

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 15

Issue 1

Gödöllő
2019



Tartalomjegyzék

<i>Balogh Erna, Berta Roberta, Gazsi Gyöngyi, Garai Edina, Reining Márta, Urbányi Béla, Bakos Katalin, Csenki Zsolt: Egy víztisztítási melléktermék, a 3-amino-9-etilkarbazol által kiváltott defektusok felderítése toxikológiai módszerekkel a Zebradanió (<i>Danio rerio</i>) korai életszakaszában</i>	1-8
<i>Eiben Csilla, Sándor Máté, Sándor Ferenc, Mohaupt Mónika, Kustos Károly: Az anya-alom elkülönítés és fényprogram hatása az anyanyulak termelésére</i>	9-17
<i>Fodor István, Ózsvári László: Estrus detection and its impact on reproductive and economic performance in large dairy herds</i>	18-28
<i>Kertész István, Zsomné Muha Viktória, Zsom Tamás, András Rebeka, Nagy Dávid, Felföldi József: Tojás minőségének és a héj repedésének roncsolásmentes vizsgálata</i>	29-35
<i>Hajdú Péter, Tóthné Maros Katalin, Horvainé Szabó Mária: Hidegvérű lovak viselkedésének vizsgálata személyiségtesztel</i>	36-46
<i>Felhívás: VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap – Nemzetközi Konferencia</i>	

Table of contents

<i>Balogh Erna, Berta Roberta, Gazsi Gyöngyi, Garai Edina, Reining Márta, Urbányi Béla, Bakos Katalin, Csenki Zsolt: Investigation of effects caused by water disinfection byproduct (3-Amino-9 ethylcarbazole) on zebrafish using toxicological tests and gene expression analysis</i>	1-8
<i>Eiben Csilla, Sándor Máté, Sándor Ferenc, Mohaupt Mónika, Kustos Károly: Effect of doe–litter separation and photostimulation on reproductive performance of rabbit does</i>	9-17
<i>Fodor István, Ózsvári László: Estrus detection and its impact on reproductive and economic performance in large dairy herds</i>	18-28
<i>Kertész István, Zsomné Muha Viktória, Zsom Tamás, András Rebeka, Nagy Dávid, Felföldi József: Non-destructive quality evaluation and crack detection of eggs</i>	29-35
<i>Hajdú Péter, Tóthné Maros Katalin, Horvainé Szabó Mária: Behaviour analysis on cold-blooded horses with personality test</i>	36-46
<i>Call for Abstract: 7th Animal Breeding Scientific Day in Gödöllő – International Conference</i>	

EGY VÍZTISZTÍTÁSI MELLÉKTERMÉK, A 3-AMINO-9-ETILKARBAZOL ÁLTAL KIVÁLTOTT DEFEKTUSOK FELDERÍTÉSE TOXIKOLÓGIAI MÓDSZEREKKEL A ZEBRADANIÓ (*DANIO RERIO*) KORAI ÉLETSZAKASZÁBAN

Balogh Erna, Berta Roberta, Gazsi Gyöngyi, Garai Edina, Reining Márta, Urbányi Béla, Bakos Katalin, Csenki Zsolt

SZIE Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Akvakultúra és Környezetbiztonsági Intézet
2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.
balogh.erna@mkk.szie.hu

Received – Érkezett: 05. 06. 2018.
Accepted – Elfogadva: 14. 11. 2018.

Összefoglalás

Vizsgálataink fő célja egy víztisztítási melléktermék, a 3-amino-9-etilkarbazol (3A9EC) akut és szub-krónikus toxikus hatásainak felderítése volt zebradánió modellszervezeten.

Az elsődlegesen alkalmazott teszt egy módosított OECD 236-os embriótoxikológiai vizsgálat volt, amivel az anyag általános toxikus hatásait lehet tanulmányozni. Az eredmények alapján elkészítettünk egy négy napos expozíció utáni LC (letális koncentráció) görbét, valamint meghatároztuk a hozzá tartozó LC₅₀ illetve LC₁₀ értékeket. A teszt során a mortalitás mellett a különböző szubletális tüneteket is megfigyeltük.

A kapott akut eredmény alapján a kísérletek második szakaszában a vizsgált anyag szubkrónikus hatásait vizsgáltuk egy 33 napig tartó vizsgálat során. A két alkalmazott koncentrációt az OECD 236-os tesztje alapján kapott 72 órás LC₁₀ érték alatt határoztuk meg. A teszt végére csak az alacsonyabb koncentráció esetén maradtak életben egyedek, melyek mindegyikén megfigyelhetők voltak méretbeli különbségek és jellemző volt a pigmenthiány a kontroll csoporthoz viszonyítva.

A vizsgálatokat három traszgenikus zebradánió vonalon folytattuk. A teszt során megfigyelhető volt a 3A9EC ér- és idegrendszer, valamint vese károsító hatása a lárvák 72 órás állapotában.

Az eredmények toxikológiai szempontból komplex információt szolgáltatnak a 3A9EC víztisztítási melléktermékekkel kapcsolatban, valamint megállapítható, hogy szükséges az anyag további toxikológiai vizsgálata, mert hosszan tartó fogyasztása káros lehet az élő szervezetekre, így az emberre is.

Kulcsszavak: víztisztítási melléktermék, toxikológia, zebradánió

Investigation of effects caused by water disinfection byproduct (3-Amino-9 ethylcarbazole) on zebrafish using toxicological tests and gene expression analysis

Abstract

The aim of this study was the investigation of toxic effects of 3-Amino-9 ethylcarbazole (3A9EC) water disinfection byproduct. Tests were carried out according to the modified OECD

(Organisation for Economic Cooperation and Development) guideline (No. 236) in order to detect the acute and sub-chronic toxic effects of 3A9EC.

At the end of exposure, LC50 and LC10 values for embryo mortality were determined.

