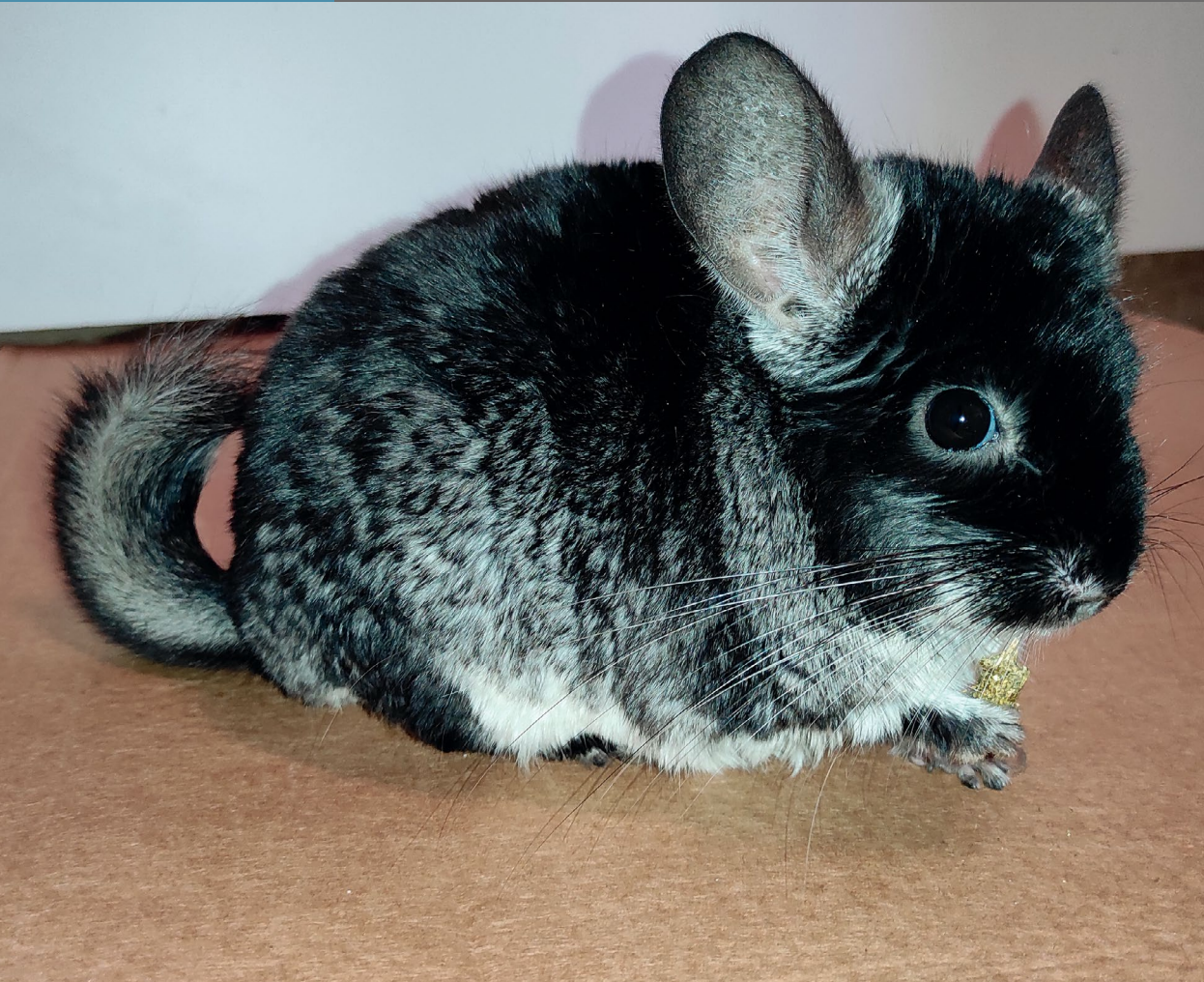


ÁLLATTENYÉSZTÉS és TAKARMÁNYOZÁS

2023. 72. 4

Alapítás éve: 1952

ÁLLATTENYÉSZTÉS – TARTÁS – TAKARMÁNYOZÁS



› Aflatoxin B1 mikrobiális detoxifikációjának hatása brojlersirkék termelési és húsminőségi paramétereire

› Marhahús-előállítás ökológiai lábnyoma a vízfelhasználás tükrében

› Erdélyi kopasznyakú tyúk ivarszervfejlődését befolyásoló gének

› Különböző tényezők hatása az ondóminőségre csincsillában

TARTALOM - CONTENTS

Erdélyi Márta - Kulcsár Roxána - Cserhádi Mátyás - Ancsin Zsolt - Szabó István - Kriszt Balázs - Kukolya József - Mézes Miklós: Az aflatoxin B1 mikrobiális detoxifikációjának hatása brojlercsirkék egyes termelési tulajdonságaira és húsminőségére (Effect of microbial detoxification of aflatoxin on some production traits and meat quality of broiler chicken) 297

Póti Péter – Kosztolányiné Szentléleki Andrea – Vertséné Zándoki Rita – Pajor Ferenc – Borka György: A marhahús-előállítás ökológiai hatása a vízfelhasználás tükrében a húsmarhágazatban (Ecological footprint of beef production in the light of water usage) 311

Tóth Arnold – Hoffmann Orsolya Ivett – Gócza Elen – Tóth Roland Imre: Ivarszervfejlődésben szerepet játszó gének vizsgálata erdélyi kopasznyakú tyúkfajtán (Examination of genes involved in reproductive organ development in Black Transylvanian Naked Neck Chicken) 325

*Babarczi Bianka – Drobnyák Árpád – Barna Judit – Szabó Zsuzsa – Szőke Zsuzsanna – Heincinger Mónika – Kustos Károly – Végi Barbara: Az ondóvételi technika, a spermavételek gyakorisága és az évszakok hatása az ondóminőségre csincsillában (*Chinchilla lanigera*) (Effect of different factors on semen quality in chinchillas) 338*

Címlap kép (Frontpage photograph)

Fogságban tartott hosszú farkú csincsilla (Fotó: Babarczi Bianka)

Captive long tailed chinchilla (Photo: Bianka Babarczi)

AZ AFLATOXIN-B1 MIKROBIÁLIS DETOXIFIKÁCIÓJÁNAK HATÁSA BROJLERCSIRKÉK EGYES TERMELÉSI TULAJDONSÁGAIRA ÉS HÚSMINŐSÉGÉRE

ERDÉLYI MÁRTA – KULCSÁR ROXÁNA – CSERHÁTI MÁTYÁS – ANCSIN ZSOLT – SZABÓ ISTVÁN – KRISZT BALÁZS – KUKOLYA JÓZSEF – MÉZES MIKLÓS

ÖSSZEFOGLALÁS

Az aflatoxinok a takarmányokat szennyező mikotoxinok közül a leginkább toxikusak. A vizsgálat célja az volt, hogy felmérjék AFB₁-el szennyezett, valamint egy új eljárással toxinmentesített kukorica brojlercsirkék termelésére és húsminőségére gyakorolt hatását nagy dózisu (100 µg AFB₁/kg takarmány) terhelés esetén. A mikrobiológiai biodegradációt az AFB₁ bontására képes *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 törzssel végzett szilárd fázisú fermentációval hajtották végre. A kísérlet során elhullást és toxikózis tüneteit nem tapasztaltak. A testsúly, a súlygyarapodás és a takarmányfelvétel minden csoportban hasonlóan alakult. A máj relatív tömege az AFB₁-terhelés hatására a hizlalás 40. és 47. napján szignifikánsan nagyobb volt, mint a kontroll és a detoxifikált takarmányt fogyasztó csoportokban. Ez arra utal, hogy a detoxifikáció hatékonyan csökkentette az AFB₁ májkárosító hatását. A mellizom pH értéke is közel azonos volt minden csoportban. A mellizom színét CIELab rendszerben értékelve nem találtak jelentős eltérést a csoportok között. Az eredmények alapján megállapítható, hogy az AFB₁ az EU határértéket ötszörösen meghaladó dózisban sem idézett elő változást brojlercsirkék termelési és húsminőségi paramétereiben, de a toxikus hatást jelezte a máj relatív tömegének növekedése, amelyet a mikrobiológiai detoxifikációs eljárás hatékonyan eliminált.

SUMMARY

Erdélyi, M. – Kulcsár, R. – Cserháti, M. – Ancsin, Zs. – Szabó, I. – Kriszt, B. – Kukolya, J. – Mézes, M.: EFFECT OF MICROBIAL DETOXIFICATION OF AFLATOXIN ON SOME PRODUCTION TRAITS AND MEAT QUALITY OF BROILER CHICKEN

Aflatoxins are the most toxic mycotoxins that have detrimental effects on farm animals' production traits and health status. Poultry species are extremely susceptible to the effects of aflatoxins; therefore, the purpose of the present study was to investigate the effect of artificially aflatoxin contaminated (100 µg AFB₁/kg feed) and microbiologically detoxified corn on some production traits and meat quality parameters of broiler chickens during the rearing period (26-47 days of age). A new method of microbiological detoxification was applied which was done with solid-phase fermentation using an aflatoxin-degrading *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 strain. As a result of fermentation, the aflatoxin content of the feed has dropped below the detection limit. During the trial period no mortality or symptoms of aflatoxin toxicosis were recorded in the experimental groups. There were no significant differences among the experimental groups in the production traits, such as body weight, body weight gain, and feed intake. However, in the last week of the trial (days 40 and 47) relative liver weight was significantly higher in the group fed with AFB₁ contaminated feed than in the control and microbiologically detoxified feed groups. It suggests that microbial detoxification could effectively prevent the liver damage caused by aflatoxins. At the same time, the relative weight of breast was the same in all three experimental groups. Considering the meat quality parameters the average pH was nearly the same in all three groups. There were no significant differences in meat colour measured by reflectance spectrometry method and evaluated by the CIELab system. According to the results of the study it can be concluded that AFB₁ did not cause significant changes in the production traits and meat quality parameters of broiler chicken even at the five-fold dose of the EU regulatory limit value, when it is applied in the grower and finisher period (after 26 days of age). However, the increased relative liver weight might be the indication of its toxic effect, which was successfully eliminated by the microbial detoxification.

BEVEZETÉS

A mikotoxinok egyes penészgomba fajok másodlagos anyagcsere termékei. Jelenleg az ismerten mikotoxin termelésre képes penészgomba fajok száma meghaladja a 350-et (Deák és mtsai, 2006). Ezek több mint 400 különféle mikotoxint termelnek, de a gazdasági állatok takarmányozásában csak néhány jelent valódi állat- és humán egészségügyi kockázatot (Alassane-Kpembi és mtsai, 2017). Kiemelten fontosak az aflatoxinok, illetve azok biológiailag aktív metabolitjai, amelyek nem csupán rendkívül toxikusak (Ledoux és mtsai, 1999), de a Nemzetközi Rákkutató Szervezet besorolása alapján humán karcinogén vegyületek is (IARC, 2002).

Az aflatoxinok (B₁, B₂, G₁, G₂) elsődleges forrásainak az *Aspergillus parasiticus*, *A. flavus* és *A. nominus* fajok toxinogén törzseit tekintik, de emellett más *Aspergillus* és *Emericella* fajok is termelhetik (Kumar és mtsai, 2017). Leggyakrabban gabonafélékben (kukorica, cirok, rizs, árpa és zab), olajos magvakban (szója, földimogyoró, gyapotmag, diófélék, pisztácia, mandula, mogyoró), valamint szárított gyümölcsökben és különböző fűszerekben fordulnak elő (Rushing és Selim, 2019). A mikotoxint termelő penészgombák az ép gabonaszemeken nem képesek elszaporodni, de betakarítás és a tárolás során a szemek sérülhetnek, a maghéj védőfunkciója ilyen módon megszűnik. Ez utat nyit a penészek elszaporodásához, amelyek így jelentős mennyiségben termelhetnek mikotoxinokat (András és mtsai, 2008).

A takarmány-alapanyagok és keveréktakarmányok aflatoxin szennyezettségének csökkentésére jelenleg több módszer is rendelkezésre áll (Rushing és Selim, 2019). Fizikai módszerekkel, így például a gabonaszemek mechanikai és sűrűség szerinti szeparációjával, vagy szín alapján végzett osztályozásával hatékonyan csökkenthető az aflatoxin szennyezettség (Pascale és mtsai, 2020). Egyes kémiai módszerek is alkalmasak lehetnek, mint például az ammonizálás, de ezek üzemi méretű hasznosíthatósága megkérdőjelezhető (Tóth és Varga, 2005). A különböző ásványi és szerves adszorbensek nem befolyásolják ugyan a takarmány mikotoxin szennyezettségét, de csökkentik azok felszívódását a bélcsatornából, a mikotoxin-adszorbens komplex pedig a bélsárral vagy ürülékkel kiürül a szervezetből (Mézes és mtsai, 2010; Fouad és mtsai, 2019). Emellett biológiai módszerekkel is csökkenthető a mikotoxin szennyezettség. Ezzel a céllal különböző biotranszformáló anyagokat, baktériumokat, gombákat vagy mikrobákból nyert tisztított enzimeket használnak, amelyek kevésbé toxikus metabolitokká alakítják a mikotoxinokat (Avantaggiato és mtsai, 2009; Fourad és mtsai, 2019).

Az aflatoxin B₁ (AFB₁) biodegradációjára számos mikroorganizmust javasoltak, így például *Aspergillus parasiticus*, *Corynebacterium rubrum*, *Mycobacterium fluoranthenorans*, *Nocardia corynebacteroides* (*Flacobacterium aurantiacum*) és *Rhodococcus erythropolis* (Ciegler és Peterson, 1966; Mann és Rehm, 1977; Hormisch és mtsai, 2004; Cserháti, 2013). A biológiai detoxifikáció történhet mikrobiális megkötés révén, a takarmány mikrobiális fermentációjával, illetve az adott mikroorganizmus, vagy az általa termelt enzim takarmányhoz történő adagolásával. A bioszorpció lehetősége elsősorban egyes *Lactobacillus* és *Saccharomyces* törzsekhez köthető. Ezek a sejtfaluk speciális poliszacharid struktúrái révén képesek összekapcsolódni az aflatoxinnal és ezáltal csökkentik

annak a biológiai hozzáférhetőségét, elősegítik a toxin ürülését a bélsárral (*Deepak és mtsai*, 2015). Ezzel szemben a fermentáció során a mikrobiális enzimek működésének köszönhetően az aflatoxin szerkezete változik, és egy kevésbé toxikus vagy nem mérgező metabolit képződik. Ez a detoxifikáció történhet olyan módon, hogy a takarmányt az élő mikroba kultúrával oltjuk be vagy a mikroorganizmusokból kinyert enzimet adjuk a takarmányhoz. Előbbi esetben a takarmány már az állatokkal történő etetést megelőzően detoxifikálódik, utóbbi esetben pedig a bélcsatornában megy végbe a mikotoxin nem toxikus metabolitokká történő átalakítása (*Guan és mtsai*, 2021). Azt is meg kell azonban jegyezni, hogy a biodegradáció nem jár minden esetben a káros biológiai hatás megszűnésével, azaz detoxifikációval. Ezért különösen fontos a biológiai tesztelése a biodegradációs eljárásokkal – esetünkben fermentációval – mentesített termékeknek. Mindazonáltal egyes mikotoxinok – elsődlegesen az ochratoxin és a zearalenon – detoxifikálására már léteznek kereskedelmi forgalomban kapható mikrobiális termékek (*Cserhádi*, 2013). Ugyanakkor az aflatoxin biodegradációja még nem megoldott. Ennek egyik fő oka, hogy a detoxifikáció hatékonysága az *in vitro* körülmények között végzett vizsgálatok szerint is széles határok között mozog (46,9-94,7%) (*Guan és mtsai*, 2021). Az *in vivo* degradáció pedig ennél sokkal gyengébb lehet. Így pl. *Loi és mtsai* (2023) kísérletében a mesterségesen szennyezett kukorica mikrobiális fermentációja során az aflatoxin koncentrációja mindössze 26%-kal csökkent.

Az egyes gazdasági állatfajok érzékenysége az aflatoxinok iránt eltérő, ezek közül a baromfifajok a különösen érzékeny csoportba tartoznak (*Rawal és mtsai*, 2010). Az aflatoxin B₁ (AFB₁) brojlercsirkében főképp a májban, a vesében és az izmokban akkumulálódik (*Ahmad és mtsai*, 2013).

Vizsgálatunk célja az volt, hogy felmérje AFB₁-el mesterségesen szennyezett, valamint egy új, szilárd fermentációra alapozott mikrobiális biodetoxifikációs eljárással toxinmentesített kukorica brojlercsirkék termelésére és - az AFB₁ húsban történő esetleges akkumulációja miatt - húsminőségére gyakorolt hatását.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A vizsgálatban Cobb 500 szexált kakasállománnyal dolgoztunk (n=240). A csirkét 25 napos korig egy légtérben egységesen tartottuk és *ad libitum* kereskedelmi brojlercsirke nevelő keveréktakarmánnyal (12,14 MJ/kg, 20,2% nyersfehérje, 4,1% nyersrost, 4,7% nyerszsír, 9,1% nyershamu) (Vitafort Zrt., Dabas) etettük. A kísérlet teljes ideje alatt az állatokat a tenyésztő szervezet (Cobb Vantress, USA) által megadott technológiai előírásnak megfelelően tartottuk. Alomanyagként puha faforgácsot alkalmaztunk. A 25. életnapon a kísérletbe 120 db csirkét vontunk be, amelyeket 6 rekeszben helyeztünk el (n=20 egyed/rekesz). A kísérleti csoportokat (40 egyed/ csoport, 20 egyed/rekesz, 2 ismétlés/csoport) egyedi mérlegeléssel úgy alakítottuk ki, hogy egy csoporton belül az átlagos testsúly (725,4±16,6 g) közel azonos legyen. A kísérlet ideje alatt az állatok takarmányozását továbbra is a fenti brojlercsirke nevelő keveréktakarmányra alapoztuk, amely sem mikotoxin megkötő anyagot, sem a mikotoxinok detoxifikálásra alkalmas enzimet nem tartalmazott (Vitafort Zrt., Dabas). Ezt a keveréktakarmányt az egyes kísérleti csoportokban a kezeléseknél megfelelően egészítettük ki AFB₁-el mesterségesen

szennyezett, illetve mikrobiológiailag AFB₁ detoxifikált kukoricával, míg a kontroll csoport takarmányába aflatoxinnal nem szennyezett kukoricát kevertünk. Az AFB₁-et kukorica szubsztrátumon termeltettük a *Dobolyi és mtsai* (2011) által izolált *Aspergillus flavus* (ZT80) törzssel. A gombakultúrát olyan mennyiségben kevertük a takarmányhoz, hogy annak tervezett AFB₁ szennyezettsége az EU növendék baromfinak szánt teljes értékű keveréktakarmányokra vonatkozó rendeletében meghatározott mennyiség (EU, 2011) (5 µg/kg) 20-szoros értéke, azaz 100 µg/kg legyen. A biológiai detoxifikáció során az AFB₁-el mesterségesen szennyezett takarmányt szilárd fázisú fermentációval dekontamináltuk egy AFB₁ bontására bizonyítottan és hatékonyan képes *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 törzssel (*Risa és mtsai*, 2018), majd a kukoricát a fermentációt követően a bekeverés előtt szárítottuk.

A kísérleti takarmányok toxintartalma immunoaffinitás (Aflaprep[®], R-Biopharm, Darmstadt) előtisztítást követően reverz fázisú izokratikus HPLC módszerrel került megmérésre fluoreszcens detektálással *Khayoon és mtsai* (2010) módszere szerint (Vitafort Zrt., Dabas). A módszer kvantifikációs érzékenysége (LOQ) 0,1 µg AFB₁/kg, 0,2 µg AFB₂/kg, 0,5 µg AFG₁/kg és 0,5 µg AFG₂/kg volt.

Az etetett keveréktakarmányok mért aflatoxin tartalmát az alábbiakban közöljük (1. táblázat).

1. táblázat

Az etetett keveréktakarmányok mért mikotoxin-tartalma (µg/kg)

Mikotoxinok (1)	Csoportok (2)		
	Kontroll (3)	Aflatoxin	Detoxifikált (4)
Aflatoxin B ₁	<0,5	59,8	<0,5
Aflatoxin B ₂	<0,5	9,5	<0,5
Aflatoxin G ₁	<0,5	<0,5	<0,5
Aflatoxin G ₂	<0,5	<0,5	<0,5
Összes aflatoxin (5)	<1	69,3	<1

Table 1. Measured mycotoxin content of feeds

mycotoxins (1); groups (2); control (3); detoxified (4); total aflatoxin (5)

A kísérleti időszakban (26.-47. nap) folyamatosan rögzítettük az elhullást, hetente mértük a testsúlyt és a takarmányfogyasztást, amelyek alapján kiszámítottuk az átlagos súlygyarapodást és a takarmányértékesítést.

A kísérlet indulásakor (26. nap), majd a 33., 40. és 47. életkori napon csoportonként 6-6 állaton laboratóriumi vágást végeztünk, majd a kivéreztetést követően mell- és májmintát vettünk. Mértük a mell és a máj tömegét és a testsúly ismeretében kiszámítottuk a mell- és máj relatív tömegét.

