97. 1. 229-239.
- Burroughs, C.A., Graham, J.K., Lenz, R.W., Seidel, G.E.* (2013): Seminal plasma effects on sex-sorting bovine sperm. *Theriogenology*, 79. 3. 551-557.
- Carvalho, J.O., Michalczychen-Lacerda, V.A., Sartori, R., Rodrigues, F.C., Bravim, O., Franco, M.M., Dode, M.A.N.* (2012): The methylation patterns of the IGF2 and IGF2R genes in bovine spermatozoa are not affected by flow-cytometric sex sorting. *Molecular Reproduction and Development*, 79. 2. 77-84.
- Carvalho, J.O., Sartori, R., Machado, G.M., Mourão, G.B., Dode, M.A.N.* (2010): Quality assessment of bovine cryopreserved sperm after sexing by flow cytometry and their use in in vitro embryo production. *Theriogenology*, 74. 9. 1521-1530.
- Cerchiaro, I., Cassandro, M., Dal Zotto, R., Carnier, P., Gallo, L.* (2007): A field study on fertility and purity of sex-sorted cattle sperm. *Journal of Dairy Science*, 90. 5. 2538-2542
- DeJarnette, J.M., Nebel, R.L., Marshall, C.E.* (2009): Evaluating the success of sex-sorted semen in US dairy herds from on farm records. *Theriogenology*, 71. 1. 49-58.
- Diers, S., Heise, J., Krebs, T., Groenewold, J., Tetens, J.* (2020): Effect of sexed semen on different production and functional traits in German Holsteins. *Veterinary and Animal Science*, 9. 100101

- Djedović, R., Bogdanović, V., Stanojević, D., Nemes, Z., Gáspárdy, A., Cseh, S. (2016): Involuntary reduction in vigour of calves born from sexed semen. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64. 2. 229-238.
- Djedović, R., Bogdanović, V., Stanojević, D., Samolovac, L., Brka, M. (2017): Phenotypic variability of fertility and milk traits in offspring obtained by insemination by sexed and conventional semen of holstein breed bulls | *Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences, JAFES. Journal of Agricultural, Food and Environmental Sciences*, 71. 1. 1-8.
- Duranthon, V., Chavatte-Palmer, P. (2018): Long term effects of ART: What do animals tell us? *Molecular Reproduction and Development*, 85. 4. 348-368.
- Farin, P.W., Piedrahita, J.A., Farin, C.E. (2006): Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. *Theriogenology*, 65. 1. 178-191.
- Healy, A.A., House, J.K., Thomson, P.C. (2013): Artificial insemination field data on the use of sexed and conventional semen in nulliparous Holstein heifers. *Journal of Dairy Science*, 96. 3. 1905-1914.
- Johnson, L.A., Welch, G.R. (1999): Sex preselection: High-speed flow cytometric sorting of X and Y sperm for maximum efficiency. *Theriogenology*, 52. 8. 1323-1341.
- Kurykin, J., Hallap, T., Jalakas, M., Padrik, P., Kaart, T., Johannisson, A., Jaakma (2016): Effect of insemination-related factors on pregnancy rate using sexed semen in Holstein heifers. *Czech Journal of Animal Science*, 61. 12. 568-577.
- Maicas, C., Hutchinson, I.A., Kenneally, J., Grant, J., Cromie, A.R., Lonergan, P., Butler, S.T. (2019): Fertility of fresh and frozen sex-sorted semen in dairy cows and heifers in seasonal-calving pasture-based herds. *Journal of Dairy Science*, 102. 11. 10530-10542.
- Mikkola, M., Taponen, J. (2017): Quality and developmental rate of embryos produced with sex-sorted and conventional semen from superovulated dairy cattle. *Theriogenology*, 87. 135-140.
- Morgan, H.L., Watkins, A.J. (2020): The influence of seminal plasma on offspring development and health. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 97. 131-137.
- Morton, K.M., Herrmann, D., Sieg, B., Struckmann, C., Maxwell, W.M.C., Rath, D., Evans, G., Lucas-Hahn, A., Niemann, H., Wrenzycki, C. (2007): Altered mRNA expression patterns in bovine blastocysts after fertilisation in vitro using flow-cytometrically sex-sorted sperm. *Molecular Reproduction and Development*, 74. 8. 931-940.
- Norman, H.D., Hutchison, J.L., Miller, R.H. (2010): Use of sexed semen and its effect on conception rate, calf sex, dystocia, and stillbirth of Holsteins in the United States. *Journal of Dairy Science*, 93. 8. 3880-3890.
- Rivera, R.M. (2019): Consequences of assisted reproductive techniques on the embryonic epigenome in cattle. *Reproduction, Fertility and Development*, 32. 2. 65-81.
- Smith, S.L., Everts, R.E., Sung, L.Y., Du, F., Page, R.L., Henderson, B., Rodriguez-Zas, S.L., Nedambale, T.L., Renard, J.P., Lewin, H.A., Yang, X., Tian, X.C. (2009): Gene expression profiling of single bovine embryos uncovers significant effects of in vitro maturation, fertilization and culture. *Molecular Reproduction and Development*, 76. 1. 38-47.
- Steinhauser, C.B., Graham, J.K., Lenz, R.W., Seidel, G.E. (2016): Removing seminal plasma improves bovine sperm sex-sorting. *Andrology*, 4. 6. 1131-1137.
- Tubman, L.M., Brink, Z., Suh, T.K., Seidel, G.E. (2004): Characteristics of calves produced with sperm sexed by flow cytometry/cell sorting. *Journal of Animal Science*, 82. 4. 1029-1036.
- Urrego, R., Rodriguez-Osorio, N., Niemann, H. (2014): Epigenetic disorders and altered gene expression after use of Assisted Reproductive Technologies in domestic cattle. *Epigenetics*, 9. 6. 803-815.

- Vincent, P., Underwood, S.L., Dolbec, C., Bouchard, N., Kroetsch, T., Blondin, P. (2012): Bovine semen quality control in artificial insemination centers. *Bovine Reproduction*, 685-695.
- de Vries, A., Overton, M., Fetrow, J., Leslie, K., Eicker, S., Rogers, G. (2008): Exploring the impact of sexed semen on the structure of the dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 91. 2. 847-856.
- van Wageningen, de Leeuw, A.M., Mullaart, E., de Roos, A.P.W., Merton, J.S., den Daas, J.H.G., Kemp, B., de Ruigh, L. (2000): Effects of different reproduction techniques: AI, moet or IVP, on health and welfare of bovine offspring. *Theriogenology*, 53. 2. 575-597.
- Watkins, A.J., Dias, I., Tsuru, H., Allen, D., Emes, R.D., Moreton, J., Wilson, R., Ingram, R.J.M., Sinclair, K.D. (2018): Paternal diet programs offspring health through sperm- and seminal plasma-specific pathways in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115. 40. 10064-10069.
- Wilson, J.M., Williams, J.D., Bondioli, K.R., Looney, C.R., Westhusin, M.E., McCalla, D.F. (1995): Comparison of birth weight and growth characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer (cloning), embryo transfer and natural mating. *Animal Reproduction Science*, 38. (1-2). 73-83.
- Wu, C., Sirard, M.A. (2020): Parental Effects on Epigenetic Programming in Gametes and Embryos of Dairy Cows.. *Frontiers in Genetics*, 11. 557846.