Next, a subchronic assay of 33 days was conducted to study the lethal and sub-lethal effects of 3A9EC on the early life stage of zebrafish. On the basis of acute test results, embryos were exposed to two test concentrations below the 72h LC₁₀. At the end of the test, only those individuals survived which were treated with the lower concentrations of 3A9EC. Treated embryos showed developmental malfunctions, differences in size and depigmentation compared to the control group.

To observe vascular and nervous system effects, experiments were conducted on three transgenic zebrafish lines. Impairments were only detected in 72 hours post fertilization (hpf) larvae.

However results provide complex information on the toxic effects of 3A9EC, it seems that the substance could be potentially harmful to living organisms including humans, so further experiments are needed.

Keywords: zebrafish, toxikology, water disinfection byproduct

Irodalmi áttekintés

A megfelelő minőségű ivóvíz nélkülözhetetlen az emberi szervezet számára. Az ivóvíz megfelelő minőségének elérése érdekében a legfontosabb lépés a fertőtlenítés, mivel az emberre káros mikroorganizmusok csak így pusztíthatók el, azonban az eljárás során különböző emberi egészségre veszélyes víztisztítási melléktermékek keletkeznek. A klór és vegyületei hozzáadásával történő fertőtlenítés az egész világon széles körben elterjedt, költséghatékony vízfertőtlenítési módszer (*Cantor és mtsai*, 1988).

A fertőtlenítés során keletkező vegyületeknek a számát hatszáz felettire becsülik (*Richardson*, 2002), melyek közül csak kevés anyag toxikológiai vizsgálatát kezdték meg, így nem lehet minden anyagra határértéket bevezetni. A víztisztítási melléktermékek esetében is úgynevezett „jelző” vegyületekre állapítottak meg határértékeket, melyek többnyire vegyület csoportjuk legnagyobb mennyiségben jelen lévő képviselői. Azonban vannak olyan vegyületek, melyek nem esnek szabályozás alá, ezek között szerepelnek jódos savak, bromo-nitrometánok, jodo-trihalometánok, halofuranonok, halopirrolok, halokinonok, haloamidok, haloaldehidek, halonitrilek és nitrózaminok (*Woo és mtsai*, 2002). A melléktermékek hatásának az emberi szervezet egész élete folyamán ki van téve. Bekerülhet a szervezetbe szájon keresztül, bőrön át illetve belélegzés útján (*Lin és mtsai*, 2000). Ezek a vegyületek reprodukciós képességet befolyásoló, mutagén vagy karcinogén hatásúak is lehetnek, ezért nagyon fontos a vizek minőségének vizsgálata. A kémiai vizsgálatok mellett szükséges a biológiai tesztek alkalmazása is (*Nieuwenhuijsen és mtsai*, 2009).

A víztisztítás során keletkező melléktermékek kapcsán felmerülő veszélyek vezettek a vegyületekkel kapcsolatos további kutatásokhoz, melyekben *in vivo* és *in vitro* toxikológiai modelleket alkalmaznak. Laboratóriumi halakat széles körben alkalmaznak a biológia és az orvostudomány különböző területein, valamint a toxikológiai tesztek során (*Berghmans és mtsai*, 2005). A legtöbb vegyület, amely rákkeltő rágszálókban és emberben, látható tumor képződést okoz halakban, és az okozott rosszindulatú daganatok gyakran ugyan ott jelennek meg, mint más fajokban (*Simon és Lapis*, 1984). A kedvező biológiai jellemzők miatt a zebradánió (*Danio rerio*) a leggyakrabban használt halfaj a toxikológiai tesztekben. Hormonhatású anyagok és anyagkeverékek káros hatásainak vizsgálatára is egyre többször alkalmaznak transzgenikus vonalakat. A transzgenikus vonalak alkalmazásával lehetőség nyílik egy anyag bizonyos szervekre

kifejtette toxikus hatásának vizsgálatára. Vizsgálható egy anyag ér- és idegrendszer, vese és májkárosító hatása. Alkalmazásukkal pontosabb információkat kaphatunk egy-egy vegyület *in vivo* hatásáról.

Mivel az általunk választott víztisztítási melléktermék hatása jelenleg teljesen ismeretlen, vizsgálatom célja, a 3-amino-9-etilkarbazol hatásának felderítése volt, különböző toxikológiai módszerek alkalmazásával.

Anyag és módszer

Kísérleti állomány bemutatása és tartási körülményei

A beoldási vizsgálatok során, úgy tapasztaltuk, hogy a 3-amino-9-etilkarbazol (3A9EC) nem oldódik jól vízben, azonban dimetil-szulfoxid (DMSO) oldószer alkalmazásával fel tudtuk oldani. Vizsgálatainkhoz egy vad típusú AB, valamint három különböző transzgenikus vonalat alkalmaztunk. Az anyahalakat állandó átfolyást biztosító recirkulációs rendszerben, 10 óra sötét és 14 óra világítási ciklusban tartjuk (ZebTec, Tecniplast Inc.). Ivar szerint szétválogatva 3 literes medencékbe 30-30 egyed kerül elhelyezésre. A víz $25\pm 0,5$ °C-os, a pH $7,4\pm 0,2$, a vezetőképesség 525 ± 50 μ S volt. Napi kétszer kapnak száraz tápot, illetve hetente két alkalommal sórákot (*Artemia salina*).

Vad típus, kifejezetten laboratóriumi vizsgálatokra előállított állomány, mely a Streisinger által használt állomány utódaiból származik. Ahhoz, hogy a vonal megbízhatóan használható legyen laboratóriumi vizsgálatokra, mentesíteni kellett bizonyos betegségektől és letális mutációktól, melyet több különböző speciális keresztezési eljárás által értek el. Így alakult ki a ma világszerte alkalmazott különféle laboratóriumi vizsgálatokra alkalmas AB vonal.