A vágások alkalmával húsmínőségi vizsgálatokat is végeztünk. Mértük a hús pH értékét a vágás után 90. percben, majd 36 órás hűtve (+4 °C) tárolást követően szűrőelektródával felszerelt pH mérővel (Hannah Instruments, Smithfield, USA). Vizsgáltuk a hús színét reflektancia spektrometriás módszerrel Minolta Chroma Meter CR-410 (Konica Minolta, Ramsey, USA) műszerrel, amely a CIE L*a*b* színrendszerrel működik. Az egyes csoportokból származó húsminták szín

paramétereit összevetve kiszámítottuk a színínger különbséget ($\Delta E^*_{a,b}$) Lukács (1982) módszere szerint. Ezzel megállapítható, hogy a kontroll és az adott csoport mellizmának színe közötti eltérés az emberi szem számára mennyiben érzékelhető. Az értékelés során Lukács (1982) javaslata alapján az alábbi kategóriákat alkalmaztuk: $\Delta E^*_{ab} \leq 0,5$ – nem észrevehető; $0,5 < \Delta E^*_{ab} \leq 1,5$ – alig észrevehető; $1,5 < \Delta E^*_{ab} \leq 3$ – észrevehető; $3 < \Delta E^*_{ab} \leq 6$ – jól látható; $6 < \Delta E^*_{ab}$ – szemmel jelentős mértékben érzékelhető eltérés.

Az eredményeket átlag \pm SD értékben adtuk meg. A statisztikai analízist az InStat program segítségével egy-utas ANOVA analízissel és Tukey post-hoc teszttel végeztük, az egyes csoportok közötti különbségeket $p \leq 0,05$ szignifikancia szinten tekintettük szignifikánsnak. Mivel a kísérlet során az állatok egyedi jelölésére nem volt módunk, ill. csoportos takarmányozást alkalmaztunk, egyes paraméterek – egyedi súlygyarapodás, takarmányfogyasztás, takarmányértékesítés – esetében statisztikai analízis elvégzésére nem volt lehetőség.

Kísérletünket a Pest Megyei Kormányhivatal által kiadott PE/EA/1964-7/2017 állatkísérleti engedélynek megfelelően végeztük.

EREDMÉNYEK

A kísérlet során elhullást vagy toxikózisra utaló tüneteket egyik csoportban sem tapasztaltunk.

Az állatok testsúlya egyik vizsgálati időpontban sem tért el szignifikáns mértékben az egyes csoportok között (2. táblázat).

A testsúlygyarapodás mértéke az egyes hetekben ugyan eltérő volt az egyes csoportok között, statisztikai értékelés hiányában azonban jelentős következtetés e paraméter esetében nem vonható le. A számított értékek alapján az átlagos napi súlygyarapodás – kontroll - 87,0 g/nap, aflatoxin - 84,2 g/nap, detoxifikált - 86,6 g/nap – tekintetében a csoportok között nem voltak lényeges eltérések.

Az etetés a kísérlet teljes ideje alatt csoportosan történt. A mért értékek alapján a létszám figyelembevételével számítottuk az egyes hetekben az átlagos egyedi takarmányfogyasztást.. Tendenciájában az látható, hogy az aflatoxinnal szennyezett takarmánnyal etetett csoportban a madarak átlagos egyedi napi takarmányfogyasztása - különösen az első időszakban - kisebb volt, mint a másik két csoportban, de az utolsó hétre a csoportok takarmányfelvétele hasonlóan alakult (3. táblázat). Ennek ellenére összességében a teljes kísérleti időszakra vonatkoztatva az átlagos takarmányfogyasztás az aflatoxin terhelés hatására elmaradt a kontroll és a detoxifikált takarmányt fogyasztó csoporttól is, mintegy 10,0 ill. 8,1%-kal.

A takarmányértékesítés tendenciája a kísérleti időszak egyes heteiben eltérő volt, hiszen míg az első és második héten az AFB₁-el szennyezett takarmányt fogyasztó csoportnál volt a legkedvezőbb, addig a harmadik héten a kontrollcsoport mutatta a legjobb értéket (4. táblázat). Összességében azonban megállapítható, hogy a teljes kísérleti időszakra vetítve a kontroll (1,58 kg/kg) és a detoxifikált (1,60 kg/kg) csoport takarmányértékesítése közel azonos volt. Ugyanakkor az aflatoxinnal kísérletesen szennyezett kukoricát tartalmazó keveréktakarmányt fogyasztó csoport értéke alakult a legkedvezőbbben (1,51 kg/kg), amely a testsúly és a takarmányfogyasztási adatok figyelembevételével leginkább abból adódik, hogy az

2. táblázat

**A brojlercsirkék testsúlyának alakulása a kísérlet során
(átlag ± SD, nincs szignifikáns eltérés)**

Életkor (nap) (1)	Átlagos testsúly (g) (4)		
	Kontroll (2)	Aflatoxin	Detoxifikált (3)
26.	722,6±95,3	728,2±98,6	726,6±81,2
33.	1459,7±183,3	1467,2±188,5	1503,8±187,4
40.	2070,2±240,1	2014,8±277,4	2063,9±276,1
47.	2549,5±286,0	2496,5±326,2	2545,4±326,4

Table 2. Body weight of broiler chickens during the experiment (average± SD, no significant difference was revealed)

age (day) (1); control (2); detoxified (3); average individual weight

3. táblázat

Átlagos egyedi takarmányfogyasztás a kísérlet egyes heteire illetve a teljes kísérleti időszakra vonatkoztatva (g/egyed/nap)

Kísérleti hét (1)	Kontroll (2)	Aflatoxin	Detoxifikált(3)
1.	142,8	117,7	127,5
2.	176,2	143,5	161,2
3.	109,2	127,1	131,3
Teljes időszak	142,7	127,1	140,0

Table 3. Average daily individual feed intake in the experimental groups calculated weekly and for the whole experimental period (g/bird/day)

experimental week (1); control (2); detoxified (3)

4. táblázat

A takarmányértékesítés alakulása a kísérleti időszakban (kg takarmány/kg súlygyarapodás)

Kísérleti hét (1)	Kontroll (2)	Aflatoxin	Detoxifikált (3)
1.	1,36	1,11	1,15
2.	2,02	1,83	2,01
3.	1,37	1,58	1,64
Teljes időszak	1,58	1,51	1,60

Table 4. Feed conversion ratio during the experimental period (kg feed intake/kg weight gain)

experimental week (1); control (2); detoxified (3)

aflatoxin jelenléte miatt ennél a csoportnál a takarmányfelvétel jelentős mértékben elmaradt a két másik csoportban mért értéktől.

A máj relatív tömege az AFB₁-el kontaminált takarmány etetésének hatására nagyobb volt, mint a másik két csoportban, amely eltérés a kontrollhoz viszonyítva a 40. és a 47. napi mintavétel alkalmával szignifikánsnak (p<0,05) bizonyult. Az eltérés a csoportok között az idő előrehaladtával kifejezettebbé vált (5. táblázat).

5. táblázat

**A máj és a mell relatív tömegének (g/100 g testtömeg) alakulása a kísérlet során
(átlag ± SD; n=6 / csoport)**

Életkor (nap) (1)	Kontroll (2)	Aflatoxin	Detoxifikált (3)
Relatív májtömeg (4)			
26.	2,85±0,47		
33.	1,98±0,18 ^a	1,90±0,06 ^a	2,02±0,18 ^a
40.	1,73±0,23 ^a	1,98±0,12 ^b	1,89±0,38 ^{ab}
47.	1,89±0,33 ^a	2,42±0,40 ^b	2,00±0,30 ^{ab}
Relatív mellfilé tömeg (5)			
26.	14,22±1,15		
33.	15,23±0,87	15,43±0,64	14,15±1,12
40.	15,02±0,88	16,10±1,12	14,23±1,91
47.	17,72±2,13	16,15±0,89	17,64±1,68

^{a,b} Azonos sorban eltérő betűjelölés szignifikáns különbséget jelent p<0,05 szinten

Table 5. Relative liver and breast filet weight (g/100 g body weight) in the groups during the experiment (mean ± SD; n=6 in each group)

age (day) (1); control (2); detoxified (3); relative weight of liver (4); relative weight of breast filet (5) ^{a,b} different superscripts in the same row mean significant difference at p<0.05 level

Ezzel szemben a mell relatív tömege mindhárom csoportban, minden mintavételi időpontban hasonlóan alakult, szignifikáns eltéréseket nem tapasztaltunk (5. táblázat).

A húsmínőség vizsgált paraméterei közül a mellizom pH értékében sem a vágás utáni 90. percben, sem 36 órás hűtött közegben való tárolást követően nem találtunk számottevő különbségeket a csoportok között (6. táblázat). Minden csoportban és minden mintavételi időpontban a jó minőségű húsról jellemző (*Qiao és mtsai, 2001; Van Laack és mtsai, 2000*) tartományba eső értékeket mértünk (pH: 5,6-6,1).

A mellizom vágás után közvetlenül, valamint 36 órás hűtve (4°C) tárolást követően a CIELab rendszerben elvégzett színmérésének eredményei alapján azt találtuk, hogy jelentős eltérések csak néhány esetben fordultak elő. A 33. életkori napon kizárólag a hűtve tárolás után találtunk szignifikáns eltérést (p<0,001). Eszerint a detoxifikált takarmányt fogyasztó csoport húsa számottevően sötétebb (L* érték) volt a kontrollhoz viszonyítva. Emellett a 47. napon találtunk még statisztikailag igazolható eltéréseket a hússzínben. Ekkor közvetlenül a vágás után a 33. napon tapasztaltakkal ellentétben a detoxifikált csoport húsa bizonyult a legvilágosabbnak, miközben az AFB₁-el kontaminált takarmányt fogyasztó csoport mellizmában a sárga szín (b*) szignifikánsan (p<0,05) kisebb intenzitású volt, mint a kontroll és a detoxifikált takarmányt fogyasztó egyedeké (7. táblázat).

A Lukács-féle értékelés alapján a vágást követő 90. percben a 33. és a 40. napon alig észrevehető, míg a 47. napon észrevehető (aflatoxin csoport), illetve jól észrevehető (detoxifikált csoport) volt a különbség a kontrollhoz viszonyítva.

6. táblázat

A mellizom átlagos pH-ja a kísérleti csoportokban 90 perccel vágás után illetve 36 óras hűtve (+4°C) tárolást követően

Életkor (nap) (1)	Kontroll (2)	Aflatoxin	Detoxifikált (3)
Vágás után 90 perccel (4)			
26.	5,65±0,21		
33.	5,60±0,90	5,58±0,04	5,57±0,12
40.	5,52±0,04	5,52±0,07	5,53±0,05
47.	6,07±0,24	6,13±0,24	6,16±0,17
36 óras hűtve tárolás után (5)			
26.	5,28±0,07		
33.	5,55±0,06	5,53±0,08	5,83±0,08
40.	5,68±0,04	5,69±0,10	5,55±0,16
47.	5,83±0,05	5,83±0,10	5,80±0,11

Table 6. pH of breast muscle in the experimental groups 90 minutes post mortem and after 36 hours cooling (+4°C) (n=6 in each group)(no significant difference was revealed)

age (day) (1); control (2); detoxified (3); 90 minutes post mortem (4); after 36 hours cooling (5)

A vágást követő 36. órában az aflatoxin csoportban mindhárom életkorban alig észrevehető, míg a detoxifikált csoportban a 33. napon észrevehető, azt követően pedig alig észrevehető különbségek voltak a hús színében (8. táblázat).

A hússzín változásait az életkor függvényében vizsgálva jellemzően minden csoportban hasonló eltéréseket tapasztaltunk. Ezek az eltérések leginkább a vágást követő 90. percben voltak jelentősek, a hűtve tárolás során enyhültek, eltűntek. Legjelentősebb eltéréseket az L* értékében találtunk. A kísérlet első két hetében világosabb, majd a kiindulási értékhez hasonlóan sötét lett a hús. Emellett a vörös szín intenzitása (a*) a kiindulási (26. napi) értékhez viszonyítva csoporton belül minden vizsgálati időpontban kisebbnek bizonyult ($p < 0,001$). Ezek a csoporton belüli változások, mind tendenciájukban, mind intenzitásban teljesen hasonló mintázatot mutattak az egyes csoportokban, ezért vélhetően sokkal inkább az életkorral semmint a kezelésekkkel állnak összefüggésben.

MEGBESZÉLÉS

Az AFB₁, már alacsony szennyezettségi szint esetében is rontja a baromfi termelési paramétereit (Dalvi, 1986), így már 40 µg/kg takarmány dózisonál is szignifikáns mértékben csökkenti a takarmányfelvételt, a súlygyarapodást és rontja a takarmányértékesítést (Liu és mtsai, 2018). Vizsgálatunk során ezt a megállapítást nagyobb (59,8 µg AFB₁/kg takarmány) dózisonál nem tudtuk megerősíteni, amelynek oka feltehetően az eltérő genotípus és tartási körülmények voltak. Az egyes baromfi genotípusok között ugyanis jelentős mértékű különbséget találtak az aflatoxin iránti érzékenység tekintetében (Ditta és mtsai, 2018). Emellett az eredmények eltérőek attól függően, hogy az állatok milyen életkorban, milyen időtartamban kapják a terhelést (Raju és Devegowda, 2000; Denli és mtsai, 2009; Zhao és mtsai., 2010;

7. táblázat

A mellizom színének változása a CIELab rendszerben mérve a kísérleti csoportokban (n=6/ csoport)

Mérés ideje (óra) (1)	Életkor (nap) (2)		Kontroll (3)	Aflatoxin	Detoxifikált (4)
0.	26.	L*	50,86±1,77		
		a*	14,75±0,71		
		b*	7,75±1,36		
	33.	L*	61,65±1,55	62,27±1,08	61,29±1,97
		a*	12,39±1,14	12,08±0,88	13,40±1,13
		b*	7,44±1,47	7,74±2,12	7,40±1,26
	40.	L*	62,26±1,73	62,37±1,86	63,12±2,00
		a*	12,42±1,06	11,97±0,70	12,15±0,69
		b*	7,12±1,04	8,24±0,9	7,24±0,88
	47.	L*	52,59±1,39 ^a	52,43±3,85 ^{ab}	56,34±1,15 ^b
		a*	12,19±0,80	12,80±1,48	12,44±0,91
		b*	8,03±2,17 ^a	5,55±1,05 ^b	7,58±1,33 ^a
36.	26.	L*	63,41±2,25		
		a*	10,78±1,96		
		b*	14,22±2,40		
	33.	L*	60,83±2,32 ^a	61,80±2,07 ^a	58,34±1,53 ^b
		a*	12,41±1,08	12,89±0,81	13,51±1,12
		b*	8,92±2,42	9,12±2,83	8,01±1,59
	40.	L*	61,85±1,64	60,94±1,60	61,43±1,63
		a*	13,29±1,29	12,72±0,61	13,31±0,67
		b*	7,73±1,41	8,79±0,92	8,26±0,76
	47.	L*	60,04±2,00	61,47±3,07	58,71±0,97
		a*	12,33±1,79	13,15±0,87	12,08±0,67
		b*	10,68±3,29	10,89±2,19	10,94±3,51

^{a,b} Azonos sorban eltérő betűjelölés szignifikáns különbséget jelent p<0,05 szinten

Table 7. Colour of breast muscle measured by the CIELab system in the experimental groups (n=6 in each group)

time of measurement (hour) (1); age (day) (2); control (3);detoxified (4); ^{a,b} different superscripts in the same row mean significant difference at p<0.05 level.

Liu és mtsai, 2018). A kórboncolás során már korán megállapítást nyert, hogy az AFB₁ toxikózisra a leginkább érzékeny szerv a máj (Bbosa és mtsai, 2013). A máj megnagyobbodását (Dalvi, 1986) és annak súlyos szövettani károsodását (Quezada és mtsai, 2000) baromfi fajokban is leírták. Ezt a hatást jelen vizsgálat is megerősítette, mert az AFB₁-el szennyezett takarmány etetésének hatására szignifikáns mértékben nőtt a máj relatív tömege. A mikrobiológiai detoxifikáció

**A mellizom színének szemmel látható eltérései a kontrollcsoporthoz viszonyítva
(n=6/csoport)**

0. óra (1)		
Életkor (nap) (2)	Aflatoxin	Detoxifikált (3)
33.	0,75	1,07
40.	1,22	0,91
47.	2,58	3,79
36. óra (1)		
33.	1,10	2,87
40.	1,51	0,68
47.	1,66	1,37

Table 8. Visual perception difference of breast muscle colour as compared to control (n=6 in each group)

hour (1); age (day) (2); detoxified (3)

ugyanakkor ezt a hatást kiküszöbölte, ami arra utal, hogy az általunk alkalmazott detoxifikációs módszer hatékonyan csökkentette az AFB₁ hatását. Az eredmény alapján feltehetően a *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 törzsszel végzett szilárd fermentáció nem csak a takarmány AFB₁ tartalmát csökkentette, de a folyamat során toxikus metabolitok sem keletkeztek.

A húskihozattal, így például a mell relatív tömegével kapcsolatban, a szakirodalomban csak az általunk alkalmazott AFB₁ dózisonál lényegesen nagyobb (500 µg/kg takarmány) szennyezettségi szintnél találtak szignifikáns mértékű csökkenést (Mota és mtsai, 2019). A jelen vizsgálat során alkalmazott dózisonál (58,9 µg/kg) a különbség csak tendencia jellegű volt. A húsmínőségi paraméterek közül a pH érték jelen vizsgálat során nem mutatott eltéréseket. Korábbi vizsgálatok eredményei szerint még nagy (500 µg/kg takarmány) AFB₁ terhelés esetén sem tért el szignifikáns mértékben a pH értéke a kontrollcsoporttól (Shabani és mtsai, 2016; Mota és mtsai, 2019). A hús színében a világosság (L*) a vágás után nagyobb volt a detoxifikált csoportban a kontrollhoz viszonyítva, de ez a különbség később eliminálódott. Egy korábbi vizsgálat során (Shabani és mtsai, 2016), ugyanakkor nagy AFB₁ terhelés (500 µg/kg takarmány) hatására mérsékelten 6,7%-kal megnövekedett világosság (L*) értéket találtak a kontrollhoz viszonyítva a vágást követően. A vörös színben (a*) nem volt eltérés, a sárgaságban (b*) azonban igen, amelyet az AFB₁ terhelés csökkentett, de a detoxifikáció ezt a hatást jelentősen mérsékelte. Hasonló eredményre jutottak nagy dózisú AFB₁ terhelésnél (500 µg/kg takarmány) is, ahol a CIELab rendszerben szintén a b* értéke csökkent jelentősen (Shabani és mtsai, 2016). A hús színében kimutatott eltérések főképp a közvetlenül vágást követően elvégzett színmérésnél voltak jelentősek, amelyek már szemmel is jól érzékelhetőek voltak a kontrollcsoporthoz viszonyítva úgy az AFB₁-el terhelt, mind a detoxifikált csoportban. Az aflatoxin koncentráció és a hússzín összefüggéseire vonatkozóan az irodalom meglehetősen hiányos. Mindeddig csak Shabani és mtsai (2016) vizsgálták és a hússzínben tapasztalt eltéréseket

az aflatoxin oxidatív hatásának tulajdonították. Kísérletünk eredményei alapján nem ítélték meg egyértelműen, hogy az általunk tapasztalt színbeli eltérések köthetők-e a hús oxidatív stabilitásának változásához, ill. ez utóbbi az aflatoxin jelenlétéhez, vagy detoxifikáláshoz.

KÖVETKEZTETÉSEK, JAVASLATOK

Az eredmények alapján megállapítható, hogy az EU határértéket ötszörösen meghaladó mennyiségű AFB₁ terhelés hatására a termelési paraméterek számottevően nem változnak, a toxin hatása csak a máj relatív tömegének növekedésében volt kimutatható. Ezt a hatást a *Rhodococcus pyridinivorans* AK37 törzssel végzett biológiai detoxifikáció hatékonyan csökkentette, ami azt bizonyította, hogy a takarmány AFB₁ tartalmának csökkenése hatással van az aflatoxin által előidézett májkárosodásra.

Bár az aflatoxin nyomokban megjelenhet a húsban is (*Pleadin*, 2021), baromfifélékben mindeddig nem mutatták ki takarmány eredetű toxinterhelés esetén. Ugyanakkor a hús egyes minőségi paramétereiben (szín, pH, víztartó-képesség) okozhat változást (*Shabani és mtsai*, 2016). Kísérletünkben is tapasztaltunk a hús színében változásokat, de az eredmények alapján ezek nem hozhatók szoros összefüggésbe a takarmány AFB₁ szennyezettségének mértékével, mert a kontrollhoz viszonyítva az AFB₁-el terhelt és detoxifikált csoportban egyaránt jelentkeztek. A hús színében kimutatott eltérések szemmel ugyan érzékelhetők voltak, de nem idéztek elő olyan mértékű és irányú változásokat, amelyek a baromfihús fogyasztói minőségét csökkentették volna.