Az egyik kettős transzgenikus vonalat a következő konstrukciókkal hozták létre: a GATA-1 transzkripciós faktor promóter régióját vörös fluoreszcens fehérjét (DsRed) kódoló gén elé építették (Yaqoob és mtsai, 2009); a zöld fluoreszcens fehérjét kódoló gént (GFP) elé pedig a Fli-1 gén transzkripciós start helyét építették (Lawson és Weinstein, 2002). A vörös fluoreszcens jel a vérsejteket jeleníti meg, a zöld fluoreszcens jel pedig az érfalat. A transzgenikus vonal segítségével jól vizsgálható a különböző anyagok vérképző szervekre és vérsejtekre gyakorolt hatása.

A másik két fluoreszcens fehérjét egy időben hordozó vonalban a zöld fluoreszcens fehérjét kódoló szakasz előtt a neurogenin-1 gén promóter régiója és a szabályozó szekvenciája van, míg a vörös fluoreszcens fehérjét kódoló szakasz előtt a nesztin gén promóter régiója. Mivel a transzgenikus vonalban a vörös és/vagy zöld fluoreszcens fehérje az idegszövetben fejeződik ki, jól használható toxikus anyagok idegszövetre kifejtett káros hatásainak *in vivo* vizsgálatára. Az osztódó idegsejteket jelöli a vörös riportergén. A neurogenin-1 gén az idegi lemez kialakulása során az elsődleges neurogenesis, a primer neuronok differenciálódásának helyét jelzi, halakban komplex mintázatot mutat. (Blader és mtsai, 2002).

A Wilm's tumor szupresszor gén (WT1) egy cink-finger transzkripciós faktort kódol, amely elsősorban a vese fejlődésében játszik fontos szerepet. A harmadik általunk alkalmazott vonalban a WT1 és WT2 szabályzó régiókhoz kapcsolt zöld fluoreszcens fehérje segítségével vese-specifikus transzgenikus vonalat hoztak létre. A zöld riportergén a kopoltyút és a vesét jeleníti meg. A vonal segítségével a vesében bekövetkező elváltozások figyelhetők meg (Bollig és mtsai, 2009).

FET (Fish Embryo Acute Toxicity, No. 236)

Az alkalmazott teszt egy módosított OECD 236-os számú Fish Embryo Acute Toxicity Test (FET) volt (OECD 2013), amivel az anyagok általános toxikus hatásait lehet tanulmányozni. A teszt elvégzéséhez frissen megtermékenyült vad típusú AB vonalból származó ikrákat használtunk, amelyeket egy 24 lyukú szövettenyésztő plate-be helyeztünk úgy, hogy egy lyukba egy embrió került.

Koncentrációként 20 egyeddel dolgoztunk. A vizsgálat alatt az embriókat inkubátorban tartottuk, 25,5 °C-on, 72 órán keresztül. A teszt során alkalmazott koncentrációk az alábbiak voltak: 1 mg/l; 2 mg/l; 2,5 mg/l; 3 mg/l; 3,5 mg/l; 4 mg/l; 4,5 mg/l; 6 mg/l; 8 mg/l. A teszt közben nem csak a mortalitást figyeltük, hanem a 72. órában feljegyeztük az esetleges tüneteket is. Ennek vizsgálata egy fénymikroszkóp (LEICA M250FA, 20x, 21,0ms) segítségével történt, amivel a 72. órában fényképeket készítettünk az egyedekről. A teszt eredményeként dózis hatás görbét készítettünk a GraphPad Prism 6.01 szoftver segítségével, amivel meg tudtuk határozni az LC₅₀ és az LC₁₀ értékeket a 72. órában.

Hosszú távú vizsgálat

A vizsgálat során irányadó volt az OECD szabvány. A teszt elvégzéséhez vad típusú AB vonalból származó ikrákat használtunk. A következő alkalmazott vizsgálatnál egy 33 napig tartó tesztet végeztünk, amivel a letális és a szubletális hatásokat tudtuk vizsgálni az adott tesztszervezet korai életszakaszára. A teszthez frissen megtermékenyült és ép ikrákat használtunk és a teszt a keléstől számított 30 napig tartott.

A két alkalmazott koncentrációt (2 mg/l és 0,25 mg/l) a FET teszt alapján kapott 72 órás LC₁₀ érték segítségével határoztuk meg, mely egy OECD szabvány 210-es számú teszt szerinti két végpontot jelöl. A kezelt csoportok mellett volt egy kontroll és egy oldószeres (DMSO) kontroll is. Csoportonként két ismétlésben, 50-50 ikrával indítottuk a kísérletet és napi oldatcserét alkalmaztunk. A kezelés első 5 napján 5 cm-es Petriben történt a nevelés, majd 10 cm-es Petribe helyeztük őket. A 11. kezelési napon pedig 1 literes szaporító edényekbe folytattuk a vizsgálatot. Az egész kísérlet alatt inkubátorba tartottuk az ikrákat, 25,5 °C -on. A teszt alatt a kísérleti állomány főreg és kisméretű haltáp keverékét kapták.

Traszgenikus vonalakon végzett kísérletek

A vizsgálatba a korábban említett három traszgenikus vonalat vontunk be, hogy felderítsük mi okozta a hosszú távú tesztnél a 2 mg/l-es kezelési koncentráció hatására a korai elhullást, mivel fenotípusos elváltozást nem láttunk. A különböző vonalakkal azt vizsgáltuk, hogy látható-e szervi elváltozás a kezelés hatására. A három választott koncentrációt a korábbi teszt alapján választottuk ki. A legmagasabb koncentrációt (4 mg/l) úgy választottuk, hogy már láttunk a FET-teszt során a kezelés hatására kialakuló fejlődési rendellenességet, a másik két kezelési koncentrációt (2 mg/l, 1 mg/l) pedig a hosszú távú teszt eredményei alapján. A teszthez frissen megtermékenyült és ép ikrákat használtunk és a teszt a keléstől számított 72 óráig tartott. Az eredményeket vizuálisan értékeltük.

Eredmények és értékelés

FET-teszt eredménye

A kontroll és oldószeres kontroll csoportban tartózkodó egyedek között nem történt pusztulás a 72. óráig, valamint a képen is jól látható, hogy az egyed fejlettségi szintje megfelelő és nem figyelhető meg torzulás az állatokon. Az anyag hatása azonban már a legkisebb kezelési koncentráció esetében megfigyelhető volt. A magasabb koncentráció felé haladva egyre több fejlődési rendellenességet detektáltunk. A vizsgálat során, az egyedeken pigmenthiány, sziködéma, hematóma, valamint fej és fark torzulás volt megfigyelhető (1. ábra).

A 3A9EC anyaggal elvégzett FET-teszt alapján dózis-hatás görbét készítettünk, amin az adott koncentrációhoz tartozó mortalitást ábrázoltuk a 72. órában (2. ábra). Az eredmények alapján számított 72 órás LC₅₀ érték $3,891 \pm 0,265$ mg/l volt, míg az LC₁₀ érték pedig $2,154 \pm 0,254$ mg/l.

1. ábra: Kezelet embriók mikroszkópos képe: A 3A9EC FET-tesztje során a 72. órában készített képek

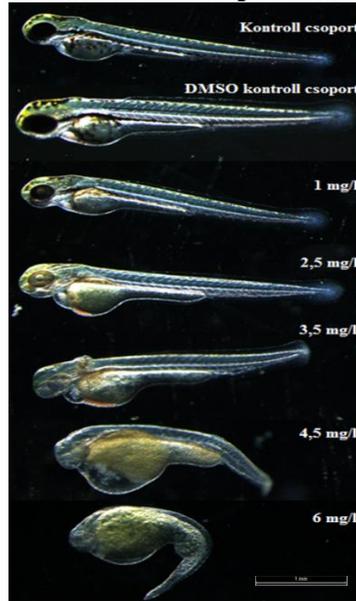


Figure 1: Images of treated larvae: Images of larvae after treated by 3A9EC during FET test in 72nd hour

2. ábra: Dózis-hatás görbe: FET-teszt eredményeként kapott letális koncentráció görbe a 72. órában (3A9EC)

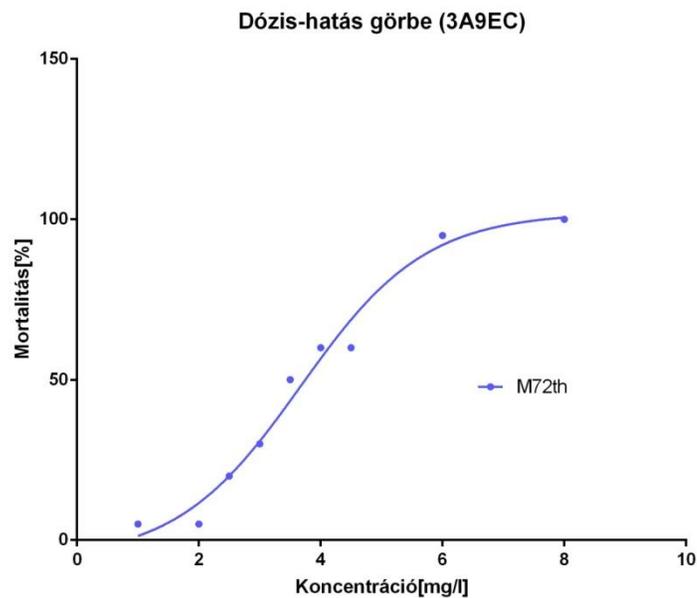


Figure 2: Dose-response curve: Lethal concentration curve in 72nd hour based on results of FET test (3A9EC)

Hosszú távú vizsgálat eredménye

A további vizsgálatokhoz a FET-teszt alapján számolt 72 órás LC₁₀ (2,154 ± 0,254 mg/l) értékre alapozva határoztuk meg a 33 napos teszt során alkalmazott koncentrációkat (2 mg/l, 0,25 mg/l). A 33 nap során minden nap feljegyeztük, hogy az adott napon hány egyed pusztult el. A kontroll csoportban és az oldószeres kontroll csoportban az összes elhullás a kelést követő 30 nap alatt nem érte el a 20 %-ot. A kezelési csoportokban csak az alacsonyabb koncentráció esetében maradtak életben egyedek (72%) a teszt végére. A 2 mg/l esetében pedig már a 6. napon elpusztult minden egyed (3. ábra). Az életben maradt kezelt egyedek mérete kisebb volt a kontroll csoport egyedéhez viszonyítva, valamint jellemző tünet volt a pigmenthiány.

3. ábra: Hosszú távú teszt: 33 napos teszt napi pusztulása (3A9EC)