Végezetül fontos kiemelni, hogy az általunk alkalmazott aflatoxin biodegradációs modell a toxin kedvezőtlen hatásainak csökkentése mellett nem változtatja meg számottevően az általunk vizsgált húsminőségi paramétereket, így sikeres lehet gyakorlati körülmények között is a takarmányok toxinmentesítésében a jövőben.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A publikáció elkészítését az NVKP_16-1-2016-0009 és az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projektek támogatták.

IRODALOMJEGYZÉK

- Ahmad, I. – Hussain, A. – Hussain, T. – Javed, I. - Kashif Saleemi, M. – Khan, A. - Raza Hameed, M. - Zargham Khan, M. - Najm-ul-Islam (2013): Aflatoxin residues in tissues of healthy and sick broiler birds at market age in Pakistan: a one year study. Pak. Vet. J., 33. 423-427.
- Alassane-Kpembé, I. - Schatzmayr, G. - Taranu, I. - Marin, D. - Puel, O. - Oswald, I. P. (2017): Mycotoxins co-contamination: Methodological aspects and biological relevance of combined toxicity studies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57. 3489-3507.
- András, Cs. D. – György, É. – Hantz, A. – Harai, É. – Tolokán, A. (2008): Mikotoxinogén penészgombák vizsgálata és az általuk termelt mikotoxinok analitikai kimutatása fűszerekből és takarmányokból. Orv. Tud. Ért., 81. 275-278.

- Avantaggiato, G. – Boudergue, C. – Boudra, H. – Burel, C. – Debongnie, P. – Dragacci, S. – Favrot, M.-C. – Fremy, J.-M. – Massimi, C. – Morgavi, D. – Oswald, I. – Perez, A. – Prigent, P. – Pussemmer, L. (2009): Review of mycotoxin-detoxifying agents used as feed additives: mode of action, efficacy and feed/food safety. Scientific Report, EFSA, CFP/EFSA/FEEDAP/01, 192.
- Bbosa, G. S. - Lubega, A. - Kyegombe, D. B. - Kitya, D. - Ogwal-Okeng, J. - Anokbonggo, W. W. (2013): Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems. In: Razzaghi-Abyaneh ed.: Aflatoxins. Recent advances and future prospects. Intech Open, Rijeka. DOI: 10.5772/51201
- Ciegler, A. - Peterson, R. E. (1966): Aflatoxin detoxification: Hydroxydihydro-Aflatoxin B1, Appl. Microbiol., 196. 665-666.
- Cserhádi, M. (2013): Mikotoxinok biodegradációjára képes mikroorganizmusok szelekciója és alkalmazása. Doktori (PhD) értekezés, SZIE, Gödöllő, 143.
- Dalvi, R. R. (1986): An overview of aflatoxicosis of poultry: Its characteristics, prevention and reduction. Vet. Res. Comm., 10. 429–443.
- Deák, T. – Kiskó, G. – Maráz, A. - Mohácsiné Farkas, Cs. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 92-93., 125-130.
- Deepak, M. B. - Jhanvi, S. P. (2015): Aflatoxin binding and detoxification by non-saccharomyces yeast a new vista for decontamination. International Journal of Current Microbiol-Appl. Sci., 4. 310–317.
- Denli, M. – Blandon, J. C. – Guynot, M. E. – Salado, S. – Pere, J. F. (2009): Effects of dietary AflaDetox on performance, serum biochemistry, histopathological changes, and aflatoxin residues in broilers exposed to aflatoxin B₁. Poultr. Sci., 8. 1444–1451.
- Ditta, Y. A. - Mahad, S. - Bacha, U. (2018): Aflatoxins: The toxic effect on poultry and recent advances in their treatment. In: Njobeh, P.B., Stepman, F. eds.: Mycotoxins – impact and management strategies. InTech, Rijeka, DOI: 10.5772/intechopen.80363
- Dobolyi, Cs. – Sebők, F. – Varga, J. – Kocsubé, S. – Szigeti, G. – Baranyi, N. – Kukolya, J. (2011). Occurrence of aflatoxin producing *Aspergillus flavus* isolates in maize kernel in Hungary. Acta Aliment., 42. 451–459.
- Fouad, A. M. - Ruan, D. - Kasem El-Senousey, H. A. - Chen, W. - Jiang, S. - Zheng, C. (2019): Harmful effects and control strategies of aflatoxin B1 produced by *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains on poultry: Review. Toxins, 11. 176. doi:10.3390/toxins11030176
- Guan, Y. - Chen, J. - Nepovimova, E. - Long, M. - Wu, W. - Kuca, K. (2021): Aflatoxin detoxification using microorganisms and enzymes. Toxins, 13. 46. doi.org/10.3390/toxins13010046
- Honikel, K. O. (1987): How to measure water-holding capacity of meat? Recommendation of standardized methods, In: Tarrant, P. V., Eikelenboom, G., Monin, G. eds.: Evaluation and control of meat quality in pigs. Seminar in CEC Agricultural Research Program, Dublin, 129-142.
- Hormisch, D. - Brost, I. - Kohring, G. W. - Giffhorn, F. - Krippenstedt, R. M. - Stackebrandt, E. - Farber, P. - Holtzapfel, W. H. (2004): *Mycobacterium fluoranthenorans* sp. nov., a fluoranthene and aflatoxin-B1 degrading bacterium from contaminated soil of a former coal gas plant. Syst. Appl. Microbiol. 27, 553–660. p.
- IARC (2002): IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naphthalene and styrene. International Agency for Research on Cancer, Lyon, 301-366.
- Khayoon, W. S. - Saad, B. - Yan, C. B. - Hashim, N. H. - Ali, A. S. M. - Salleh, M. I. - Salleh, B. (2010): Determination of aflatoxins in animal feeds by HPLC with multifunctional column clean-up. Food Chem., 118. 882–886.
- Kumar, P. - Mahato, D. K. - Kamle, M. - Mohanta, T. K. - Kang, S. G. (2017): Aflatoxins: A global concern for food safety, human health and their management. Front. Microbiol., 7. 2170. doi:10.3389/fmicb.2016.02170

- Ledoux, D. R. - Rottinghaus, G. E. - Bermudez, A. J. - Alonso-Debolt, M. (1999): Efficacy of hydrated sodium calcium aluminosilicate to ameliorate the toxic effects of aflatoxin in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 78. 204–210.
- Liu, N. - Wang, J. Q. - Jia, S. C. - Chen, Y. K. - Wang, J. P. (2018): Effect of yeast cell wall on the growth performance and gut health of broilers challenged with aflatoxin B1 and necrotic enteritis. *Poult. Sci.*, 97. 477–484.
- Loi, M. - De Leonardis, S. - Ciasca, B. - Paciolla, C. - Mulè, G. - Haidukowski, M. (2023): Aflatoxin B1 degradation by ery4 laccase: From in vitro to contaminated corn. *Toxins*, 15. 310.
- Lukács, Gy. (1982): Színmérés. Műszaki Kiadó, Budapest, 341.
- Mann, R. - Rehm, H. J. (1977): Degradation of aflatoxin-B1 by various microorganisms. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 163. 39–43.
- Mézes, M. - Balogh, K. - Tóth, K. (2010): Preventive and therapeutic methods against the toxic effects of mycotoxins – a review. *Acta Vet. Hung.*, 58. 1–17.
- Mota, M. M. - Hermes, R. G. - Araújo, C. S. S. - Pereira, A. S. C. - Ultimi, N. B. P. - Leite, B. G. S. - Araújo, L. F. (2019): Effects on meat quality and black bone incidence of elevated dietary vitamin levels in broiler diets challenged with aflatoxin. *Animal*, 13. 2932–2938.
- Quezada, T. - Cuéllar, H. - Jaramillo-Juárez, F. - Valdivia, A. G. - Reyes, J. L. (2000): Effects of aflatoxin B1 on the liver and kidney of broiler chickens during development. *Comp. Biochem. Phys. Part C*, 125. 265–272.
- Rushing, B. R. - Selim, M. I. (2019): Aflatoxin B1: A review on metabolism, toxicity, occurrence in food, occupational exposure, and detoxification methods. *Food Chem. Toxicol.*, 124. 81–100.
- Pascale, M. - Logrieco, A. F. - Graeber, M. - Hirschberger, M. - Reichel, M. - Lippolis, V. - De Girolamo, A. - Lattanzio, V. T. M. - Slettengren, K. (2020): Aflatoxin reduction in maize by industrial-scale cleaning solutions. *Toxins*, 12. 331. DOI: 10.3390/toxins12050331
- Qiao, M. - Fletcher, D. L. - Smith, D. P. - Northcutt, J. K. (2001): The effect of broiler breast meat color on pH, moisture, water-holding capacity, and emulsification capacity. *Poult. Sci.*, 80. 676–680.
- Pleadin, J. - Lešić, T. - Miličević, D. - Markov, K. - Šarkanj, B. - Vahčić, N. - Kmetič, I. - Zdravec, M. (2021): Pathways of mycotoxin occurrence in meat products: A Review. *Processes* 9, 2122. <https://doi.org/10.3390/pr9122122>
- Raju, M. V. L. N. - Devegowda, G. (2000): Influence of esterified-glucomannan on performance and organ morphology, serum biochemistry and haematology in broilers exposed to individual and combined mycotoxicosis (aflatoxin, ochratoxin and T-2 toxin) *Br. Poult. Sci.* 41., 640–650. doi: 10.1080/713654986.
- Rawal, S. - Kim, J. E. - Coulombe, R. (2010): Aflatoxin B1 in poultry: toxicology, metabolism and prevention. *Res. Vet. Sci.*, 89. 325–331.
- Risa, A. - Krifaton, Cs. - Kukolya, J. - Kriszt, B. - Cserhádi, M. - Táncsics, A. (2018): Aflatoxin B1 and zearalenone-detoxifying profile of *Rhodococcus* type strains. *Curr. Microbiol.*, 75. 907–917.
- Shabani, A. - Dastar, B. - Hassani, S. - Khomeiri, M. - Shabanpour, B. (2016): Decreasing the effects of aflatoxins on color and oxidative stability of broiler meats using nanozeolite. *J. Agr. Sci. Tech.*, 18. 109–121.
- Tóth, B. - Varga, J. (2005): Novel strategies to control mycotoxins in feeds. A review. *Acta Vet. Hung.*, 53. 189–203.
- Van Laack, R. L. J. M. - Liu, C. H. - Smith, M. O. - Loveday, H. D. (2000): Characteristics of pale, soft, exudative broiler breast meat. *Poult. Sci.*, 79. 1057–1061.
- Zhao, J. - Shirley, R. B. - Dibner, J. D. - Uraizee, F. - Officer, M. - Kitchell, M. - Vazquez-Anon, M. - Knight, C. D. (2010): Comparison of hydrated sodium calcium aluminosilicate and yeast cell wall on counteracting aflatoxicosis in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 89. 2147–2156.

Szerzők címe: Erdélyi M. – Kulcsár R. – Ancsin Zs. – Mézes M.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus
Takarmánybiztonsági Tanszék

Authors' address: Hungarian University of Agriculture and Life Science, Szent István
Campus, Department of Feed Safety
H-2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.
Ballane.Erdelyi.Marta@uni-mate.hu

Cserhádi M.

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus
Molekuláris Ökológia Tanszék
Hungarian University of Agriculture and Life Science, Szent István
Campus, Department of Molecular Ecology, Gödöllő

Szabó I. – Kriszt B.

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Szent István Campus
Környezetbiztonsági Tanszék
Hungarian University of Agriculture and Life Science, Szent István
Campus, Department of Environmental Safety, Gödöllő

Kukolya J.

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Budai Campus
Élelmiszer-biotechnológiai Kutatócsoport
Hungarian University of Agriculture and Life Science, Buda Campus,
Food Biotechnology Research Group, Budapest

Köszönjük az alább felsorolt kollegáinknak, hogy a 2023-ban megjelent kéziratok lelkiismeretes bírálatával hozzájárultak folyóiratunk tudományos színvonalának megőrzéséhez:

Anton István, Balogh Krisztián, Benk Ákos, Bodrogi Lilla, Cseh Sándor, Gáspárdy András, Halas Veronika, Horváth Ákos, Jakabné Sándor Zsuzsanna, Kusza Szilvia, Mézes Miklós, Nagy Szabolcs Tamás, Pajor Ferenc, Pál László, Somoskői Bence, Szabó Ferenc, Szabó Rubina, Szalai Zita, Végi Barbara, Zajác Edit, Zsédely Eszter

A MARHAHÚS-ELŐÁLLÍTÁS ÖKOLÓGIAI HATÁSA A VÍZ-FELHASZNÁLÁS TÜKRÉBEN A HÚSMARHAÁGAZATBAN

PÓTI PÉTER – KOSZTOLÁNYINÉ SZENTLÉLEKI ANDREA – VERTSÉNÉ ZÁNDOKI RITA –
PAJOR FERENC – BORKA GYÖRGY

ÖSSZEFOGLALÁS

Az elmúlt évtizedekben számos közlemény jelent meg a marhahústermelés fenntarthatóságát illetően. Több szerző egymástól nagyon eltérő adatokat közölt a marhahús-előállítás vízlábnomát illetően: az adatok 25 l/kg és 200.000 l/kg marhahús között változnak. A nagy eltérések főként a becslési módszerek különbözőségéből adódnak. Általában két fő számítási módot alkalmaznak a vízfogyasztás becslésére: a virtuális vízfogyasztás meghatározását, illetve az életciklus alapú vízfogyasztás értékelést; az egyes módszerek esetén más-más típusú víz felhasználásával számolnak. Nem mindegy, hogy a zöld- (esővíz), kék- (mesterségesen, a globális vízkészletből, a felszín alatti és fölötti forrásokból csatornázott víz) vagy szürkevíz (a keletkezett szennyezett vízmennyiség) közül melyeknek a fogyasztását veszik figyelembe a becslés során. Az is nagyon fontos, hogy meddig követik a termék útját: sok kutatás addig számol, amíg az állat elhagyja a gazdaságot, néhány modell azonban követi azok további útját a fogyasztókhoz. Vannak olyan modellek is, amelyek a becslés során figyelembe veszik azt is, hogy a felhasznált víz egy része vissza is kerül ott helyben a gazdaság vízforgalmába. A szarvasmarha vízfelvétele az ivóvízből és az elfogyasztott takarmány víztartalmából tevődik össze. Vízvesztésük légzés, izzadás, vizelet- és bélsárürítés, valamint tejtermelés révén történik. A különböző vízfelvétel és vízleadás típusok nyilván több külső tényezőtől is függenek (pl. takarmány összetétele, környezeti hőmérséklet, relatív páratartalom, légmozgás, sugárzási viszonyok). A vízfelhasználás mérséklése történhet az öntözés (a hatékonyságot növelő, új technológiai megoldások alkalmazása), illetve – kisebb mértékben – az elfogyasztott ivóvíz mennyiségének csökkentésével. Szóba jöhet rövidebb tenyészidejű, illetve szárazságtűrő takarmánynövény fajok és fajták használata. Forró éghajlatú területeken hatékony lehet az árnyékolás, a hőstressz járó többlet vízfelvétel mérséklésére. A takarmányhasznosító képesség javításával szintén alacsonyabb lesz az 1 kg marhahúsra vetített vízfelvétel is. Fontos azonban a probléma több oldalról történő vizsgálata: kevésbé hangoztatott tény, hogy a húsmarhák legeltetési tartása segíti a gyepterületek, a tájkép megőrzését, a biológiai sokféleség fenntartását, a természet- és tájvédelmi területek kezelését, valamint jelentős szerepet tölt be a légkör szén-dioxid tartalmának megkötésében. Figyelembe kell venni az eltérő körülmények között zajló termelési módok változatosságát: ami egy régióban szinte tökéletesen fenntartható rendszerként működhet, az egy más adottságú területen nem biztos, hogy eredményes.

SUMMARY

Póti, P. – Kosztolányiné, Sz. A. – Vertséné, Z. R. – Pajor, F. – Borka, Gy.: ECOLOGICAL FOOTPRINT OF BEEF PRODUCTION IN THE LIGHT OF WATER USAGE

In the last decades numerous researches have been published concerning the sustainability of beef production. Very different results have been calculated for the water footprint of beef, the published data range between 25 L/kg and 200.000 L/kg beef. The sources of the large variation are mainly the differences between the methods of estimation. The two main types of estimation models are the virtual water use and the life cycle based water use which calculate with different types of water usage. It is very important to know what kinds of water uses are involved in the estimation: green (precipitation), blue (lakes, rivers, reservoirs, can be pumped artificially from below surface) or grey (polluted water). It also matters how long the way of the product is followed: many researches count water use until the animal leaves the farm; however some models follow its way to the consumers. Some estimations also regard that a part of the used water returns back to the water cycle of the farm. Water intake of cattle consists of drinking water and water content of feedstuff. Water loss includes

respiration, sweating, urine and faeces excretion and milk production. The amount of different types of water intake and output is obviously affected by several external factors (e.g. feedstuff composition, environmental temperature, relative humidity, wind speed, radiation). Water use can be decreased with reduction of irrigation (e.g. applying new, more efficient technologies) and drinking water (e.g. decreasing heat stress by providing shelter under hot circumstances). Fodder plants with shorter breeding season or higher draught tolerance are also available. Selection for better feed conversion rate also results in less water usage per kg beef. However, it is important to evaluate the problem from more sides: it is a less emphasized fact that pasturing of beef cattle helps grassland and landscape preservation, maintaining biological diversity, handling of natural conservation areas and fixation of carbon dioxide from air. Diversity of production methods under different circumstances also has to be regarded: what is totally sustainable in a certain region, may be unsuccessful in another one.

BEVEZETÉS

A húsfogyasztás ellen „szemléletformáló” kampány zajlik; a médiában és a szakirodalom egy részében egyre több, a hústermelés fenntarthatatlanságáról szóló tudósítás jelenik meg (*Chikán, 2018; Lynch és mtsai, 2021; Mancini és Antonioni, 2021; Pradeepika és mtsai, 2021*). *Eshel és mtsai (2014)*, illetve *Lynch és mtsai (2021)* közlése szerint a marhahús előállítása csaknem tízszeres környezeti terheléssel jár más húshoz képest: a húsmarhatartás termőföld- és vízigénye többszöröse a sertéshús, a baromfihús, az étkezési tojás-, valamint a tejtermelés esetén felmerülő termőföld- és vízigénynek. *Eshel és mtsai (2014)* úgy vélik, a környezeti terhelés költségeinek meg kell jelennie a marhahús árában. Mindezek közrejátszanak abban, hogy az elmúlt években világszerte folyamatosan nő a húsfogyasztást elítélő, vegetáriánus étrendet, illetve növényi eredetű ételekben gazdag, de húsban szegény étrendet követő emberek száma. Ezért a kutatók egyre komolyabb erőfeszítéseket tesznek húsalternatívák kifejlesztésére különböző természetű növényekből, valamint algákból és rovarokból, illetve laboratóriumi körülmények között is próbálnak műhúst (izomszövetet) előállítani (*Thompson, 2014; Joshi és Kumar, 2015; Bonny és mtsai, 2017; Chikán, 2018; He és mtsai, 2021; Pradeepika és mtsai, 2021*).

Úgy véljük, nem elég felmérni azt, hogy egy kg marhahús előállítása mekkora termőföldterületet és mennyi erőforrást – beleértve a vizet is – igényel; azt is meg kell vizsgálni, hogy egységnyi hús táplálóanyagával egyenértékű növényi eredetű élelmiszer előállításához ehhez képest mekkora termőföldterületre és mennyi erőforrásra van szükség. Az állattenyésztést és az állatiternék-előállítást övező tévhitek eloszlátása céljából, meghatározó európai szakmai és érdekvédelmi szervezetek, Meatthefacts címmel felvilágosító kampányt indítottak.

Dolgozatunk célkitűzése, a szakirodalom alapján, rövid áttekintést adni a húsmarhaágazat vízlábnyomáról, illetve hangsúlyozni a húsmarhatartással összefüggő környezeti terhelés mellett a húsmarhatartás egyéb, adott esetben pozitív környezeti hatásainak mérlegelését is.

A marhahús-előállítás vízszükségletének meghatározása

A marhahús előállításának vízigénye, hasonlóan a legtöbb mezőgazdasági élelmiszer-alapanyaghoz, jelentős. Az 1 kg marhahús előállításához szükséges vízmennyiségre vonatkozóan nagyon eltérő eredményeket (a nyilvánvalóan

problematikus szélső értékek: 25 l, illetve 200.000 l) közölnek a szerzők (*Pimentel és mtsai, 1997; Chapagain és Hoekstra, 2003; Hoekstra és Chapagain, 2006; Mekonnen és Hoekstra, 2010; Peters és mtsai, 2010; Ridoutt és mtsai, 2012; Menendez és mtsai, 2019*). A számítások közötti eredménykülönbségek főként módszertani különbségekből adódnak; elsősorban abból, hogy milyen típusú vízfelhasználásokat vesznek figyelembe.