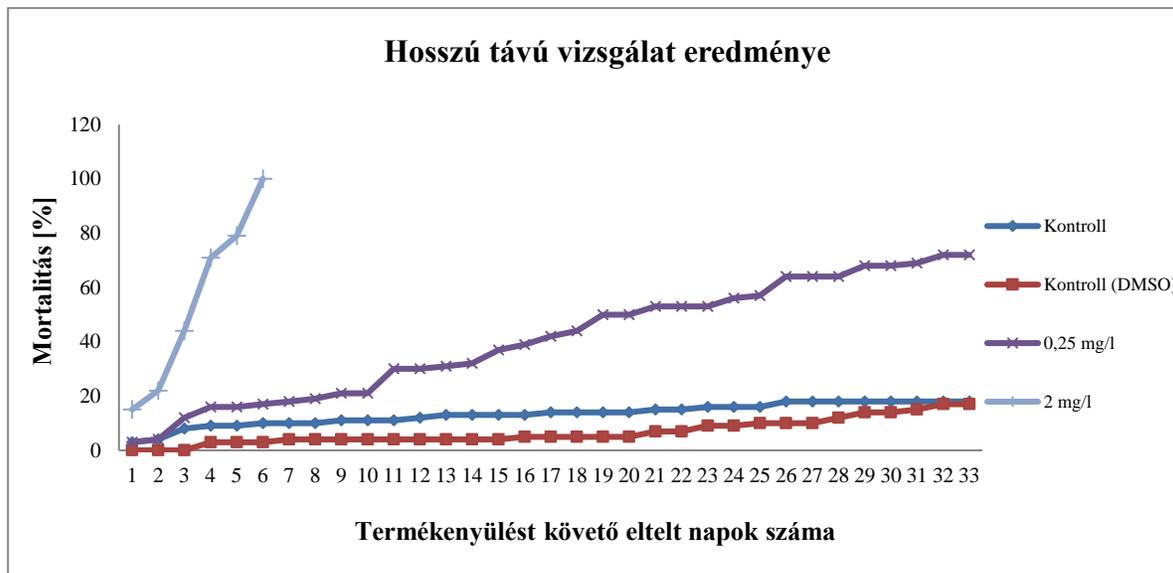


Figure 3: Long-term test: Daily mortality during 33-day test

Transzgenikus zebradánió vonalakon végzett kísérletek eredménye

A kísérletek során olyan kezelési koncentrációkat alkalmaztunk, melyek a korábbi vizsgálatokban (FET) fejlődési rendellenességeket okoztak. A vizsgálat folyamán megfigyelt elváltozásokat a 4. ábra mutatja, melyeket vizuális kiértékelés alapján kaptunk. A vér és érrendszer transzgenikus egyedek vizsgálata során az anyag két magasabb koncentrációja esetében figyeltünk meg nagyobb elváltozásokat. Elsősorban a feji részen keletkeztek kisebb-nagyobb kiterjedésű vérömlenyek, valamint a szelvény közötti erek egy része a vörsejtek számára nem volt átjárható. A központi idegrendszer morfológiájában nem találtunk eltérést, azonban az agyban az osztódó sejteket jelölő vörös fluoreszcens jel erőssége bizonyos területeken magasabb volt a kontroll csoportban észlelt jel erősségéhez viszonyítva. A vese-transzgenikus vonalon a két magasabb koncentráció esetében, a riporter gén kifejeződésének csökkenése volt megfigyelhető a kopoltyúíveken.

4. ábra: Transzgenikus embriókon végzett vizsgálatok eredményei (3A9EC)

3A9EC	4 mg/l	2 mg/l	1 mg/l
vérömlenyek kialakulása	X	X	
érfejlődési zavarok	X	X	X
eltérés az osztódó idegsejtek számában	X	X	X
vesefejlődési rendellenességek	X	X	

Figure 4: Results of transgenic embryos treated by 3A9EC

Következtetések és javaslatok

A FET-teszt során, már a legalacsonyabb koncentrációnál (1 mg/l) megfigyelhető volt enyhe pigment hiány, mely a magasabb koncentráció felé haladva egyre fokozódott. A vizsgálat folyamán számos fenotípusos elváltozás volt megfigyelhető már az alacsony koncentrációknál is. Az anyag hosszú távú vizsgálata során annak ellenére, hogy LC₁₀ érték alattiak voltak a kezelési koncentrációk, csak az egyik kezelt csoportban maradtak életben egyedek. Ennek oka feltehetően az anyag hatására a szervekben bekövetkező károsodás, melyek fenotípusos elváltozásként a hosszú távú teszt során nem voltak láthatóak, a vizuális értékelés során. Ezen feltételezés alátámasztása érdekében vontuk be a vizsgálatokba a transzgenikus vonalakat.

A transzgenikus vonalon végzett vizsgálatok alapján megállapítható, hogy az anyag kedvezőtlenül befolyásolja az ér- és idegrendszer fejlődését, valamint a vese transzgenikus vonalon is megfigyelhető volt a kezelés hatása. Az idegrendszer esetében sejtosztódást befolyásoló hatás volt megfigyelhető. A transzgenikus vonalak közül csak a neurogenin-nesztin vonal alkalmas a megfelelő sejtosztódás vizsgálatára, azonban ez nem jelenti azt, hogy a sejtosztódás megváltozása csak ezt a szövetet érinti, ezért további vizsgálat szükséges.

Az eredmények alátámasztása érdekében molekuláris vizsgálatot fogunk elvégezni qPCR segítségével, ahol olyan géneket fogunk vizsgálni, amelyek fontos szerepet töltenek be az egyes szervek megfelelő fejlődése és működése során. Tervezzük továbbá, egy bővített 33 napos teszt elvégzését, további három kezelési csoport bevonásával, melyet már az OECD 210-es számú szabvány alapján fogunk elvégezni. Ez a vizsgálat alkalmas egy ismeretlen hatású anyag letális és szubletális hatásának értékelésére.

Az eredmények alapján megállítható, hogy szükséges az anyag további vizsgálata, mert hosszan tartó fogyasztása káros lehet az élő szervezetekre, így az emberre is.

Irodalomjegyzék

- Berghmans S. Jette C., Langenau D., Hsu K., Stewart R., Look T., Kanki J.P. (2005): Making waves in cancer research: new models in the zebrafish. *Biotechniques* 39:227–237
- Blader P., Plessy C., Strahle U. (2002): Multiple regulatory elements with spatially and temporally distinct activities control neurogenin1 expression in primary neurons of the zebrafish embryo. *Mechanisms of Development* 120 (2003) 211–218 p.
- Bollig F., Perner B., Besenbeck B., Köthe S., Ebert C., Taudien S. and Englert C. (2009): A highly conserved retinoic acid responsive element controls, *Development* 136, 2883–2892 (2009) doi:10.1242/dev.031773

- Cantor K.P., Lynch D.F., Hildesheim M.E., Dosemeci M., Lubin J., Alvanja M., Craun G. (1988):* Drinking water source and chlorination byproducts, Risk Bladder Cancer. *Epidemiol.* 9, 21–28.
- Héjjas I. (2013):* Az élet megóvása és a környezetvédelem, *Czupi Kiadó, Nagykanizsa, 35. p., 89-90 p.*
- Kolpin D.W., Skopec M., Meyer M.T., Furlong E.T., Zaugg S.D. (2004):* Urban contribution of pharmaceuticals and other organic wastewater contaminants to streams during differing flow conditions. *Sci. Total Environ.* 328 (1–3), 119–130.
- Lawson N. D. & Weinstein B. M. (2002)* In Vivo Imaging of Embryonic Vascular Development Using Transgenic Zebrafish. *Developmental Biology* 248, 307–318 p.
- Lin, Tsair-Fuh, Shih-Wen Hoang. (2000):* Inhalation exposure to THMs from drinking water in south Taiwan. *Science Total Environment.* 246:41-49.
- Nieuwenhuijsen M.J., Toledano M.B., Elliott P. (2000):* Uptake of chlorination disinfection by-products; a review and a discussion of its implications for exposure assessment in epidemiological studies. *J Expo Anal Environ Epidemiol* 10:586–599
- OECD (2013):* Guidelines for testing of chemicals. Effects on biotic systems.
- Richardson SD. (2002):* The role of GC-MS and LC-MS in the discovery of drinking water disinfection by-products. *Environmental Monitoring.* 4(1):1-9.
- Simon K., Lapis K. (1984):* Carcinogenesis studies on guppies. *Natl Canc Inst Monogr* 65:71–81
- Yaqoob N., Holotta M., Prem C., Kopp R., Schwerte T. (2009):* Ontogenetic development of erythropoiesis can be studied non-invasively in GATA-1:DsRed transgenic zebrafish *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A* 154 (2009) 270–278 p.

AZ ANYA–ALOM ELKÜLÖNÍTÉS ÉS FÉNYPROGRAM HATÁSA AZ ANYANYULAK TERMELÉSÉRE

Eiben Csilla¹, Sándor Máté², Sándor Ferenc², Mohaupt Mónika², Kustos Károly³

¹Haszonállat-génmegőrzési Központ, 2100 Gödöllő, Isaszegi út 200.

²S&K Lap Kft, 2173 Kartal, Császár u. 135.

³Szent István Egyetem Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar Állattenyésztés-tudományi Intézet
2100 Gödöllő, Páter K. u. 1.

eiben.csilla@hagk.hu

Received – Érkezett: 21. 04. 2018.

Accepted – Elfogadva: 15. 12. 2018.

Összefoglalás

Korlátozottan szoptató nyulakkal vizsgáltuk a fényprogramnak (F) vagy az anya–alom elkülönítés és fényprogramnak (DF) a biostimulációs hatásait a Galgamácsán és Kartalon tavasszal két ciklusban termékenyített (AI) Hycole nyulak termelésére (n=1800). A fényprogram szerint az AI előtti 8. napon mindkét telepen hét órával növeltük a napi LED világítást (9-ről 16 órára) és 50-ről 100 lux-ra fokoztuk a fényintenzitást, amit az AI utáni 5. napig állítottunk vissza. Az F nyulak 14. napig korlátozottan (9-10 óra között), ezután szabadon szoptattak. A DF nyulak is korlátozottan szoptattak, de egy nappal az AI (11. nap) előtt, a 10. napon kihagytuk egy szoptatást, így az AI előtt 47–48 órás anya–alom elkülönítés (DLS) is volt a fénystimuláció mellett. A DF nyulak már az AI napján szabad szoptatásra tértek. A kettős biostimuláció (DLS+fényprogram) pozitívan hatott, de a DF és az F nyulak ivarzási, vemhesülési és fialási arányában Galgamácsán (DF: 60, 90 és 89%; F: 59, 89 és 88%) és Kartalon sem volt szignifikáns különbség (DF: 61, 88 és 88%; F: 59, 87 és 86%). A DLS+fényprogrammal Galgamácsán nőtt (P<0,05) az összes születési alomlétszám (DF: 13,3 és F: 12,9), Kartalon az eltérés nem volt szignifikáns (DF: 11,5 és F: 11,3). Galgamácsán a DF nyulak produktivitása (száz termékenyítésre jutó összes születés) az F nyulakéhoz képest 3,8%-kal (1139 vs 1184 nyúl), Kartalon 4,1%-kal volt jobb (1008 vs 968 nyúl). Eredményeink szerint a DLS+fényprogrammal a telepi gyakorlathoz képest (csak fényprogram) a produktivásban 1–7%-os javulás várható a telepi körülményektől és a termelési ciklustól függően.

Kulcsszavak: ivarzás, szoptatás, világítás, szaporaság

Effect of doe–litter separation and photostimulation on reproductive performance of rabbit does

Abstract

The reproductive performance of controlled nursing Hycole rabbits (n=1800) subjected to light stimulation (F) or doe–litter-separation plus light stimulation (DF) before AI (on day 11) instead of hormonal oestrus synchronization was compared with evaluating two reproduction cycles in spring in Galgamácsa and Kartal rabbit farms. At both farms on day 8 before AI the daily 9 h and 50 lux basal LED lighting was increased to 16 h and 100 lux light intensity that was gradually set

back until day 5 after AI to basal lighting. The F rabbits nursed controlled until day 14 (from 9 a.m. to 10 a.m.) using metal-plate as separation. The DF rabbits also nursed controlled but they skipped the nursing on day 10 and so there was a 47–48 h doe–litter separation (DLS) prior to AI combined with light stimulation. The DF rabbits turned already on day of AI to free nursing. DLS with light stimulation seemed to improve reproduction but sexual receptivity, pregnancy and kindling rates of the DF and F does did not differ significantly in Galgamácsa (DF: 60, 90 and 89%; F: 59, 89 and 88%) nor in Kartal (DF: 61, 88 and 88%; F: 59, 87 and 86%). With DLS and light stimulation the number of born kits per litter increased ($P < 0.05$) in Galgamácsa (DF: 13.3 and F: 12.9) but hardly changed in Kartal (DF: 11.5 and F: 11.3). Compared to the F rabbits the productivity (number of total born kits per 100 AI) of the DF rabbits was 3.8% better in Galgamácsa (1139 vs 1184) and 4.1% better in Kartal (1008 vs 968). Based on our results a 1–7% improvement in productivity can be expected with the use of DLS and photostimulation compared to the farm practice (only light stimulation) depending on the farm conditions and reproduction cycles.