Vízlábnyom, virtuális vízfelhasználás

Hoekstra és Chapagain (2010) úgy vélik, a vízlábnyom fogalma alkalmas az állati termékek fogyasztása és a globális vízkészletek felhasználása közötti kapcsolat értékeléséhez. Definíciójuk szerint a „vízlábnyom az édesvíz teljes mennyisége, amelyet az elfogyasztott áruk és az igénybe vett szolgáltatások előállítására használnak fel”. A vízlábnyom-bebecslések a virtuális víz fogalmára épülnek, amely minden vizet magába foglal, amely a termelés során felhasználásra kerül (*Allan, 2003*). A hústermékek esetében ez, az állatok ivóvizén túl, magában foglalja a farmok, a vágóhidak és a gyárak tisztításához szükséges vízmennyiséget, valamint a legelők és takarmánytermő területek öntözése és a növényi evaporáció révén felhasznált vízmennyiséget is. Ezek közül a takarmányként elfogyasztott növények természetéhez szükséges víz adja a legnagyobb részt (98-99%) (*Allan, 2003; Doreau és mtsai, 2012*). Az 1 kg marhahús előállításához szükséges 100 ezer literesre becsült vízszükségleti értékek azt feltételezik, hogy a legelőkre hullott esővíz minden egyes cseppje (teljes mennyisége) a húsmarhák, illetve húshasznú tehének szervezetébe kerül. Az esővíz nagy része azonban visszakerül az ökoszisztémába, a felszíni és felszín alatti vizeket táplálja, a talaj vízkészletét növeli, valamint a növények hasznosítják. A korábbi virtuális vízfelhasználás-bebecslések nem különböztetik meg a termelés során felhasznált víz típusait, hanem egyben értékelik a földben nedvességként tárolt esővizet, a felszín alatti és fölötti forrásokból mesterségesen csatornázott vizeket. *Doreau és mtsai (2012)* megállapítják, hogy amennyiben a *Pimentel és mtsai (1997)* által közölt 200 000 l/kg marhahús vízfelhasználási értéket vennénk figyelembe (a számítás extenzív tartás- és takarmányozási módra vonatkozóan történt, a szerzők azonban nem közlik a számítás részletes metodikáját), akkor az évi 60 millió tonna marhahús termeléséhez szükséges vízmennyiség nagyobb volna, mint a Föld egész vízkészlete!

A globális vízciklus nagyon összetett. Az egyik helyen elpárolgott víz általában egy másik területen csapadék formájában visszatér a földfelszínre. A szárazföldi területeken, globálisan nézve, a csapadék 70%-kal túllépi az evapotranszspirációt. Az óceánok esetén azonban a párolgás nagyobb, mint a csapadék mennyisége. A víz egy része – például az állatok által elfogyasztott ivóvíz egy része – ürülék vagy bélsár és vizelet formájában, illetve a talajba szivárgás útján a gazdaságban marad. A maradék az eladott állatokkal, illetve termékeikkel, elhagyja a gazdaság területét. Az öntöző-, illetve csapadékvíz, amelyet a növények a talajból felvesznek, majd a légzés útján leadnak, az atmoszférán keresztül más helyre kerül, de végül a földfelszínre tér vissza (*Doreau és mtsai, 2012*). A vízhiány elsősorban nem attól függ, hogy milyen mennyiségű víz távozik az adott területről. Az evapotranszspiráció, amely a fő vízvesztési forrás, pozitívan függ össze a csapadékmennyiséggel. A csökkent növényi légzés csökkent fotoszintézissel és biomassza termeléssel

jár. A nem öntözött, természetett takarmányok tehát nincsenek jelentős hatással a vízhiányra (Peters és mtsai, 2010).

A korábbi vizsgálatok során a számításokhoz nem a tényleges növényi vízhasználatot, hanem a potenciális vízhasználatot használták fel, következésképpen a virtuális vízfogyasztás korábbi metodika szerinti meghatározása nem ad elég információt ahhoz, hogy fenntarthatósági döntéseket lehessen rá alapozni (Doreau és mtsai, 2012; Gerbens-Leenes és mtsai, 2013). Mekonnen és Hoekstra (2010) mindazonáltal a virtuális vízfelhasználás meghatározásának metodikáját jelentősen javították: a takarmánynövények zöldvíz-, kékvíz- és szürkevízlábnymát egy, a tényleges növényi vízhasználatot meghatározó modell segítségével becsülték. Tanulmányukban továbbá – ellentétben számos korábbi közleménnyel – kifejezetten különbséget tettek a zöldvíz- és a kékvízlábnym komponens között, és figyelembe vették a szürkevízlábnym komponensét is. Definíció szerint a zöldvízlábnym az esővízfogyasztás, a kékvízlábnym a mesterségesen, a globális vízkészletből, a felszín alatti és fölötti forrásokból csatornázott vizek fogyasztása, a szürkevízlábnym pedig a keletkezett és felhasznált szennyezett vízmennyiség (Falkenmark, 2003; Doreau és mtsai, 2012; Szita, 2018). Ennek ismeretében, nem mindegy, hogy egy termék előállítása során melyik típusú vízből mennyi kerül felhasználásra.

Életciklus-értékelés (LCA, Life Cycle Assessment)

Az egyes termékek előállításához kapcsolódó környezeti hatások, így többek között a vízhasználat becslésére az utóbbi években egyre gyakrabban használják az életciklus-értékelést (*International Organization for Standardization*, 2006; Doreau és mtsai, 2012; Sala és Goralczyk, 2013). Az életciklus-értékelés nemzetközileg szabványosított megközelítés az áruk/szolgáltatások környezeti hatásainak felmérésére a nyersanyag-termeléstől a termék-előállításán át, egyes felfogások szerint a termék felhasználásáig, illetve ártalmatlanításáig. Az állattenyésztés vízfelhasználására vonatkozó életciklus alapú számítási modellek mindegyike beszámítja az öntözésre, itatásra, takarításra felhasznált vízmennyiséget, és figyelembe veszi a terület éghajlati, ökológiai adottságait is. Vannak olyan modellek is, amelyek a becslés során figyelembe veszik azt is, hogy a felhasznált víz egy része vissza is kerül ott helyben a gazdaság vízforgalmába (pl. bélsár és vizelet formájában). Doreau és mtsai (2012) mindazonáltal megállapítják, hogy az állattenyésztés vízhasználatának értékelésére kidolgozott számos LCA-metodika kisebb-nagyobb mértékben különbözik egymástól, a metodikai fejlesztések bizonyos mértékű összehangolása ellenére a modellek között fennállnak módszertani különbségek. A legtöbb mezőgazdasági témájú LCA-becslés elsősorban a kékvízfelhasználásra koncentrálnak, és kevés kivétellel a mezőgazdasági üzem kapujáig számolnak.

A marhahús-előállítás vízlábnyma a húsmarha-ágazatban

Egy korábbi tanulmány (Chapagain és Hoekstra, 2003) arra jutott, hogy 1 kg marhahús megtermeléséhez szükséges, a vágott testre számított virtuális vízmennyiség 8.000 l és 21.000 l között változik (világátlag 14.516 l). Hoekstra és Chapagain (2006) tanulmánya szerint globális átlagban 15.300 l vízfelhasználás történik 1 kg marhahús előállítására érdekében.

Mekonnen és Hoekstra (2010) továbbfejlesztett vízlábnyom-metodikával végzett számításai szerint a húsmarha ágazatban előállított marhahús vízlábnyoma globális átlagban 14.410 l/kg zöldvíz, 550 l/kg kékvíz-, és 451 l/kg szürkevíz.

Világszinten a mezőgazdaság a kékvízhasználat 70%-áért, a kékvíz- és zöldvízhasználat 86%-áért felelős. *Mekonnen és Hoekstra* (2010) közlése alapján az állattenyésztésre a mezőgazdaság teljes (virtuális) vízfelhasználásának 29%-a esik, ennek egyharmadát használja fel a húsmarhaágazat. Az 1 kg marhahús előállítására felhasznált kékvíz és szürkevíz a termelés módjától és intenzitásától függően a teljes vízlábnyom 2-7%-át, illetve 1-7%-át teszi ki.

Többen felhívják a figyelmet arra, hogy a helyi adottságok (például legelőn vagy iparszerűen tartott állomány, ökológiai adottságok, felhasznált takarmánytípusok) figyelembevétele elengedhetetlen a korrekt számítások elvégzéséhez. *Mekonnen és Hoekstra* (2010) számításaikban három, húsmarhatartással összefüggő, termelési módot különböztetnek meg: legeltetési, vegyes és intenzív/iparszerű rendszert. Amennyiben a legeltetési rendszer teljes vízlábnyomát tekintjük 100%-nak, számításaik alapján a vegyes rendszer 28%-kal, az iparszerű/intenzív rendszer 53%-kal kevesebb virtuális vizet használ fel: ez elsősorban a zöldvízlábnyom csökkenésére vezethető vissza. A vegyes és az intenzív/iparszerű rendszerben a kékvízfelhasználás 9%-kal, illetve 47%-kal magasabb, mint legeltetés esetén.

A termelés módjai és körülményei nyilvánvalóan függenek a régiós adottságoktól. Az, ami egy régióban szinte tökéletesen fenntartható rendszernek tekinthető, az egy másik területen már kevésbé működik (például egy mérsékelt száraz éghajlatú területen teljesen máshogyan épül fel egy fenntartható rendszer, mint a szubtrópusi klímaövezetben) (*Doreau és mtsai, 2012; Menendez és mtsai, 2019*). *Menendez és mtsai* (2019) az általuk fejlesztett matematikai becslő modellel a texasi húsmarha-állományokra vonatkozóan 71-73%-kal alacsonyabb vízfelhasználást számítottak, mint amennyi az USA-állomány átlagos (becsült) vízfelhasználási értéke.

A marhahús-előállítás vízigényének számításakor felmerülhet még aggályként, hogy nem mindig kizárólag a húsmarhával történő marhahústermelést veszik alapul, mivel a marhahús jelentős része számos országban a tejelő ágazatból kerül ki. Ebben az esetben viszont a vízfogyasztás jó része, a laktáció során, a tejtermelésre fordítódik (*Doreau és mtsai, 2012*), amit általában szintén nem vesznek figyelembe.

A szarvasmarha vízfogyasztása

A legeltetés sikere, a legelő szarvasmarhák zavartalan fejlődésének és termelésének fontos előfeltétele a folyamatos és egészséges ivóvízellátás. Szélsőségesen meleg időjárási viszonyok között ennek különösen nagy a jelentősége (*Wagner és Engle, 2021*).

Az ivóvíz a termelés egyik alapfeltétele, legalább olyan fontos, mint a takarmány. A víz az ásványi és szerves sók oldószere, amelyekkel oldatokat vagy szuszpenziókat képez, s ezeket a vér eljuttatja az egész szervezetbe. A víz a szervezetben lezajló lebontó folyamatokból származó anyagoknak is oldószere, amelyeket a véredények útján a szervekbe szállít. Hővezető képességénél fogva az állati szervezet hőszabályzója is, segít a hőfőlösleg elszállításában és eltá-

volításában, az izzadás és a légzés útján. A víz közrejátszik számos hidrolízises vegyi folyamatban, amely a táplálóanyagok emésztését segíti elő az oxidációs és redukciós folyamatokban és a sejtlégzésben. Közvetlenül részt vesz továbbá a tej és más állati eredetű termékek képződésében. A víz segítségével ürül ki a szervezetből a disszimilációs termékek jó része, valamint a szervezetbe kerülő vagy ott termelődött toxinok is (Petersen és mtsai, 2016; Wagner és Engle, 2021).

Az állatok vízszükségletük nagyobb részét az ivóvízzel, kisebb részét pedig a takarmányokban lévő vízzel fedezik (Steffler, 2007; Wagner és Engle, 2021). Az állatok a vízfogyasztás korlátozását nehezebben viselik el, mint a takarmányét. Ismeretes, hogy a szomjazó állat teljesítménye romlik; amennyiben szervezete víztartalmának 10%-át elveszíti, megbetegszik, ha 20%-át veszíti el, akkor elpusztul.

A szarvasmarháknak a nagy mennyiségű tömegtakarmány felvételéhez jó étvágyra van szükségük, ehhez pedig elengedhetetlen a megfelelő mennyiségű és minőségű ivóvíz. A jó ivóvíz hőfoka 8-15 °C, színtelen, szagtalan, nem zavaros, kellemes ízű, valamint nem tartalmaz egészségre káros szerves és szervetlen anyagokat, valamint fertőző kórokozókat (tüdő-, gyomor- és bélférgességet, orsóférgességet, májmételet okozó parazitákat, patogén (pl. *E. coli*) baktériumokat) (Morgan, 2011; Wagner és Engle, 2021).

Egy kifejlett szarvasmarha minimális napi vízigénye 50-70 liter, a növendék marháké 20-25 liter, egyes közlések szerint 30-40 liter is lehet, míg a borjaké 10-20 liter, azonban a vízszükségletüket számos tényező befolyásolja (Steffler, 2007; Wagner és Engle, 2021). Az is köztudott, hogy a szarvasmarha naponta 2-6 alkalommal iszik (Wagner és Engle, 2021).

Az 500 kg-os állategységre vonatkoztatott napi szükséges vízmennyiség 55 liter, amit 43 kg átlagos víztartalmú zöldtakarmány etetésével – vegetációs vízzel (27-30 liter) –, továbbá 25-28 liter ivóvízzel lehet biztosítani. Legelő állomány esetében a gyepnövényzetten – különösen a hajnali órákban – található felületi víz (harmat) is jelentősen hozzájárul az állatok vízszükségletének kielégítéséhez (Steffler, 2007; Wagner és Engle, 2021).

A szarvasmarha 1 kg szárazanyagra számítva 4-6 liter vizet fogyaszt (Steffler, 2007; Morgan, 2011; Doreau és mtsai, 2012; Wagner és Engle, 2021), de ez trópusi körülmények között akár 50%-kal is több lehet (Doreau és mtsai, 2012). A táplálóanyagok átalakulásakor a szervezetben is keletkezik kisebb mennyiségű víz (anyagcserevíz), ez azonban igen kismértékben játszik szerepet az állatok vízigényének fedezésében.

Az állat szomjúságérzete függ a szájüreg-nyálkahártya érsűrűségétől, a bélsárral, vizelettel, légzéssel, izzadással, tejtermeléssel veszített folyadékmennyiségtől, amelyeket természetesen nagyban befolyásol a takarmány minősége, nedvességtartalma (Wagner és Engle, 2021).

A szarvasmarha vízszükségletét befolyásolja az állat életkora, a testsúlya, a termelés színvonala, a biológiai és egészségi állapota, továbbá a környezeti tényezők (hőmérséklet, relatív páratartalom, légmozgás, sugárzási viszonyok), a legelőfű mennyisége és szárazanyag-tartalma, valamint az elhelyezés módja is (pl. egyedsűrűség) (Rouda és mtsai, 1994; Steffler, 2007; Halász és Nagy, 2012; Wagner és Engle, 2021).

A szarvasmarha vízvesztése

A szarvasmarha vizelettel, bélsárral, légzéssel, izzadással és a laktáció időszakában a tejtermeléssel veszíthet sok vizet (Howard és mtsai, 2020; Wagner és Engle, 2021).

Légzés és izzadás

A testfelületen keresztül történő vízvesztés függ az állatok testméretétől és az abiotikus tényezőktől (pl. hőmérséklet, relatív páratartalom, légmozgás, sugárzási viszonyok) (Howard és mtsai, 2020).

Hőstressz esetén a szarvasmarhák szervezete különböző hőleadó mechanizmusokat aktivál, ami számos élettani és viselkedésbeli reakció megváltozásában jut kifejezésre, többek között a fokozott izzadás, valamint a magas légzésszám és zihálás révén (Finch és mtsai, 1982; Hansen, 2004; Islam, 2021). Szarvasmarhák esetében 60-80 percenkénti légzésszám már a hőstressz jele. Nagyon meleg időjárás esetén 150-nél is nagyobb percenkénti légzésszám figyelhető meg náluk, bár a határértékek a genotípustól és az egyéni variabilitástól függően is változnak (Brown-Brandl és mtsai, 2006).

A hőstresszre adott fokozott izzadás és légzésszám *Bos indicus* szarvasmarhák esetében 8 °C-kal magasabb hőmérsékleten jelenik meg, mint *Bos taurus* szarvasmarhák esetében, ami arra utal, hogy a *Bos indicus* marháknak jobb a hőtűrő képessége (Blackshaw és Blackshaw, 1994). Da Silva és mtsai (2012) arról számolnak be, hogy tehének esetében, a bőrön keresztüli és a légzés általi párolgásos hőleadás magasabb a félszáraz éghajlatú területen (117,2 W/m²), mint a szubtrópusi régióban (44,0 W/m²). A szarvasmarhák szőrszíne is jelentős befolyást gyakorol a párolgásos hőleadás mértékére (da Silva és mtsai, 2012), ezáltal a hőstresszt kivédő képességükre (Brown-Brandl és mtsai, 2006). Da Silva és mtsai (2012) kimutatták, hogy a félszáraz éghajlatú régióban, a sötét színű tehének esetében magasabb volt a szőrrel fedett testfelszín hőmérséklete (41,7 °C) és a bőrön keresztüli párolgásos hőleadás értéke is (117,2 W/m²), mint a világos színű egyedek esetében (37,2 °C és 106,7 W/m²).

Több vizsgálatban megállapították, hogy hőstressz esetén a tehének a szokásosnál sűrűbben keresik fel az itatót és több vizet isznak, hogy ellensúlyozzák a párolgásos vízvesztésüket (Brown-Brandl és mtsai, 2006, Bak és Pazsiczki, 2008). A tehének fokozott izzadását – a magas hőmérsékleten kívül – előidézhetheti stressz, betegség, rossz minőségű takarmány vagy mérgezés is.

Tejtermelés

A húshasznú tehének (anyatehének) napi tejtermelése a szoptatás időszak alatt, (fajtától, laktáció számától és szakaszától, életkortól és takarmányozástól függően) átlagosan 5-6 liter (legkisebb tejtermelés alig 3 liter, míg a legnagyobbak 10 liter feletti) (Wagenhoffer, 2001), amelynek legnagyobb része (87,3-87,5%-a) víz, leszámítva a főcstejes időszakot, amikor nagyobb a tej szárazanyagtartalma. Az 1. táblázat néhány húsmarhafajta átlagos laktációs tejtermelését mutatja be.

1. táblázat

Néhány húshasznú tehén átlagos laktációs tejtermelése

Fajta(1)	Laktáció hossza (nap)(2)	Tejtermelés (kg)(3)
Angus	200	1700-1800
Red angus	180	1500-1600
Red angus x magyar tarka	180	1550-1650
Charolais	200	1150-1250
Hereford	200	800-900

Forrás: Zándoki és mtsai (2004)

Table 1. Lactation milk production of different breeds of beef cows

breed (1); length of lactation (2); milk production (3)

Vizelet és bélsár

Egy szarvasmarha naponta átlagosan 20-30 kg bélsarat és 10-15 liter vizeletet ürít (Nyiri, 1993). Gaál (1999) szerint a szarvasmarha napi vizeletürítése 20-40 ml/testsúly kg. Haynes és Williams (1993), valamint Nguyen és Goh (1994) is vizsgálta az anyatehenek vizelet és bélsár termelését. Eredményeiket a 2. táblázat tartalmazza. Holmes (1989) vizsgálatai szerint a szarvasmarha napi vizelet és bélsár mennyisége átlagosan 3,5 m² legelőterületet borít be.

2. táblázat

A szarvasmarha napi vizelet és bélsár termelésének átlagos jellemzői

	Mennyisége (1)	Napi ürítés száma (2)	Ürítés által borított felszín (m ²) (3)	Ürítés hatása (m ²) (4)
Vizelet, l (5)	12-34	8-12	0,16-0,50	0,5-2,5
Bélsár, kg szárazanyag (6)	2,7-5,9	11-16	0,05-0,09	0,25-0,54

Forrás: Nguyen és Goh (1994)

Table 2. Daily urine and faeces production of cattle

amount (1); number of defecations/urinations per day (2); covered surface, m² (3); effect of defecation/urination (4); urine, l (5); faeces, kg dry matter (6)

A vizelet és bélsár ürítések száma a legelt fű szárazanyagtartalmával van szoros összefüggésben. A szarvasmarhák mozgása is befolyásolja az ürítések számát, mivel a gyakrabban mozgatott egyedek sűrűbben ürítenek (Haraszti, 1977). A vizelet és a bélsár összetételét befolyásolja az állat fajtája, kora, egészségi állapota, valamint a takarmány minősége és mennyisége. A vizelet tartalmazza a kálium nagy részét (3. és 4. táblázat).

A bélsár a nitrogén-, foszfor- és káliumvegyületeket nehezebben bomló, lassabban ható vegyületek formájában tartalmazza. Laza talajon ezért igen jó hatású (Nyiri, 1993). Újabb számítások szerint egy anyatehén és borja a vizelettel és a bélsárral együtt 88-114 kg nitrogént, 12-15 kg foszfort és 86-107 kg káliumot választ ki évente (DLG, 2014).