Keywords: sexual receptivity, nursing, photoperiod, reproduction

Bevezetés

Közismert, hogy a szoptatás csökkenti az anyanyulak ivarzását (*García-Dalmán és González-Mariscal, 2012*). Emiatt az intenzív termeléskor gyakori, hogy biostimulációs céllal rövidebb-hosszabb ideig korlátozottan (naponta egyszer) szoptatnak és/vagy a mesterséges termékenyítés (AI) előtt szabadon szoptató nyulaknál átmenetileg anya-alom elkülönítést (*Doe-Litter Separation = DLS*) használnak (*Theau-Clément, 2007; Gerencsér és mtsai, 2012*). Nemrég kimutatták, hogy a szoptatási mód, mint biostimuláció bizonyos agyi területek aktivációját eredményezi (*González-Mariscal és mtsai, 2015*). A szoptatási mód, vagy megváltoztatása hatással van a takarmányfelvételre (*Schuh és mtsai, 2005*), ami kihat az ivari hormonok szintjére és emiatt a nyulak szaporaságára.

A fény idegi–hormonális úton befolyásolja a szaporaságot. A megvilágítás hatással van a szoptatási viselkedésre (*Matics és mtsai, 2013*), az anyanyulak testtömegére (*Sun és mtsai, 2017*). A nyúltelepeken általában 14 vagy 16 órás napi megvilágítást használnak 30–70 lux fényintenzitással. A fényprogramnak az AI előtti megváltoztatása is hatással van az ivarzásra és jó biostimulációs módszer lehet (*Theau-Clément, 2007; Szendrő és mtsai, 2016; Eiben és mtsai, 2016*).

Korábbi kutatásainkban az volt a telepi gyakorlat, hogy az anyanyulak a szoptatás 14. napjáig fémlapos elzárással korlátozottan 8–9 óra között, majd szabadon szoptattak és a napi megvilágítás 16 óráig, reggel 6-tól este 10-ig tartott (*Eiben és mtsai, 2007 és 2013*). Vizsgálataink szerint (*Eiben és mtsai, 2016*) érdemes lehet az AI előtt a világítás időtartamát és intenzitását is fokozni. *Quintela és mtsai (2001)* tőlünk eltérő fényprogramokat vizsgáltak, de ők is használtak egy másik stimulációt, az AI előtti korlátozott szoptatást és 30 órás DLS-t. Feltételezzük, hogy az AI körüli szoptatási és világítási módok együttesen hatnak, amit érdemes tovább vizsgálni.

Jelen célunk a termékenyítés előtti átmeneti anya-alom elkülönítésnek (DLS) és az újonnan bevezetett, megnövelt megvilágításnak, mint biostimulációs eljárásoknak az együttes kipróbálása és a kölcsönhatásuk vizsgálata.

Anyag és módszer

Állatok

A kísérletet az S&K–Lap Kft. két LED világításra áttért telepén, Galgamácsán és Kartalon, korlátozottan szoptató, mindkét helyen 2015. március 6-án és 23-án termékenyített (AI), Hycote anyanyulakkal végeztük. (Galgamácsa és Kartal: 1800 és 1800, összesen 3600 AI). A fialás után a többször fialt és tíz kisnyúlra dajkásított anyanyulakat a kondíciójuk szerint két egyforma csoportba osztottuk.

Szoptatási mód

A telepi gyakorlatnak megfelelő, F csoportban fémlapos elkülönítéssel a fialástól a 14. napig korlátozott (9–10 óra közötti), ezután szabad szoptatás volt (1. táblázat).

A DF csoportban hasonlóan szoptattunk, de csak a 9. napig, mert a termékenyítés előtti napon (csütörtökön) biostimulációs célból kihagyunk egy szoptatást, azaz 47–48 órás anya-alom elkülönítés (DLS) volt. Másnap (pénteken) a szoptatás utáni fél órán belül termékenyítettünk, és korábban, már az AI napján áttértünk a szabad szoptatásra.

1. táblázat: Kísérleti elrendezés és csoportok a 11. napon újratermékenyített nyulaknál

Termékenyítés(2)(n)	Csoportok(1)	
	F	DF
	1800	1800
Szoptatási mód(3)	korlátozott: 1–14. nap(4)	korlátozott: 1–9. nap(5)
Biostimuláció(6)	csak fényprogram(7)	DLS+fényprogram(8)
Anya-alom elkülönítés(9)	nincs(10)	47–48 órás DLS(11)
Fényprogram(12)	van(13)	van(13)

Table 1: Experimental design and groups in rabbit does inseminated on day 11 post partum

(1)groups, (2)number of AI, (3)nursing method, (4)once a day nursing (9 a.m. to 10 a.m.) using a metal-plate as separation for 14 days or (5)11 days of lactation and switch to free nursing up to weaning, (6)biostimulation, (7)only lighting program, (8)a 47–48 h doe–litter separation (DLS) before AI plus photostimulation. AI within 3 h (F) or 30 min (DF) after nursing, (9)DLS, (10)yes, (11)no, (12)photostimulation: the same increased duration and intensity of LED lighting prior to AI, (13)yes

Fényprogram

Ivarzás szinkronizációs hormonális előoltást nem végeztünk, de mindkét csoportban biostimulációs céllal megnöveltük az AI előtti napi világítás hosszát és intenzitását. A LED világítású istállókban a szabályozható, hideg kékesfehér fényű, négydiódás LED lámpák (15 x 20 cm) adták a napi 9 órás Pot méterrel beállított 50 lux alapvilágítást.