3. táblázat

A szarvasmarha vizelet és bélsár összetétele (%)

	Nedvesség (1)	Szerves anyag (2)	N (3)	P (4)	K (5)
Vizelet (6)	90-93	3-6	0,60-1,0	0,10-0,15	1,0-1,5
Bélsár (7)	80-85	13-18	0,25-0,60	0,15-0,30	0,10-0,20

Forrás: Nyiri (1993)

Table 3. Composition of cattle urine and faeces (%)

moisture (1); organic matter (2); nitrogen (3); phosphorus (4); potassium (5); urine (6); faeces (7)

4. táblázat

A szarvasmarha vizelet és bélsár NPK-tartalma

	N	P	K
Vizelet (1)	g/liter		
	7,7-10,8	0,19-0,34	7,47-9,5
Bélsár (2)	% szárazanyagra vetítve (3)		
	2,53-2,92	0,7-1,2	0,73-0,84

Forrás: Whitehead (2000)

Table 4. NPK content of cattle urine and faeces

urine (1); faeces (2); percentage in dry matter (3)

A szarvasmarha vizeletének és bélsárának kémhatása nem állandó érték, de általában a friss marhavizelet enyhén lúgos (pH= 7,8) (Cookson és Cornforth, 2002), míg a bélsár semleges kémhatású (pH= 6,4-7,3) (Cook és mtsai, 1996).

A húsmarhatartás hatása a legelő/gyep ökoszisztémákra

Legeltetés esetén az elfogyasztott fűmennyiség tápanyagtartalmának (N, P és K) jelentős része vizelet és bélsár formájában visszakerül a talajba. Az állatok ürítése azonban egyenetlenül történik, mintázatot kialakítva jelenik meg a legelőn. Ez a mozaikosság az évek alatt folyamatosan változik, és hosszú távon egy térbeli egyenetlenséghez közelít (Czeplédi és mtsai, 2001).

A bélsár és a vizelet területi eloszlását leginkább a területegységre jutó állatlétszám befolyásolhatja (Monteath és mtsai, 1977). Williams és Haynes (1995) becslése szerint 3 tehén/ha állatsűrűség esetén évente a legelőterület 6%-a borított vizelettel és bélsárral. A vizelet és bélsár tápanyagtartalma ugyanakkor ennél nagyobb területen fejt ki hatását. Egy adott tápelem, adott területre kifejtett hatása attól függ, hogy azt a vizelet vagy a bélsár tartalmazza-e nagyobb mennyiségben. A foszfor és a kétértékű kationok nagy része a bélsárral ürül a szervezetből, míg a nitrogén és egyértékű kationok főként a vizelettel (Whitehead, 2000).

A közvélemény számára kevésbé ismert tény, hogy a szarvasmarhák, különösen a húsmarhák legeltetése hozzájárul a gyepterületek, a tájkép megőrzéséhez, a biológiai sokféleség fenntartásához, a természet- és tájvédelmi területek kezeléséhez, az évszázados legelő-ökoszisztémák ápolásához. A legelők, gyepek a

légkör szén-dioxid tartalmának megkötésében is jelentős szerepet töltenek be. Jelenlegi mennyiségükben és állapotukban a világ szén-dioxid termelésének körülbelül 4 %-át képesek megkötni (Fóti, 2009; Nagy, 2010; Tóth, 2011; Bakó, 2018; Zhao és mtsai, 2018; Xia és mtsai, 2021), amely szakszerű gyephasználattal tovább növelhető, ezzel pedig a klímaváltozás mérséklésében is fontos szerepe lehet a legeltetési húsmarhatartásnak.

A marhahús-előállítás vízfelhasználásának csökkentési lehetőségei

Az állattenyésztés vízlábnyomának csökkentésében a legnagyobb potenciál a takarmánytermesztés hatékonyságának növelésében van. A kékvízfelhasználás csökkentése kivitelezhető az öntözéses növénytermesztés hatékonyságának javításával. Az öntözővíz mennyisége csökkenthető a hatékonyság növelésével, az új technológiai megoldások alkalmazásával (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*, 2003, 2006; Doreau és mtsai, 2012). Használhatók rövidebb tenyészidejű, illetve szárazságtűrő takarmánynövény fajok és fajták.

Kisebb mértékben az állatok által elfogyasztott ivóvíz mennyiségének mérséklésével is csökkenthető a húsmarhatartás vízlábnyoma. A tartástechnológia javítása (hőstressz elleni védelem, pl. árnyékolás, hűtés, a telepek és legelők mikroklímájának javítása erdősítéssel) alkalmas lehet a takarmányértékesítés javítására és a többlet vízfelvétel mérséklésére (Morand-Fehr és Doreau, 2011). A takarmányhasznosító képesség javításával, a termelés intenzitásának növelésével csökken az egységnyi termékre (1 kg marhahús) vonatkoztatott takarmányfelvétel, ezzel együtt a marhahús-előállítás vízlábnyoma is (Mekonnen és Hoekstra, 2010).

KÖVETKEZTETÉSEK

A szakirodalomban fellelhető, 1 kg marhahús előállításához szükséges vízszükséglet becslült adatai több nagyságrenddel (25-200000 l/kg) eltérnek. A nagy eltérések alapvetően a becslési módszerek különbözőségéből adódnak.

Alapvetően két fő számítási, becslési módot alkalmaznak: a virtuális vízfogyasztás becslést, illetve az életciklus alapú vízfogyasztás értékelést. Az egyes becslési módokban más-más típusú vizek felhasználásával számolnak.

Az is hozzájárul a közölt adatok nagy eltéréséhez, hogy meddig követik a marhahús, illetve a termék útját: addig, amíg a húsmarha elhagyja a gazdaságot, vagy a modell követi a marhahús mint termék további útját a fogyasztókhoz is.

Eltérést eredményez az is, hogy vannak olyan modellek, amelyek a becslés során figyelembe veszik azt is, hogy a felhasznált víz egy része vissza is kerül helyben a gazdaság vízforgalmába.

A marhahús-előállítás vízszükségletének pontos értékeléséhez szükséges az ezzel foglalkozó módszertan és nomenklátúra egységesítése. További fontos szempont, hogy a döntéshozók a szakirodalomban közölt adatok értelmezése során mindig mérlegeljék az adatok kiszámításához használt metodika sajátosságait.

A marhahús-előállítással összefüggő környezeti problémák (ammónia-, üvegházhatású gázemissziók, vízlábnyom) értékelésénél, megítélésénél célszerű lenne figyelembe venni a húsmarhatartás, elsősorban a legeltetés pozitív környezeti ha-

tásait is, valamint azt a tényt, hogy húsmarhával és egyéb kérődzőkkel a feltétlen legelőterületek is hasznosíthatók. A húsmarhák szakszerű legeltetési tartása segíti a gyepterületek talajainak megóvását (erózió és defláció elleni védelem), a tájkép megőrzését, a biológiai sokféleség fenntartását, a természet- és tájvédelmi területek kezelését, valamint jelentős szerepet tölt be a talaj szervesanyag-tartalmának növelésében, ezáltal a légkör szén-dioxid tartalmának megkötésében.

A húsmarhatartás (marhahús-előállítás) vízlábnyomának becslésénél figyelembe kell venni az eltérő körülmények között zajló termelési módok változatosságát. Az optimális, fenntartható termelési mód és intenzitás régióként eltérő lehet.

A húsmarhatartás (marhahús-előállítás) vízszüksége csökkenthető rövidebb tenyészidejű, illetve szárazságtűrő takarmánynövény fajok és fajták használatával, természetével, az öntözés hatékonyságának növelésével, jobb takarmányértékesítésű és hőstresszre kevésbé érzékeny húsmarhafajták nemesítésével, forró éghajlatú területeken különböző tartástechnológiák klímavédelmi szempontok alapján történő optimalizálásával.

IRODALOMJEGYZÉK

- Allan, J. A. T. (2003): Virtual water – the water, food, and trade nexus useful concept or misleading metaphor? *IWRA, Water Intern.*, 28. 4–11.
- Bak, J. – Pazsiczki, I. (2008): Tehénfedesítéses hőstresszmérséklés, módszerek, hatékonyság. *Anim. Welfare Etol. Tartástechn.*, 4. 69–77.
- Bakó, G. (2018): Az erdők és a gyepterületek klímaszerepe. <https://ng.24.hu/fold/2018/02/05/az-erdok-es-a-gyepteruletek-klimaszerepe/> (Letöltés dátuma: 2023.09.07). 33.
- Bonny, S. P. B. – Gardner, E. G. – Pethick, D. W. – Hockuette, J. F. (2017): Artificial meat and the future of the meat industry. *Anim. Prod. Sci.*, 57. 11.
- Blackshaw, J. K. – Blackshaw, A. W. (1994): Heat stress in cattle and the effect of shade on production and behaviour: A review. *Aust. J. Exp. Agric.*, 34. 285–295.
- Brown-Brandl, T. M. – Nienaber, J. A. – Eigenberg, R. A. – Mader, T. L. – Morrow, J. L. – Dailey, J. W. (2006): Comparison of heat tolerance of feedlot heifers of different breeds. *Livest. Sci.*, 105. 19–26.
- Chapagain, A. K. – Hoekstra, A. Y. (2003): Virtual waterflows between nations in relation to trade in livestock and livestock products. *Value of Water Research Report Series No. 13, UNESCO-IHE, Delft, The Netherlands.* <http://www.waterfootprint.org/Reports/Report13.pdf>. 53 p. + Appendix. (Letöltés dátuma: 2022.10.16.)
- Chikán, A. (2018): Enni vagy nem enni? Nagy számok és egy kis igazság a húsfogyasztásról és a klímaváltozásról. <https://chikansplanet.blog.hu/2018/w48> (Letöltés dátuma: 2022.10.18.)
- Cook, F. D. – Dadour, I. R. – Ali, D. N. (1996): Effect of diet on the excretion profile of ivermectin in cattle faeces. *Int. J. Parasit.*, 26. 291–295.
- Cookson, W. R. – Cornforth, I. S. (2002): Dicyandiamide slows nitrification in dairy cattle urine patches: effects on soil solution composition, soil pH and pasture yield. *Soil Biol. Biochem.*, 34. 1461–1465.
- Czeglédi, L. – Béri, B. – Kátai, J. (2001): The effects on grazing on pasture lands in protected areas. 52nd Conference of European Association for Animal Production. Budapest. 234.
- da Silva, R. G. – Campos Maia, A. S. – de Macedo Costa, L. L. – Fernandes de Queiroz, J. P. A. (2012): Latent heat loss of dairy cows in an equatorial semi-arid environment. *Int. J. Biometeorol.*, 56. 927–932.

- DLG (2014): Bilanzierung der Nährstoffausscheidungen landwirtschaftlicher Nutztiere. 2. Aufl. (Erarbeitet von: Hiller, P. - Lindenmayer, H. - Lüpping, W. - Meyer, A. - Pohl, C. - Pries, M. - Schenkel, H. - Spiekers, H. - Stalljohann, G. - Staudacher, W.) Arbeiten der DLG, Bd. 199. ISBN:978-3-7690-3166-9. 120.
- Doreau, M. – Corson, M. S. – Wiedemann, S. G. (2012): Water use by livestock: A global perspective for a regional issue? *Animal Frontiers*, 2. 2. 9–16.
- Eshel, G. – Shepon, A. (2014): Land, irrigation water, greenhouse gas, and reactive nitrogen burdens of meat, eggs, and dairy production in the United States. *PNAS* 111. 11996–12001.
- Falkenmark, M. (2003): Water cycle and people: Water for feeding humanity. *Land Use Water Resour. Res.* 3.1–3.4
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). (2009): The State of Food and Agriculture. Livestock in the Balance. FAO, Rome, Italy.
- Finch, V. A. – Bennett, I. L. – Holmes, C. R. (1982): Sweating response in cattle and its relation to rectal temperature, tolerance of sun and metabolic rate. *J. Agric. Sci.*, 99. 479–487.
- Fóti, Sz. (2009): Gyepék CO₂-gázcserejének finomléptékű térbeli változékonysága és mintázata. Disszertáció. SZIE, Mezőgazdaság és Környezettudományi Kar, Növényteni és Ökofiziológiai Intézet. Gödöllő. 145.
- Gaál, T. (1999): Vizeletvizsgálat és veseműködés vizsgálata. In: Gaál T. (szerk.): Állatorvosi klinikai laboratóriumi diagnosztika. Sík Kiadó, Budapest. 199–239.
- Gerbens-Leenes, P. W. – Mekonnen, M. M. – Hoekstra, A. Y. (2013): The water footprint of poultry, pork and beef: A comparative study in different countries and production systems. *Water Res. Industry*, 1-2. 25–36.
- Halász, A. – Nagy, G. (2012): A legelő szarvasmarha viselkedés-kutatásának módszertani kérdései. *Acta Agraria Debreceniensis*, 48. 31–35.
- Hansen, P. J. (2004): Physiological and cellular adaptations of zebu cattle to thermal stress. *Anim. Reprod. Sci.*, 82-83. 349–360.
- Haraszti, E. (1977): Az állat és a legelő. 2. kiadás. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- Haynes, R. J. – Williams, P. H. (1993): Nutrient cycling and soil fertility in the grazed pasture ecosystem. *Adv. in Agronomy*, 49. 119–199.
- He, J. – Zhao, Y. – Jin, X. – Fang, Y. (2021): Material perspective on the structural design of artificial meat. *Advanced Sustainable Systems*, 5. 8. 2100017
- Hoekstra, A. Y. – Chapagain, A. K. (2006): Waterfootprints of nations: Water use by people as a function of their consumption pattern. *Water Resour. Manage.*, 21. 35–48.
- Howard, J. M. – Griffis, H. B. – Westendorf, R. – Williams, J. B. (2020): The influence of size and abiotic factors on cutaneous water loss. *Adv. Physiol. Educ.*, 44. 387–393.
- Islam, A. (2021): Monitoring and mitigating heatstress in cattle. The University of Sydney, Faculty of Science, School of Life and Environmental Sciences, Livestock Production and Welfare Group. 208 p.
- International Organization for Standardization (ISO). 2006. ISO 14044: Environmental management — Life cycle assessment — Principles and framework. ISO, Geneva, Switzerland.
- Joshi, V. K. – Kumar, S. (2015): Meat Analogues: Plant based alternatives to meat products – A review. *Int. J. Food. Ferment. Technol.*, 5. 107–119.
- Lynch, J. – Cain, M. – Frame, D. – Pierrehumbert, R. (2021): Agriculture' s contribution to climate change and role in mitigation is distinct from predominantly fossil CO₂-emitting sectors. *Frontiers in Sust. Food Sys.*, 4. 300.
- Mancini, M. C. – Antonioli, F. (2021): The future of cultured meat between sustainability expectations and socio-economic challenges. In: *Future Foods. Global Trends, Opportunities, and Sustainability Challenges*. 331–350.

- Mekonnen, M. M. – Hoekstra, A. Y.* (2010): The green, blue and grey water footprint of farm animals and animal products Vol.1. Main Report. UNESCO- IHE, Delft, the Netherlands. [http://waterfootprint.org/media/downloads/Report 48 Water Footprint Animal Products Vol. 1.pdf](http://waterfootprint.org/media/downloads/Report_48_Water_Footprint_Animal_Products_Vol._1.pdf) (Letöltés dátuma: 2022.10.08.)
- Menendez, H. – Turner, B. L. – Tedeschi, L.* (2019): A modeling framework to assess the impact of the texas beef cattle water footprint on livestock sustainability. *J. Anim. Sci.*, 97. 147–149.
- Monteath, M. A. – Johnstone, P. D. – Boswell, C. C.* (1977): Effects of animal on pasture production I.: Pasture productivity from beef cattle and sheep farmlets. *New Zealand J. Agric. Res.*, 20. 23–30.
- Morgan, S. E.* (2011): Water quality for cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 27. 285–295.
- Nagy, Z.* (2010): Fűves ökoszisztémák CO₂-forgalma. MTA Doktori értekezés. Gödöllő. 113.
- Nguyen, M. L. – Goh, K. M.* (1994): An overview of the New Zealand S-cycling model for recommending S-requirements in grazed pastures. *New Zealand J. Agric. Res.*, 36. 474–491.
- Nyiri, L.* (szerk. 1993): Földművelés. Mezőgazda Kiadó, Budapest.
- Peters, G. M. – Wiedemann, S. G. – Rowley, H. W. – Tucker, R. W.* (2010): Accounting for water use in Australian red meat production. *Int. J. Life Cycle Assess.*, 15. 311–320.
- Petersen, M. K. – Muscha, J. M. – Mulliniks, J. T. – Roberts, A. J.* (2016): Water temperature impacts water consumption by range cattle in winter. *J. Anim. Sci.*, 94. 4297–4306.
- Pimentel, D. – Houser, J. – Preiss, E. – White, O. – Fang, H. – Mesnick, L. – Barsky, T. – Tariche, S. – Schreck, J. – Alpert, S.* (1997): Water resources: Agriculture, the environment, and society. An assessment of the status of water resources. *Bioscience*, 47. 97–106.
- Pradeepika, C. – Krishnakumar, T. – Sajeev, M. S. – Moorthy, S. N.* (2021): Novel plant-based meat analogues. *Kerala Karshakane-journal*, 2021. 12. 31-36.
- Ridoutt, B. G. – Sanguantri, P. – Freer, M. – Harper, G.* (2012): Water footprint of livestock: Comparison of six geographically defined beef production systems. *Int. J. Life Cycle Assess.*, 17. 165–175.
- Rouda, R. R. – Andersson, D. M. – Wallace, J. D. – Murray, L. V.* (1994): Free-ranging cattle water consumption in southcentral New Mexico. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 39. 29–38.
- Sala, S. – Goralczyk, M.* (2013): Chemical footprint: A methodological framework for bridging life cycleassessment and planetary boundaries for chemical pollution. *Integr. Environ. Assess. Manag.*, 9. 623–632.
- Steffler, J.* (2007): A legelő szarvasmarhák ivóvíz-ellátásának lehetőségei. *Agronapló*, 06-07. 101-102. <https://www.agronaplo.hu/szakfolyoirat/2007/06-07/tartastechnologia/a-legeloszarvasmarhak-ivoviz-ellatasanak-lehetosegei> (Letöltés dátuma: 2022.10.16.)
- Szita, K.* (2019): Amit a lábnymok üzennek nekünk. Available from: https://www.researchgate.net/publication/322251294_Amit_a_labnyomok_uzennek_nekunk (Letöltés dátuma: 2022.10.16)
- Thompson, P.* (2014): Artificial Meat. In: *Sandler, R. L.* (eds): *Ethics and Emerging Technologies*. Palgrave Macmillan, London. Doi:10.1057/9781137349088_34. 516-530.
- Tóth, E.* (2011): Talaj szén-dioxid emissziójának mérése eltérő talajhasználati rendszerekben. Diszsertáció, Budapesti Corvinus Egyetem, Kertészettudományi Kar, Talajtan és Vízgazdálkodás Tanszék, Budapest. 136.
- Wagenhoffer, Zs.* (2001): Fajtatiszta fehér-kék belga szarvasmarha populációk vizsgálata. Disszertáció. Veszprémi Egyetem, Georgikon Mezőgazdaságtudományi Kar, Állattudományi Intézet, Állattenyésztési Tanszék, Keszthely. 132 p.
- Wagner, J. – Engle, T.* (2021): Invited Review: Water consumption, and drinking behavior of beef cattle, and effects of water quality. *Appl. Anim. Sci.*, 37. 418–435.
- Whitehead, D. C.* (2000): *Nutrient elements in grassland*. CABI Publishing. UK. 1–369.
- Williams, P. H. – Haynes, R. J.* (1995): Effect of sheep, deer and cattle dung on herbage production and soil nutrient content. *Grass Forage Sci.*, 50. 263–271.
- Xia, W. – Bowatte, S. – Ja, Z. – Newton, P.* (2021): Offsetting N₂O emissions through nitrifying CO₂ fixation in grassland soil. *Soil Biol. Biochem.*, 165. 108528.

- Zándoki, R. – Csapó, J. – Tózsér, J. (2004): Húshasznú anyatehenek tejtermelő képessége 2. Tejhozam, kolosztrum összetétele. *Acta Agraria Kaposváriensis*, 8. 2. 1–10.
- Zhao, K. – Kong, W. – Wang, F. – Dong, X. (2018): Desert and steppe soils exhibit lower autotrophic microbial abundance but higher atmospheric CO₂ fixation capacity than meadow soils. *Soil Biol. Biochem.*, 127. 230-238.

Érkezett: 2022. augusztus

A szerzők címe: Póti P. – Kosztolányiné Sz. A. – Vertséné Z. R. – Pajor F. – Borka Gy.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem,
Állattenyésztési Tudományok Intézet

Authors' address: Hungarian University of Agriculture and Life Sciences,
Institute of Animal Sciences
H-2100 Gödöllő, Páter K. 1.
poti.peter@uni-mate.hu

IVARSZERVFEJLŐDÉSBN SZEREPET JÁTSZÓ GÉNEK VIZSGÁLATA ERDÉLYI KOPASZNYAKÚ TYÚKFAJTÁN

TÓTH ARNOLD - HOFFMANN ORSOLYA IVETT - GÓCZA ELEN - TÓTH ROLAND IMRE

ÖSSZEFOGLALÁS

Az emlősökkel ellentétben madaraknál a hím ivar a homogamétás, míg a tojók rendelkeznek a ZW kromoszómával. Ez komoly problémát jelent a teljes genetikai állomány hosszútávú megőrzésében, mert a teljes genom megőrzéséhez mindenképpen szükség van a W és a Z kromoszómákra is. Hatékony módszerek bizonyult a mindkét ivarból származó ősvasejtek (PGC, primordiális őscsírasejtek) mélyhűtése, melyek embrionális vérből izolálhatók. Az izolált vérből PGC tenyészetek alapíthatók, így a madarak teljes genetikai anyaga eltárolható lesz hosszú távon. Az ivari kromoszómákon kívül egy másik lényeges eltérés, hogy az emlősökkel ellentétben a madaraknál ivarszervi aszimmetria figyelhető meg. Ez a jelenség különösen szembetűnő a legtöbb madárfaj tojó egyedeinél, ahol a petefészkek csak a bal oldalon fejlődik ki funkcionálisan. Hímeknél a herében elhelyezkedő ősvasejtek számában figyelhető meg aszimmetria. Ezen ismeretek birtokában az ivarszerv fejlődésben szerepet játszó gének működésében is található aszimmetrikus mintázatok.

A szerzőknek a vizsgálatok során sikerült a választott gének (*DMRT1*, *CYP19A1*, *DDX4*, *DAZL*) expressziós szintjeit meghatározni őshonos tyúkfajta esetében. Ezek egyezést mutattak a szakirodalomban fellelhető más házityúk fajtáknak az ivarszervben lévő expressziós mintázattal. A kapott eredmények hozzájárulnak a témában végzett kutatásokhoz, melyek egy őscsírsejt alapú őshonos génbank fejlesztése felé irányultak.

SUMMARY

Tóth, A. – Hoffmann, O. I. – Góczy, E. – Tóth, R. I.: EXAMINATION OF GENES INVOLVED IN REPRODUCTIVE ORGAN DEVELOPMENT IN BLACK TRANSYLVANIAN NAKED NECK CHICKEN

In contrast to mammals, in birds, the male is the homogametic sex with ZZ chromosomes and the female is the heterogametic sex with ZW chromosomes. It raises a serious problem in the long-term preservation of the avian genome, because the W chromosome is definitely needed to store the entire genome. Eggs cannot be frozen due to their high yolk content. An effective, proven method is based on the primordial germ cells (PGCs), which can be isolated from early embryonic blood. From the isolated PGCs, cell cultures can be established. After freezing of the PGCs, the avian genome can be stored for a long time. Apart from the sex chromosomes, another important difference compared to mammals is the asymmetry of the reproductive organs. This phenomenon is most conspicuous in the females where the ovary develops and functions only on the left side, while the right side regresses. Males have two testicles similar in size, however asymmetry can be observed in the number of the germ cells between the two testicles. Similarly, genes, involved in gonadal development, are also expressed asymmetrically.

In this study, the development of embryonic gonads of Black Transylvanian Naked Neck chicken breed were examined. The authors, during the experiments, could determine the expression patterns of the selected genes (*DMRT1*, *CYP19A1*, *DDX4*, *DAZL*) in indigenous poultry species. The results of the *DMRT1* showed a unified expression pattern between the two sexes. According to these results, from d8 to d10, the expression levels were increasing and to d12 they were decreasing. However, the differences between the two sexes were notable and in the male embryos, the expressions were usually higher on the left side. The *CYP19A1* was measurable only in the female gonads, At the female, there was a strong asymmetry between the gonads and interestingly, the expressions were higher on the right side at every day. Both *DAZL* and *DDX4* genes expressed higher in the left gonad, in both sexes, due to the higher PGC content. And the *DAZL* expressed higher in the male left gonad, than the female, but *DDX4* was on a similar level in both sexes.

The results can help in the subsequent characterization of ideal recipient breeds and finding the best breed, which is an important step in gene conservation efforts.

IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Az őscsírasejt (PGC) az egyetlen olyan sejttípus, mely képes a genetikai anyag átadására a következő generáció számára. Számos gerinces és gerinctelen állatfaj esetében az őscsírasejtek egyértelműen elkülöníthetők a szomatikus sejtektől, már az embrionális fejlődés korai szakaszában is. Habár a korai fejlődés során is már megtalálhatók az embrió szervezetében, származásuk nem az embrionális gonádokhoz köthető. Oda a fejlődés során vándorolnak el (*Tagami és mtsai, 2017*). Számos fajjal ellentétben a madár PGC vándorlás a csíralécek felé a véráramban történik (*Tagami és mtsai, 2017*). Az ősvarsejtek már a tojásrakás pillanatában, megtalálhatók, az *area pellucida* központi régiójában (*Intarapat, 2011*). Az ősvarsejtek a gaméták progenitor sejtjei, belőlük származtathatók a petesejtek és a hímivarsejtek is (*Tagami és mtsai, 2017*).

Az emlősök szimmetrikusan fejlődő ivarszerveivel ellentétben, a madarak esetében csak a hímek rendelkeznek szimmetrikus gonádokkal. A legtöbb madár faj esetében a női ivarszerv aszimmetrikusan fejlődik és csak a bal oldalon fog funkcionálni. Ezt a gonád aszimmetriát számos madárfaj esetében leírták: kacsánál (*Van Limborgh és Fassen, 1960; Van Limborgh, 1970*), pulykánál (*Burke, 1973*), tyúknál (*Van Limborgh, 1954,1960; Calhim és Birkhead, 2009*). Ez alól kivételt képeznek a ragadozómadarak, mint például a sólyomalakúak családja, továbbá még a kivi is, melyeknél mind a két oldalon megtalálható a petefészkek (*Guioli és mtsai, 2014*).

A gonadogenezis kezdetén, a gonádok között nincs kimutatható morfológiai különbség, így az ivarok még nem különböztethetők meg egymástól. Indifferenciált szakasznak nevezzük a fejlődés ezen első felét, ami az embrionális fejlődés 6. napjáig tart (*McCarrey és Abbott, 1979; Clinton, 1998; Clinton és Haines, 2001*).

Az indifferenciált fejlődési fázis az inkubáció 3,5-4. napján indul meg és a 6,5. napig tart. Először a csíra-kordonok alakulnak ki, aminek a felülete megvastagszik és kéreg alakul ki rajta (*Péczely, 2013*).

A keltetés 6,5. napja a fázishatár a differenciálatlan és a differenciált fejlődési állapot között. Ettől a ponttól az ivarok szövettanilag megkülönböztethetők egymástól (*Romanoff, 1960*). A sejtosztódás a herék fejlődése esetén gyorsabb a velőben, mint a kéregállományban. A gonádok szöveti szerkezetét tekintve, az emlősökhöz hasonlóan a házityúk embrionális gonádok is két rétegből állnak, a külső *cortex*, azaz kéregből és a belső *medulla*, azaz velőállományból (*Maraud et al., 1987; Clinton, 1998; Clinton és Haines, 2001; Smith és Sinclair, 2004*). A velőben az elsődleges csírahám kordonok kanyarulatatos, *seminiferus* rendszere másodlagos, majd harmadlagos ágakat fejleszt, ez a velő vastagodásához vezet. Eközben a kéregállomány vékonyodik, mert a csírahám *corticalis* része elsorvad, egyrétegű, vékony hámréteggé módosul (*Romanoff, 1960; Romanoff, 1961; Stahl és Carlon, 1973; McCarrey és Abbott, 1979*).

A petefészkek esetében ez pont fordítva zajlik le, a sejtosztódás a kéregállományban intenzívebb, a felületen lévő kordonok egyre vastagodó, kompaktálódó réteget hoznak létre, ami a kéreg vastagodását jelenti és a velői rész elvékonyodása figyelhető meg, az itt található kötegek feldarabolódása miatt (*Romanoff, 1960; McCarrey és Abbott, 1979; Clinton, 1998*).

Amíg a hím madarak esetében a jobb- és baloldali gonádok fejlődése közel

azonosan zajlik, addig a tojóknál erős aszimmetria figyelhető meg. Csak a bal oldali gonád fog érett petefészékké fejlődni, a jobboldali petefészek kezdemény növekedése lelassul, a kéreg degenerálódik, a velői kötegek feldarabolódnak. Ennek hatására a jobboldali ivarszerv csökevényes formát vesz fel, vagy teljesen elsorvadhat (Carlon és Stahl, 1985; Romanoff, 1960; Smith és Sinclair, 2001; 2004; Vaillant és mtsai, 2001).

Az ivardeterminációt és differenciációt madarak esetében az ivari kromoszómákon található gének szabályozzák. Ezt követően kaszkádszerűen indulnak el a szex determinációt befolyásoló gének expressziói, aminek végkifejlete a szöveti szerkezetében eltérő ivarszervek kifejlődése (Clinton és Haines, 2001; Smith és Sinclair, 2001; Péczely, 2013).

Madarakban jelenleg két *iniciátor* szex determináns funkciójú gént ismerünk. Az egyik a Z-kromoszómához kapcsolt *DMRT1* (Doublesex and Mab-3 Related Transcription factor 1), amely egy általános ivar determináns faktor. Hasonlóságot mutat egyes halak *DMY* génjével, de nincs rokonságban az emlős *SRY*-al (sex determining region Y) (Raymond és mtsai, 1999; Smith, 2007; Cutting és mtsai, 2012).

A másik a W-kromoszómához kötött *HINTW* (Histidine triad nucleotide binding protein, W-linked), petefészek determináns gén, melynek expressziója a fejlődés 4,5. napjától mutatható ki (Pace és Brenner, 2003; Moriyama és mtsai, 2006; Smith és mtsai, 2009a).

Az indifferens fázisban több specifikus gén expressziója is jelentkezik, melyek a szöveti proliferáció megindításában és szabályozásában játszanak szerepet (Yoshioka és mtsai, 2005). Számos, a fejlődésben közreműködő gén aszimmetrikusan expresszál különböző időpontokban, mindkét ivar esetében. Korai stádiumban, hímivarban főleg a *DMRT1* és a *SOX9* (Sex-determining region-y gén) (Kent és mtsai, 1996; Silva és mtsai, 1996; Raymond és mtsai, 1999; Oréal és mtsai, 2002; Smith és mtsai, 2003; Yamamoto és mtsai, 2003; Takada és mtsai, 2006; Koba és mtsai, 2008; Smith és mtsai, 2009b; Yang és mtsai, 2013) expresszál, míg tojóban a *HINTW* (Histidine triad nucleotide binding protein, W-linked), *FET1* (Female Expressed Transcript 1), *FOXL2* (Forkhead transcription factor 2) és az aromatáz (*CYP19A1*) van jelen (Andrews és mtsai, 1997; Nakabayashi és mtsai, 1998; Reed és Sinclair, 2002; Hudson és mtsai, 2005; Smith és mtsai, 2009a). A csírasejteken (CVH-t expresszáló sejtek) kívül a szomatikus sejtek is aszimmetrikus expressziót mutatnak (Intarapat és Stern, 2013).

A *DMRT1* valamennyi gerincesben ismert, emberben károsodása szexreverziót okoz. Expressziója a háziyúk embrió csíralécében és a Müller csőben a 3,5 – 4,5. napon indul meg, az ivari differenciálódás előtt (Smith, 2007; Cutting és mtsai, 2012), a hímivarban magasabb expresszióval, mint a tojóban (Raymond és mtsai, 1999). A *DMRT1* jelenléte elengedhetetlen a here fejlődésének szempontjából, a petefészek fejlődésének korai szakaszában azonban jelenléte nem elengedhetetlen (Ioannidis és mtsai, 2021).

Az ösztrogén termelődés egy másik kulcs faktornak számít az ivardetermináció szempontjából, azonban ennek mennyisége is kötődik a *DMRT1* expressziójához (Ioannidis és mtsai, 2021).

A *CYP19A1* gén a cytochrom P450 család, 19 alcsalád tagja, 1. polipeptid gén, a szteroid bioszintézis monooxygenáz eleme (Smith és mtsai, 1997; Nakabayashi

és mtsai, 1998; Smith és mtsai, 2005). Működése során olyan szteroid típusú hormonokat szabályoz, amelyek részt vesznek az ivari differenciálódásban (Elbrecht és Smith, 1992; Crews és Bergeron, 1994; Kitano és mtsai, 2000; Sakata és mtsai, 2005).

A *CYP19A1* (aromatáz) génaktivátora a csak a nőivarú csíralécben expresszááló *FOXL2*. A petefészek kezdeményben a keltetés 5. napján ez a fehérje váltja ki a *CYP19A1* gén expresszióját (Smith és mtsai, 1997; Nakabayashi és mtsai, 1998; Smith, 2005).

A *CYP19A1* gén az ösztrogén-szintézis limitáló eleme, melynek működése madarakban is meghatározó szerepű a petefészek fejlődés szabályozásában. Az ösztrogén a csíralécben kialakult alfa-ösztrogén receptorhoz (*ER α*) kötődve fejt ki proliferatív hatását. Indifferens szakaszban, mind a két ivarban jelen van, ami madár embrióban az ösztrogén korai szabályzó szerepére utal. A 3,5. napon mutatható ki először nőivarban, majd a 4,5. naptól már mindkét ivar gonádjában megfigyelhető, de mennyisége hímekben 6,5 nap után lecsökken. Expressziós mintázatára ivari aszimmetria jellemző és erősen expresszááló a nőivarú gonád velőállományában (Jin és mtsai, 2020).

A referenciagének általában az adott élőlény legtöbb sejtjében, minden korban azonos mértékben expresszálnak. Funkciójuk állandó és jól jellemzett (Sirover, 1997). Az egyik legstabilabb expresszióval rendelkező és leggyakrabban alkalmazott belső kontroll gén (referencia, vagy más néven háztartási gén) a *GAPDH* (glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz), ami alkalmassá teszi génextpressziós mintázatok normalizálására házityúk esetében. A *GAPDH* membránfehérjeként szerepet játszik az endocitózisban, a citoplazmában kifejeződve részt vesz a génextpresszió transzlációs szabályozásában. A sejtmagban pedig a tRNS exportban, a DNS replikáció során (Sirover, 1997).

Kutatásaink célja az őshonos magyar házityúk fajták esetében univerzális recipiens fajtaként alkalmazni kívánt tyúkok embriójának az ivarszervfejlődését jobban megismerni. Ebből adódóan a jövőben tervezett kísérletekhez már egy jól megismert recipiens embriót használhatunk a génmegőrzési törekvésekhez.

Jelen vizsgálat célja volt megvizsgálni és összehasonlítani az ivarszervfejlődésben szerepet játszó gének expressziójának változását az embrionális fejlődés több fázisában. Összehasonlítani a génextpressziót hím és nőivarú gonádokban, a bal és jobb oldali ivarszervekben 8, 10, 12 napos korban. A kapott eredmények alapján következtetéseket vonhatnánk le további vizsgálatok tervezéséhez.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérleteket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Genetika és Biotechnológia Intézet, Alkalmazott Embriológia és Ossejt Biológia Csoportjának laboratóriumaiban végeztük. A vizsgálatokhoz fekete erdélyi kopasznyakú házityúk fajtát használtunk. Az embrionális vizsgálatokhoz a tojásokat a Nemzeti Biodiverzitás- és Génmegőrzési Központ gödöllői telephelyű Haszonállat Génmegőrzési Intézetből (NBGK-HGI) szereztük be. A vizsgálatba bevont állatok extenzív körülmények között voltak tartva.

A tojásokat PL Machine keltetőgépben inkubáltuk az embrionális fejlődés megfelelő napjáig. A vizsgálati periódus az embrionális fejlődés 5. napjától a 15. napjáig

tartott. Minden embrióból öt mintát gyűjtöttünk naponta: izomszövetet, későbbi ivarmeghatározás céljából, bal- és jobboldali ivarszerveket, valamint a közvetlen alattuk elhelyezkedő bal- és jobboldali *mesonephros*-t (elővese). Naponta minimum 4 egyedből (2 hímivarú és 2 tojó embrióból) történt meg a mintavételezés. Összesen 62 embrióból izoláltunk mintákat. A szervek kioperálása mikroszkóp alatt történt, steril PBS pufferben, majd a méretüktől függően 300-500 μ l TRizol (ThermoFisher Scientific, USA) reagensbe helyeztük őket és inkubáltuk 10 percig szobahőmérsékleten, végül -70 °C-on tároltuk a további felhasználásig.

A szövetminták feltárását lízis puffer és proteináz K eleggyel végeztük. A DNS izolálásához, egy általános fenol-kloroformos extrakció alapú módszert használtunk. Az izolált DNS koncentrációját Nanodrop Spektrofotométerrel mértük le majd végül a PCR reakcióhoz szükséges 25 ng/ μ l-es koncentrációra hígítottuk.

A genetikai ivar meghatározásához MyTaQ mix-et (ThermoFisher Scientific, USA) használtunk. Ivarspecifikus CHD1 primerek (1. táblázat) segítségével szaporítottuk fel a női ivarnak megfelelő Z (461 bp) és W (322 bp) kromoszómákról, és a hímivarnak megfelelő W kromoszómáról íródó 322 bp hosszúságú ampikonokat. A PCR termékeket gélelektroforézissel vizsgáltuk 1,5%-os agaróz gélen.

A szervmintákból ezután RNS-t izoláltunk. A homogenizálást követően a TRizolhoz kloroformot adtunk, majd a nukleinsavat tartalmazó felülúszót, egy új csőbe pipettáztuk át. A nukleinsavat izopropanollal csaptuk ki, majd 75%-os etanollal tisztítottuk háromszor. Az RNS pelletet a DNS-hez hasonlóan nukleázmentes vízben oldottuk vissza és koncentrációmérést követően 25 ng/ μ l -re hígítottuk ki.

Olyan géneket választottunk ki a vizsgálatra, melyek expressziója a két ivarszervben, valamint a két ivarban az embrionális kor előrehaladtával változik. A kiválasztott gének a *DMRT1*, *SOX9*, *PITX2*, *17 β HSD*, *CYP19A1*, *ER α* voltak (1. táblázat). Ezek mindegyikére primereket terveztünk az NCBI adatbázist és a BLAST keresőt, valamint a Primer 3 Plus programot használva. Génenként az első és a második exon határára terveztük a primereket, úgy, hogy a termékek hossza 150-200 bp közé essen. A primereket a UCSC In-Silico PCR programmal ellenőriztük vissza. A beérkezett primereket PCR-rel, gélelektroforézissel valamint qPCR-el teszteltük. A primerek tesztelése után a következő génekkel végeztük el a további vizsgálatokat: *DMRT1*, *CYP19A1*. Ezeknek a primereknek a hatékonyságát is ellenőriztük. Végül a 10 napos ivarszerv mintákat megvizsgáltuk *DDX4* (*DEAD-box helicase 4*) és *DAZL* (*deleted in azoospermia like*) génekre is.

A vizsgálatra kiválasztott 8–10–12 napos ivarszerv RNS mintáiból cDNS-t írtunk a gyártó által meghatározott protokoll alapján (High-Capacity cDNA Reverse Transcripton Kit, Applied Biosystems), fejlődési állapotunként két hím és két tojó egyedét választottunk.

A qPCR reakcióhoz SYBR Green Master Mix-et (ThermoFisher Scientific, USA) használtunk, és Eppendorf (AG 22331 Hamburg) típusú készüléken történtek a qPCR mérések.

A vizsgálat során háztartási géneként a *GAPDH*-t alkalmaztuk, ami a leggyakrabban használt házityúk referencia gén, valamint házityúk embrionális fibroblaszt (CEF) cDNS-t tettünk fel minden plate-re a futások összehasonlíthatósága érdekében. A relatív expressziókat 10 napos tojó bal oldali ivarszervből származó minta esetében mért expresszióikhoz viszonyítottuk, mert irodalmi adatok alapján ebben a korban, ivarban és oldalon minden géntől stabil expressziót várhattunk.

Tervezett és alkalmazott primerek

Gén (1)	Azonosító (2)	Primer szekvencia (5' → 3') (3)		Termék méret (bp) (4)	T _m (°C) (5)
PITX2	395862	FW	5' - GGCTGGAGGTGCACACTATC - 3'	153	61,4
		RW	5' - GCTGCTGGCTGGTGAAGT - 3'		58,2
ESR1	396099	FW	5' - AAATGAACAGGGCAGCTTTG - 3'	169	55,3
		RW	5' - TGAAGTGGGAATGATGAAAGG - 3'		55,9
17βHSD	395641	FW	5' - GTCCGGTGGAGAAGACC - 3'	190	60,5
		RW	5' - GCAGCAGCTCCAGTGTGTC - 3'		61,0
DMRT1	769693	FW	5' - GACTGCCAGTCAAGAAGTG - 3'	192	59,4
		RW	5' - CTGCAGGAGACAGGAGCTG - 3'		61,0
CYP19A1	414854	FW	5' - GAATTGGCCTCTCATTTCA - 3'	153	55,3
		RW	5' - CGTAAATACGCTGGAGGAT - 3'		57,3
SOX9	374148	FW	5' - AGGAAGCTGGCTGACCAAGTA - 3'	156	59,4
		RW	5' - GTAGTCGGGGTGGTCCTTCT - 3'		61,4
GAPDH	374193	FW	5' - CAGATCAGTTTCTATCAGC - 3'	112	50
		RW	5' - TGTGACTTCAATGGTGACA - 3'		54,2
CHD1	395783	FW	5' - TATCGTCAGTTTCCTTTTCAGGT - 3'	Z: 461	54
		RW	5' - CCTTTTATTGATCCATCAAGCCT - 3'	W: 322	53,2
DDX4	395447	FW	5' - GAACCTACCATCCACCAGCA - 3'	113	59,38
		RW	5' - ATGCTACCGAAGTTGCCACA - 3'		59,96
DAZL	374054	FW	5' - TTGCTTGAAGGCCTCGTTT - 3'	136	57,66
		RW	5' - ATCCTTGGCAGGTTGTTGAC - 3'		58,38

Table 1: Designed and used primers

gene name (1); gene ID (2); primer sequence (3); product size, bp (4); T_m, °C (5)

Ezek a minták minden plate-en fent voltak. Minden markerre végeztünk negatív kontroll vizsgálatot is.

A három qPCR futás automatikusan beállított Threshold értékeit azonosra állítottuk manuálisan, az összehasonlíthatóság érdekében. A Realplex programból kinyert adatokat MultiD GenEx v.6 programmal elemeztük tovább. Első lépésként az ismétléseknek az átlag Ct értékeit határoztuk meg. Az átlagértékeket a belső kontrollként alkalmazott *GAPDH* értékeivel normalizáltuk. Végül a relatív expressziós értékeket a belső kontrollként használt 10 napos bal oldali tojó ivarszerv minta értékeivel számítottuk ki.

EREDMÉNYEK

A 8 napos embrionális ivarszerv vizsgálatánál a *DMRT1* relatív expressziója hímivar esetében magasabb, mint tojónál, azonban határozott különbségek nem mutathatók ki a bal és jobboldali gonádok között egyik ivar esetében sem. Az értékek a 10 napos referencia mintánál magasabbak. 10 napos korban a hím embrionális ivarszervekben mért *DMRT1* gén expressziója jelentős aszimmetriát mutat a bal oldali gonád irányában, míg tojóknál az értékek közel azonosak. A 12 napos embrionális ivarszerveknél, a *DMRT1* gén a hímek esetében maga-

sabban expresszált, mint a tojóknál és a bal oldalon valamivel szintén magasabb volt, mint a jobboldalon. Az értékek a referencia minta értékei körül voltak. Tojóknál az expressziós különbség minimális volt a két oldal között, valamint az értékek nem érték el a referencia szintjét.

A teljes vizsgálati időszakban mért *DMRT1* eredmények jelentős különbségeket mutatnak a két ivar között. Minden vizsgálati napon a hímivarnál kaptunk magasabb expressziós értéket, ahogy azt az irodalmi adatok alapján is vártuk. Mindkét oldalon és ivarnál megfigyelhető egy egységes mintázat, a 8. és 10. nap között az expresszió mértéke egységesen növekszik, majd a 10. és 12. nap között szintén egységesen csökken. A *DMRT1* relatív génextpressziós értékei az 1. ábrán láthatók.

A *CYP19A1* gén expressziója 8 napos embrionális korban, tojók esetében a jobboldali gonádban kétszer magasabb a bal oldalihoz viszonyítva. A 10 napos referencia mintánál alacsonyabb mind a két esetben. A 10 napos *CYP19A1* expresszió erősebb a tojóknál, hímivarban elenyésző mértékű. Tojóknál a referencia mintához közeli értékeket kaptunk. Érzékelhetően magasabb az expresszió a jobboldalon, majd nem a kétszerese, mint a baloldali gonádban. A 12 napos embrionális ivarszervek vizsgálatánál az aromataz expresszió tojók esetében mindkét oldalon erősebb, mint a referencia mintában, illetve aszimmetria is megfigyelhető, a jobbgonádban kaptunk jóval magasabb értékeket.

1. ábra *DMRT1* relatív expressziója 8 – 10 – 12 napos embrionális ivarszervben *GAPDH* háztartási génre normalizálva. Kontroll mintaként 10 napos tojó bal oldali gonádot használtuk (piros vonal)

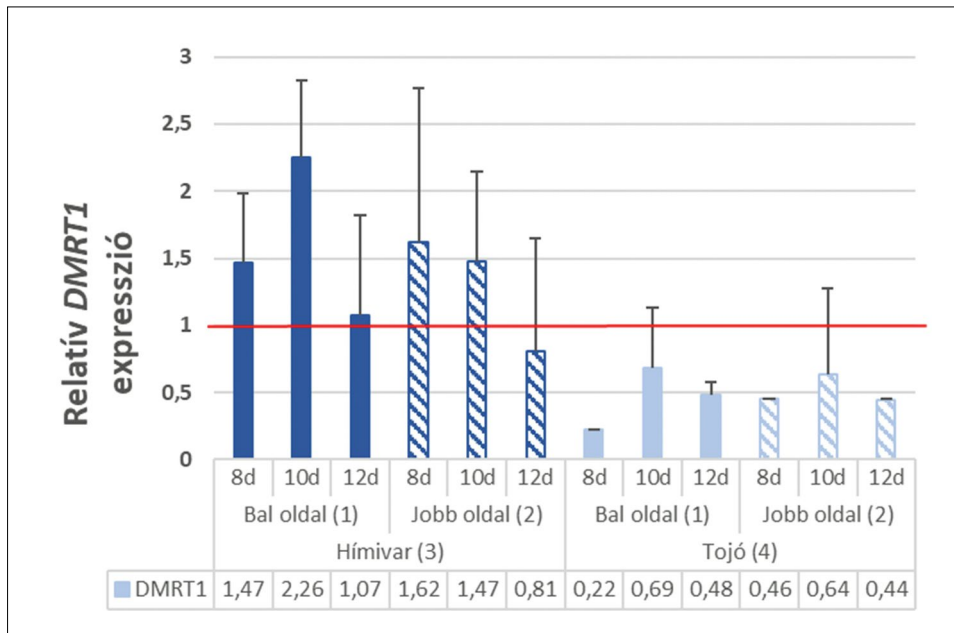


Figure 1. *DMRT1* relative gene expression at 8 – 10 – 12 days old embryonic gonads in both sexes normalised with *GAPDH* housekeeping gene. The reference sample was the d10 left female gonad, (red line).

left side (1); right side (2); male (3); female (4)

A *CYP19A1* gén expressziójáról a teljes vizsgálati időszakban, elmondható, hogy a kor előrehaladtával mind a két oldali gonádban egyre erősödő génműködés figyelhető meg tojóknál. Minden vizsgált napon aszimmetria volt megfigyelhető a génextpresszióban. Minden esetben a jobboldalon kaptunk magasabb expressziós értékeket. A kapott értékek megfelelnek a szakirodalmi adatok alapján várt értékeknek. A hímivarban is megfigyelhető egy enyhe expresszió, de olyan alacsony szinten, ami nem alkalmas következtetések levonására. A *CYP19A1* relatív génextpressziós értékei a 2. ábrán láthatók.

A 10 napos embrionális ivarszerv mintákat megvizsgáltuk *DDX4* és *DAZL* ősvasejt specifikus markerekre is, melyek eredményei a 3. ábrán láthatók. *DDX4* esetében a baloldali gonád expressziós értékei közel hasonlóak, a referencia minta értékéhez közel vannak. A jobboldali ivarszerv csak hímivarban volt megvizsgálható, melynek értéke fele annyi, mint a bal oldali gonád esetében. A *DAZL* gén expressziója hímivar bal gonádjában több mint kétszer olyan erősen expresszált, mint a jobboldalon. A tojó ivarú bal oldali gonád értékei a referenciával közel azonos eredményeket mutattak.

2. ábra *CYP19A1* gén relatív expresszió értékei 8 – 10 – 12 napos embrionális ivarszervben *GAPDH* háztartási génre normalizálva. *GAPDH* háztartási génre normalizálva. Kontroll mintaként 10 napos tojó bal oldali gonádot használtuk (piros vonal)

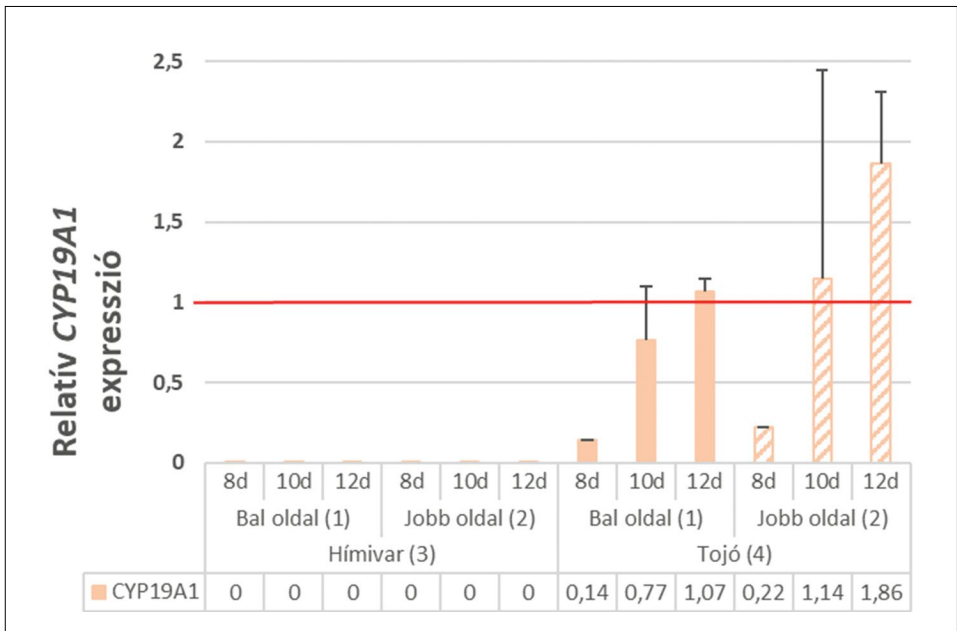


Figure 2. *CYP19A1* relative gene expression at 8 – 10 – 12 days old embryonic gonads in both sexes, normalised with *GAPDH* housekeeping gene. The reference sample was the d10 left female gonad, (red line).

left side (1); right side (2); male (3); female (4)

3. ábra DDX4 és DAZL gének relatív expressziós értékei 10 napos embrionális ivarszervben GAPDH háztartási génre normalizálva. Kontroll mintaként 10 napos tojó bal oldali gonádot használtuk (piros vonal)

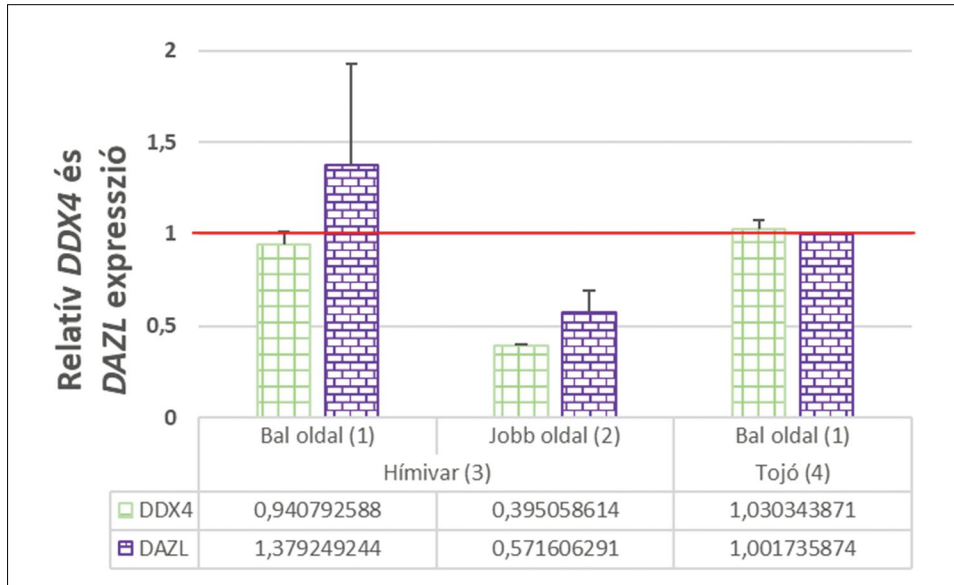


Figure 3. DDX4 and DAZL relative gene expressions at 10 days old embryonic gonads in both sexes normalised with GAPDH housekeeping gene. The reference sample was the d10 left female gonad, (red line).

left side (1); right side (2); male (3); female (4)

KÖVETKEZTETÉSEK

A vizsgálati időszakban mind a *DMRT1*, mind a *CYP19A1* markerek esetében, 8 napos kortól kezdve jól nyomon követhető volt az expressziós értékek változása. Jól megfigyelhető volt a különbség a két ivar között, ahol a *DMRT1* a hímivarban mutatott magasabb értékeket az ivari fejlődés korai szakaszában. Ez a gén az egyik kulcseleme az embriók ivari elköteleződésének, így eredményeink megfelelnek az általánosan leírt adatoknak.

Aromatáz esetében, az expressziós mintázatban a *DMRT1*-gyel ellentétes eredményeket kaptunk. A tojóknban volt megfigyelhető a magasabb génextpresszió, mely eredmény jól reprezentálja az irodalomban is fellelhető adatokat, miszerint az aromatáz gén felülszabályozódik az ivarszervekben, a hím ivarhoz képest.

Mind a *DAZL*, mind a *DDX4* esetében magasabban expressziót találtunk a bal oldali gonádban, mivel mind a két ivar esetében ezen az oldalon több ősvarsejt található. Így real-time PCR-rel is bizonyítottuk, hogy a bal oldali ivarszervben mind hím, mid pedig tojó ivarú embriók ivarszervében több ősvarsejt található.

Az eddig kapott eredményeinkből levonható következtetések a szakirodalomban fellelhető adatokkal jó egyezést mutatnak. További markerek vizsgálatával még pontosabb képet kaphatunk a kiválasztott őshonos fajta embrionális ivar-

szerv fejlődésének genetikai hátteréről. Tervezzük a kísérletben vizsgált minták számának növelését, hogy a kapott különbségek statisztikai módszerekkel is alátámaszthatóak legyenek.

Kutatásunk eredményei hozzájárulhatnak őscsírsejt alapú házityúk génbank sikeres létrehozásához.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatásokat a GÉNNET21 (VEKOP-2.3.2-16 - 2016-00012), 2019-2.1.11-TÉT-2019-00036 és NKFIH OTKA FK124708 azonosítójú pályázataink, továbbá az Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért című és RRF-2.3.1-21-2022-00007 azonosító számú pályázat támogatták.

IRODALOMJEGYZÉK

- Andrews, J. E. - Smith, C. A. - Sinclair, A. H. (1997): Sites of estrogen receptor and aromatase expression in the chicken embryo. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 108. 182–190. DOI: <https://doi.org/10.1006/gcen.1997.6978>.
- Bogenfürst, F. - Horn, P. - Meleg, I. - Mihók, S. - Sütő, Z. (2000): Állattenyésztés 2. - Baromfi, Haszongalamb. Szerk.: Horn P. Mezőgazda Kiadó.
- Burke, W. H. (1973): Testicular asymmetry in the turkey. *Poult. Sci.*, 52. 1652–1654. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0521652>.
- Calhim, S. - Birkhead, T. S. (2009): Intraspecific variation in testis asymmetry in birds: evidence for naturally occurring compensation. *Proc. Biol. Sci.*, 276. 2279–2284. DOI: <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.0134>.
- Carlson, N. - Stahl, A. (1985): Origin of the somatic components in chick embryonic gonads. *Arch. Anat. Microsc. Morphol. Exp.*, 74. 52–59.
- Clinton, M. (1998): Sex determination and gonadal development: a bird's eye view. *J. Exp. Zool.*, 281 (5): 457–65. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19980801\)281:5<457::AID-JEZ10>3.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<457::AID-JEZ10>3.0.CO;2-6).
- Clinton, M. - Haines, L. (2001): An overview of factors influencing sex determination and gonadal development in birds. *CMLS, Cell. Mol. Life Sci.*, 55. 876–886. DOI: <https://doi.org/10.1007/s000180050341>
- Crews, D. - Bergeron, M. J. (1994): Role of reductase and aromatase in sex determination in the red-eared slider (*Trachemys Scripta*), a turtle with temperature-dependent sex determination. *J. Endocrin.*, 143. 279–289. DOI: <https://doi.org/10.1677/joe.0.1430279>.
- Cutting, A. D. - Bannister, S. C. - Doran, T. J. - Sinclair, A. H. - Tizard, M. V. - Smith, C. A. (2012): The potential role of micro RNAs in regulating gonadal sex differentiation in the chicken embryo. *Chromosome Res.*, 20. 201–213. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10577-011-9263-y>.
- Elbrecht, A. - Smith, R. G. (1992): Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 255. 467–470. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1734525>.
- Guioli, S. - Nandi, S. - Zhao, D. - Burgess-Shannon, J. - Lovell-Badge, J. - Clinton, M. (2014): Gonadal asymmetry and sex determination in birds. *Sex. Dev.*, 8. 227–242. DOI: <https://doi.org/10.1159/000358406>.
- Hudson, Q. J. - Smith, C. A. - Sinclair, A. H. (2005): Aromatase inhibition reduces expression of FOXL2 in the embryonic chicken ovary. *Dev. Dyn.*, 233. 1052–1055. DOI: <https://doi.org/10.1002/dvdy.20388>.

- Intarapat, S.* (2011): Isolation and characterisation of chick embryonic primordial germ cells. University College London.
- Intarapat, S. - Stern, C. D.* (2013): Sexually dimorphic and sex-independent left-right asymmetries in chicken embryonic gonads. *PLoS. ONE*, 8 (7): 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0069893>.
- Ioannidis, J. - Taylor, G. - Zhao, D. - Liu, L. - Idoko-Akoh, A. - Gong, D. - Lovell-Badge, R. - Guioli, S. - McGrew, M. J. - Clinton, M.* (2021): Primary sex determination in birds depends on DMRT1 dosage, but gonadal sex does not determine adult secondary sex characteristics. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 118. 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.2020909118>.
- Jean, C. - Oliveira, N. M. M. - Intarapat, S. - Fuet, A. - Mazoyer, C. - De Almeida, I. - Trevers, K. - Boast, S. - Aubel, P. - Bertocchini, F. - Stern, C. D. - Pain, B.* (2015): Transcriptome analysis of chicken es, blastodermal and germ cells reveals that chick ES cells are equivalent to mouse ES cells rather than EpiSC. *Stem. Cell. Res.*, 14. 54–67. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scr.2014.11.005>.
- Jin, K. - Zuo, Q. - Song, J. - Zhang, Y. - Chen, G. - Li, B.* (2020): CYP19A1 (Aromatase) dominates female gonadal differentiation in chicken (*Gallus gallus*) embryos sexual differentiation. *Biosci. Rep.*, 40. 1–10. DOI: <https://doi.org/10.1042/BSR20201576>.
- Kent, J. - Wheatley, S. C. - Andrews, J. E. - Sinclair, H. A. - Koopman, P.* (1996): A male-specific role for SOX9 in vertebrate sex determination. *Development*, 122. 2813–2822. DOI: <https://doi.org/10.1242/dev.122.9.2813>.
- Kitano, T. - Takamune, K. - Nagahama, Y. - Abe, S. I.* (2000): Aromatase inhibitor and 17 α -methyltestosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Mol. Reprod. Dev.*, 56. 1–5. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2795\(200005\)56:1<1::AID-MRD1>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2795(200005)56:1<1::AID-MRD1>3.0.CO;2-3).
- Koba, N. - Ohfuji, T. - Ha, Y. - Mizushima, S. - Tsukada, A. - Saito, N. - Shimada, K.* (2008): Profiles of mRNA expression of FOXL2, P450arom, DMRT1, AMH, P450 C17, SF1, ER α and AR, in relation to gonadal sex differentiation in duck embryo. *J. Poult. Sci.*, 45. 132–138. DOI: <https://doi.org/10.2141/jpsa.45.132>.
- Van Limborgh, J.* (1970): Primary asymmetry of the gonadal primordia in the duck. *Z. Anat. Entwicklungsgesch.*, 130. 37–79.
- Van Limborgh, J.* (1954): Experimental study on gonadal asymmetry in female birds. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 98. 807–809.
- Van Limborgh, J.* (1960): The origin of the primary asymmetry of bird gonads. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, 104. 2442–2443.
- Van Limborgh, J. - Van Fassen* (1960): The asymmetry of the gonads in duck embryos experimentally turned on their right side. *Acta. Morphol. Neerl. Scand.*, 3. 79–91.
- Maraud, R. - Vergnaud, O. - Rashedi, M.* (1987): Structure of the right testis of sexually mature genetically female fowl experimentally masculinized during embryonic life and submitted to a posthatching left castration. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 68. 208–215. DOI: [https://doi.org/10.1016/0016-6480\(87\)90031-1](https://doi.org/10.1016/0016-6480(87)90031-1).
- McCarrey, J. R. - Abbott, U. K.* (1979): Mechanisms of genetic sex determination, gonadal sex differentiation, and germ-cell development in animals. *Adv. Genet.*, 20. 217–290. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60547-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60547-7).
- Mellor, D. J. - Diesch, T. J.* (2007): Birth and hatching: key events in the onset of awareness in the lamb and chick. *N. Z. Vet. J.*, 55. 51–60. DOI: <https://doi.org/10.1080/00480169.2007.36742>.
- Mellor, D. J. - Diesch, T. J. - Johnson, C. B.* (2010): Legal and animal welfare implications of when consciousness first appears in developing young and of the potential for delayed onset of increased pain sensitivity. (AAWS) International Animal Welfare Conference, 8.
- Morais da Silva, S. - Hacker, A. - Harley, V. - Goodfellow, P. - Swain, A. - Lovell-Badge, R.* (1996): Sox9 expression during gonadal development implies a conserved role for the gene in testis differentiation in mammals and birds. *Nat. Genet.*, 14. 62–68. DOI: <https://doi.org/doi.org/10.1038/ng0996-62>.

- Moriyama, S. - Ogihara, J. - Kato, J. - Hori, T. - Mizuno, S. (2006): PKCI-W forms a heterodimer with PKCI-Z and inhibits the biological activities of PKCI-Z in vitro, supporting the predicted role of PKCI-W in sex determination in birds. *J. Biochem.*, 139. 91–97. DOI: <https://doi.org/10.1093/jb/mvj004>.
- Nakabayashi, O. - Kikuchi, H. - Kikuchi, T. - Mizuno, S. (1998): Differential expression of genes for aromatase and estrogen receptor during the gonadal development in chicken embryos. *J. Mol. Endocrinol.*, 20. 193–202. DOI: <https://doi.org/10.1677/jme.0.0200193>.
- Oréal, E. - Mazaud, S. - Picard, J. Y. - Magre, S. - Carré-Eusébe, D. (2002): Different patterns of anti-müllerian hormone expression, as related to DMRT1, SF-1, WT1, GATA-4, Wnt-4, and Lhx9 expression, in the chick differentiating gonads. *Dev. Dyn.*, 225. 221–232. DOI: <https://doi.org/10.1002/dvdy.10153>.
- Pace, H. C. - Brenner, C. (2003): Feminizing Chicks: A model for avian sex determination based on titration of hint enzyme activity and the predicted structure of an asw-hint heterodimer. *Genome Biol.*, 4. DOI: <https://doi.org/10.1186/gb-2003-4-3-r18>.
- Péczezy, P. (2013): Szex determináció és ivari differenciálódás. *Madár szaporodásbiológia*, 13–31.
- Raymond, S. - Kettlewell, J. R. - Hirsch, B. - Bardwell, V. J. - Zarkower, D. (1999): Expression of *Dmrt1* in the genital ridge of mouse and chicken embryos suggests a role in vertebrate sexual development. *Dev. Biol.*, 215. 208–220. DOI: <https://doi.org/10.1006/dbio.1999.9461>.
- Reed, K. J. - Sinclair, H. A. (2002): FET-1: a novel W-Linked, female specific gene up-regulated in the embryonic chicken ovary. *GEP.*, 2. 83–86. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0925-4773\(02\)00288-5](https://doi.org/10.1016/S0925-4773(02)00288-5).
- Romanoff, A. L. (1960): The avian embryo, structural and functional development. New York: Macmillan.
- Romanoff, A. L. (1961): The avian embryo : structural and functional development. *AIBS. Bulletin*, 11 (2): 42–43.
- Sakata, N. - Tamori, Y. - Wakahara, M. (2005) P450 aromatase expression in the temperature-sensitive sexual differentiation of salamander (*Hynobius retardatus*) gonads. *Int. J. Dev. Biol.*, 49. 417–425. DOI: <https://doi.org/10.1387/ijdb.041916ns>.
- Sirover, M. A. (1997): Role of the glycolytic protein, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, in normal cell function and in cell pathology. *J. Cell. Biochem.*, 66. 133–140. DOI: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4644\(19970801\)66:2<133::AID-JCB1>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4644(19970801)66:2<133::AID-JCB1>3.0.CO;2-R).
- Smith, C. A. (2007): Sex determination in birds: HINTs from the W sex chromosome? *Sex. Dev.*, 1. 279–285. DOI: <https://doi.org/10.1159/000108934>.
- Smith, C. A. - Andrews, J. E. - Sinclair, A. H. (1997): Gonadal sex differentiation in chicken embryos: expression of estrogen receptor and aromatase genes. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 60. 295–302. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0960-0760\(96\)00196-3](https://doi.org/10.1016/S0960-0760(96)00196-3).
- Smith, C. A. - Katz, M. - Sinclair, A. H. (2003): DMRT1 is upregulated in the gonads during female-to-male sex reversal in ZW chicken embryos. *Biol. Reprod.*, 68. 560–570. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.102.007294>.
- Smith, C. A. - McClive, P. J. - Hudson, Q. - Sinclair, A. H. (2005): Male-specific cell migration into the developing gonad is a conserved process involving PDGF signalling. *Dev. Biol.*, 284. 337–350. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.05.030>.
- Smith, C. A. - Roeszler, K. N. - Sinclair, A. H. (2009a): Genetic evidence against a role for W-linked histidine triad nucleotide binding protein (HINTW) in avian sex determination. *Int. J. Dev. Biol.*, 53. 59–67. DOI: <https://doi.org/10.1387/ijdb.082742cs>.
- Smith, C. A. - Roeszler, K. N. - Ohnesorg, T. - Cummins, D. M. - Farlie, P. G. - Doran, T. J. - Sinclair, H. A. (2009b): The avian Z-linked gene DMRT1 is required for male sex determination in the chicken. *Nature*, 461. 267–271. DOI: <https://doi.org/10.1038/nature08298>.
- Smith, C. A. - Sinclair, A. H. (2001): Sex determination in the chicken embryo. *J. Exp. Zool.*, 290. 691–699. DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.1119>.
- Smith, C. A. - Sinclair, A. H. (2004): Sex determination: insights from the chicken. *BioEssays*, 26. 120–132. DOI: <https://doi.org/10.1002/bies.10400>.

- Stahl, A. - Carlon, N. (1973):* Morphogenesis of the sex cords and the significance of the medullary zone of the gonad in the chick embryo. *Acta. Anat. (Basel)*, 85. 248–274.
- Tagami, T. - Miyahara, D. - Nakamura, Y. (2017):* Avian primordial germ cells. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 1001. 1–18. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-10-3975-1_1.
- Takada, S. - Ota, J. - Kansaku, N. - Yamashita, H. - Izumi, T. - Ishikawa, M. - Wada, T. - Kaneda, R. - Choi, Y. L. - Koinuma, K. - Fujiwara, S. - Aoki, H. - Kisanuki, H. - Yamashita, Y. - Mano, H. (2006):* Nucleotide sequence and embryonic expression of quail and duck Sox9 Genes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 145. 208–213. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2005.08.009>.
- Theodosiou, N. A. (2006):* The Atlas of chick development, second edition. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Animal*, 42. 281. DOI: <https://doi.org/10.1290/050601.1>.
- Vaillant, S. - Dorizzi, M. - Pieau, C. - Richard-Mercier, N. (2001):* Sex reversal and aromatase in chicken. *J. Exp. Zool.*, 290. 727–740. DOI: <https://doi.org/10.1002/jez.1123>.
- Yamamoto, I. - Tsukada, A. - Saito, N. - Shimada, K. (2003):* Profiles of mRNA expression of genes related to sex differentiation of the gonads in the chicken embryo. *Poult Sci.*, 82. 1462–1467. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/82.9.1462>.
- Yang, Y. - Gong, P. - Feng, Y. P. - Li, S. J. - Peng, X. L. - Ran, Z. P. - Qian, Y. G. - Gong, Y. Z. (2013):* Temporospatial expression of DMRT1 in chicken urogenital system (*Gallus gallus*) using whole mount in situ hybridization. *Acta. Biol. Hung.*, 64. 161–168. DOI: <https://doi.org/10.1556/ABiol.64.2013.2.3>.
- Yoshioka, H. - Ishimaru, Y. - Sugiyama, N. - Tsunekawa, N. - Noce, T. - Kasahara, M. - Morohashi, K. I. (2005):* Mesonephric FGF signaling is associated with the development of sexually indifferent gonadal primordium in chick embryos. *Dev. Biol.*, 280. 150–161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2005.01.011>.

Érkezett: 2022. november

Szerzők címe: Tóth A. – Hoffmann O. – Gócza E. – Tóth R.
Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
Szent István Campus
Genetika és Biotechnológia Intézet
Állatbiotechnológia Tanszék

Authors' adress: Hungarian University of Agriculture and Life Science
Szent István Campus
Institute of Genetics and Biotechnology
Animal Biotechnology Department
H-2100 Gödöllő, Szent-Györgyi Albert str. 4.
gocza.elen@uni-mate.hu
goczaelen@me.com

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

BABARCZI BIANKA – DROBNYÁK ÁRPÁD – BARNA JUDIT – SZABÓ ZSUZSA – SZŐKE ZSUZSANNA – HEINCINGER MÓNIKA – 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 csincsiláknál 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 csincsiláknak kifejlesztett fürdetőhomokkal.

A csincsilákat 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. „párzási 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.

Csincsilában 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 sejteket, 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 ondóvételel 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

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

Table 1. Data on the spermatological characteristics of chinchilla

ejaculate volume (μ l) (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

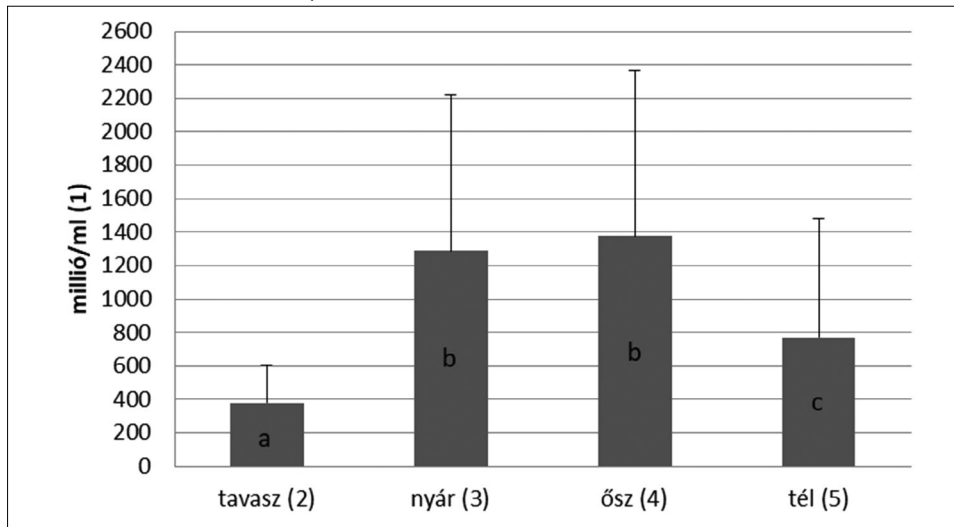


Figure 1. Seasonal variations in sperm concentration during the study period

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 évszakhhoz 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
Nyári (8)	59,8 ^{a,b,c}	5,7 ^b	20,2 ^{b,c}	14,3 ^{a,b}	85,7 ^{a,b}
Őszi (9)	65,0 ^b	1,8 ^c	21,7 ^b	11,5 ^b	88,5 ^b
Téli (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 rendelleneségek 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 késsel festett kenetekben

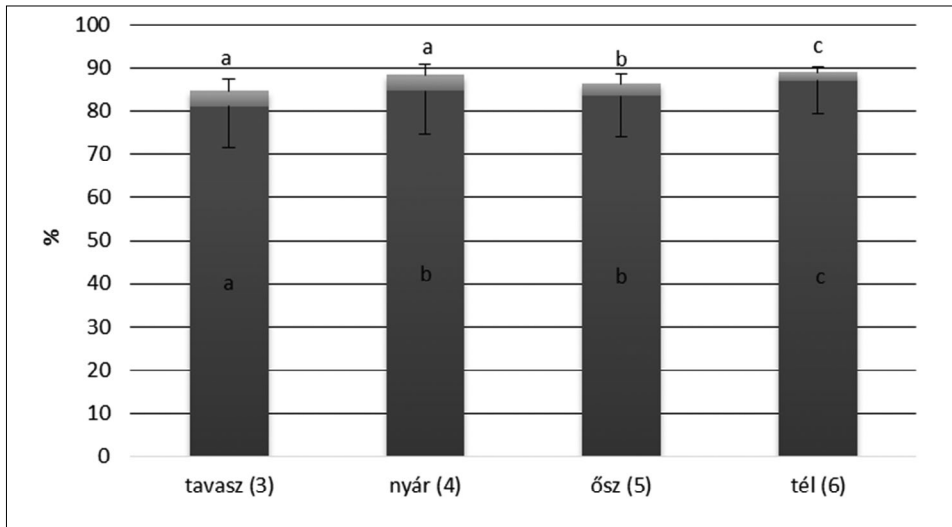


Figure 2. Seasonal distribution ratio of live, intact and live, abnormal spermatozoa in eosin-aniline blue-stained smears

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

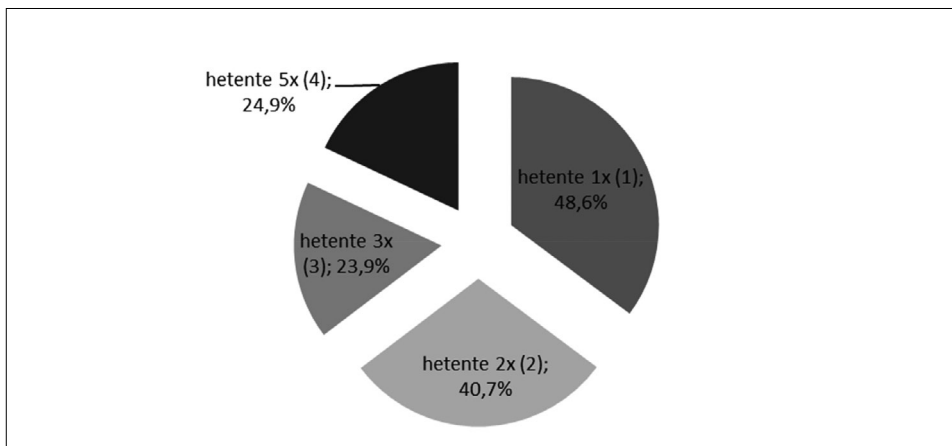


Figure 3. Effect of semen collection frequency of successful semen collection once a week (1); twice a week (2); three times a week (3); five times a week (4)

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

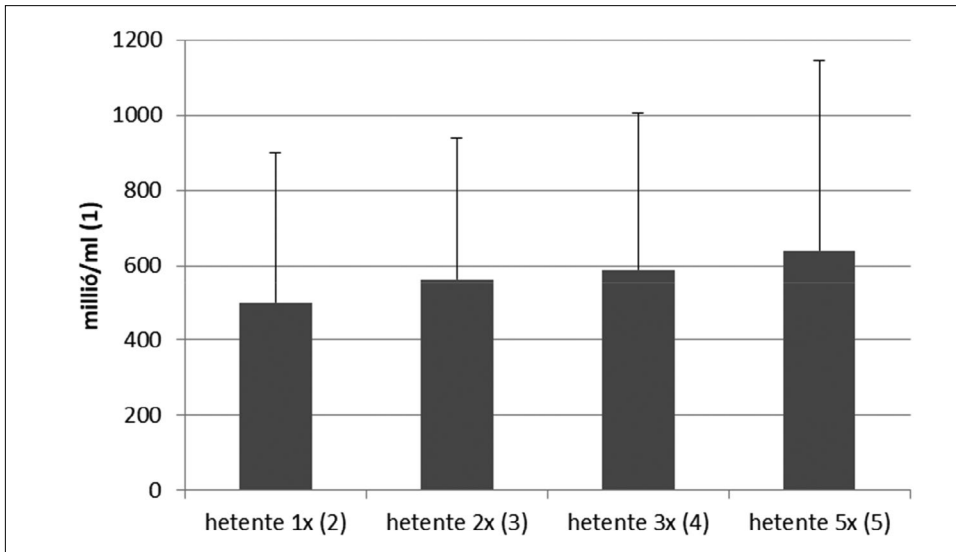


Figure 4. Seasonal variations in sperm concentration during the study period

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

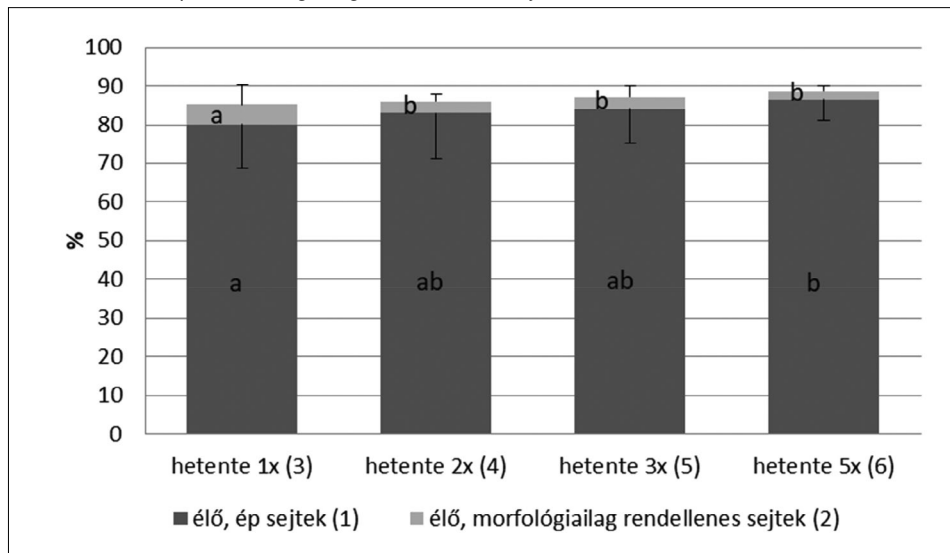


Figure 5. Distribution ratio of live, intact and live, abnormal spermatozoa in eosin-aniline blue-stained smears

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 mozgékonyága 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 nyerésére.

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 csincsilák 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 paraméterei 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 szezonálisnak 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 paraméterei 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.
- Dominchin, 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. - Dobrznska, 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: Babarcsi 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.
babarcsi.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.



- › VIDÉKFEJLESZTÉS
- › AGRÁRSZAKKÉPZÉS
- › TERMÉSZETMEGŐRZÉS
- › KÖRNYEZETVÉDELEM

ÁLLATTENYÉSZTÉS ÉS TAKARMÁNYOZÁS

Főszerkesztő (Editor-in-chief): FÉBEL Hedvig (Herceghalom)

Társfőszerkesztő (Co-editor): MÉZES Miklós (Gödöllő)

Szerkesztőbizottság (Editorial board):

Elnök (President): HORN Péter (Kaposvár)

MANABE, N. (Japán),

ROSATI, A. (EAAP, Olaszország),

ANTON István (Herceghalom),

BALOGH Krisztián (Gödöllő),

BODÓ Imre (Szentendre),

DUBLECZ Károly (Keszthely),

HIDAS András (Gödöllő),

HOLLÓ István (Kaposvár),

HULLÁR István (Budapest),

HUSVÉTH Ferenc (Keszthely),

KOMLÓSI István (Debrecen),

KOVÁCSNÉ GAÁL Katalin

(Mosonmagyaróvár),

MIHÓK Sándor (Debrecen),

PÓTI Péter (Gödöllő),

RÁTKY József (Budapest),

SZABÓ Ferenc

(Mosonmagyaróvár),

URBÁNYI Béla (Gödöllő),

WAGENHOFFER Zsombor

(Budapest),

ZSARNÓCZAI Gabriella (Szeged)

Szerkesztőség: Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani

(Editorial office): Intézet Takarmányozás-élettani csoport

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences Institute of Physiology

and Nutrition Group of Nutrition physiology

2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

A cikkeket kivonatolja a CAB International (UK) a CAB Abstracts c. kiadványban

The journal is abstracted by CAB International (UK) in CAB Abstracts

Felelős kiadó (Publisher): Bozsay Péter ügyvezető, HOI Nonprofit Kft.

ISSN 0230-1814 (Nyomtatott) ISSN 3003-9932 (Online)

A lap az Agrárminisztérium tudományos folyóirata

This is a scientific quarterly journal of the Ministry of Agriculture founded in 1952

(„Állattenyésztés”) by Prof. József Czákó

A kiadást támogatja (sponsored by): Agrárminisztérium

MTA Könyv- és Folyóiratkiadó Bizottsága

Megjelenik évente négyszer

A folyóiratokra a kiadónál fizethet elő az alábbiak szerint.

Előfizetési szándékát kérjük, jelezze az info@agrarlapok.hu címen, vagy az alábbi postacímen:

Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft., 1223 Budapest, Park u. 2.

A borítékra kérjük, írja rá: „Folyóirat-rendelés”.

Az előfizetési díjat a Herman Ottó Intézet Nonprofit Kft. 10032000-00286662-00000017 számlaszá-

mára való utalással egyenlítheti ki. Az átutalás közlemény rovatában szíveskedjen a folyóirat és az

előfizető nevét feltüntetni. Előfizetési díj: 8800Ft/év

Bármely más információért forduljon bizalommal kollégáinkhoz a lenti elérhetőségek bármelyikén:

e-mail: info@agrarlapok.hu, telefon: 06-1/362-8100

Nyomta: Zemplén-Vektor Kft., 3900 Szerencs, Csalogány köz 5.