Napi világítási idő és fényintenzitás megnövelése

Az AI előtti 8. napon a napi 9 órás (8–17 óra) világítást (V) hét órával, 16 órára (6–22 növeltük. Az AI utáni 3. és 4. napon két órával (14V: 6–20 óra és 12V: 8–20 óra), az AI utáni 5. napon további három órával csökkentettük a világítást, visszaállva a napi 9 órás (8–17 óra) világításra.

A fényintenzitás növeléséhez a LED lámpákat 50 lux-ról 100 lux-ra állítottuk az AI előtti 8. és az AI utáni 3. nap között. Az AI utáni 4. napon a fényintenzitás 80–90 lux, ezután ismét alapszintű, 50 lux volt.

Termékenyítés

Az AI a fialás utáni 11. napon, a szoptatás utáni három vagy fél órán belül (F vagy DF), Hycol baknyulak kevert ondójával történt (0,5 ml/anya). Az F anyanyulak felénél az ovuláció kiváltásához i.m. 0,2 ml GnRH analóg kezelést (Receptal®, 0,84 µg buszerelin-acetát /anya), a másik felükénél i.v. 0,5 ml (MRAbit®, 25 µg LHRH etilamid /anya) GnRH analóg kezelést használtunk. A DF nyulaknál csak i.m. GnRH analóg kezelés volt (ugyanaz, mint az F nyulaknál). Jelen kísérletünkben nem volt cél a GnRH kezelés hatásának a vizsgálata, csak az i.m. kezelt nyulak termelését hasonlítottuk össze. Termékenyítéskor az ivarnyílás színe alapján (fehér, rózsaszín, piros, lila) bíraltuk az ivarzást (ivarzó = piros/lila ivarnyílás). A vemhesülést az AI utáni 14. napon a hasfal áttapintásával vizsgáltuk.

Elhelyezés és takarmányozás

A nyulakat légkondicionált istállóban (18–20°C), rágófával és felső pihenőpolccal felszerelt, rácsos oldalfalú anyaketrecekben tartottuk. A műanyag taposórácscsal ellátott ketrec alsó szintjének alapterülete és magassága 80x53 és 25 cm, a felső szinté 40x53 cm. A ketrechez tartozó fémlapos oldalfalú ellető mérete 23x53 cm.

A nyulakat egyféle takarmánnyal, *ad libitum* takarmányoztuk (10,0 MJ/kg emészthető energia, 17,5% nyersfehérje, 3,80% nyerszsír, 14,9% nyersrost, 7,70% hamu).

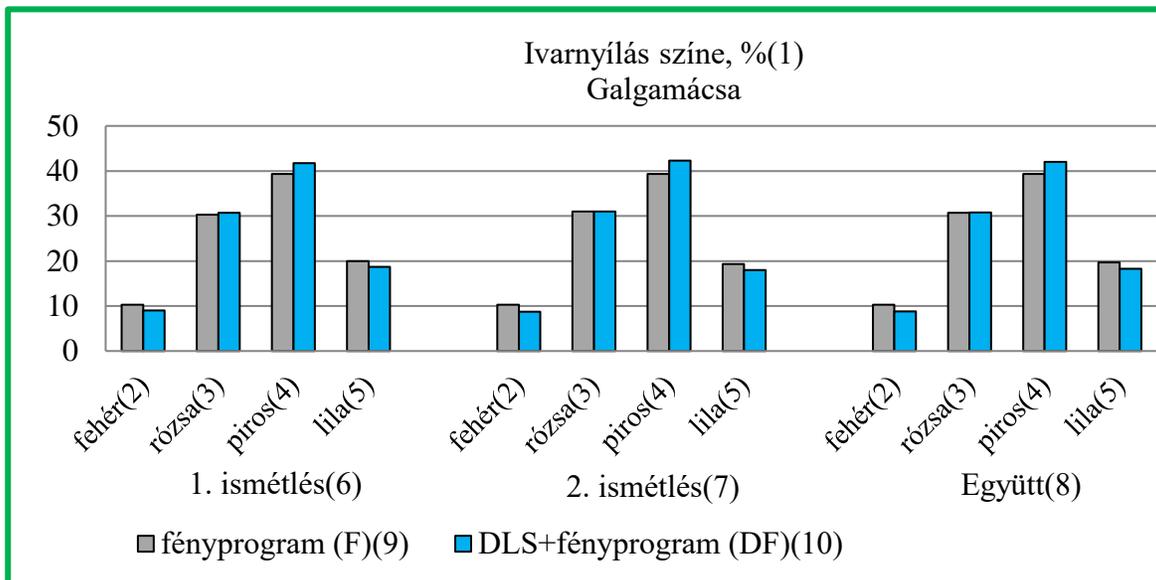
Az anya-alom elkülönítésnek és/vagy a fényprogramnak az ivarzási, a vemhesülési és fialási arányra gyakorolt hatásának statisztikai értékelését Chi² próbával, a születési alomlétszámra kifejtett hatását varianciaanalízissel, a Statgraphics 6.0 (1992) programmal végeztük. A produktivitást a száz termékenyítésre jutó összes született nyulak száma alapján számítottuk ki.

Eredmények és értékelés

Galgamácsán a fényprogramhoz hasonlítva (F) a DLS+fényprogrammal (DF) kisebbnek tűnt a fehér vagy a lila ivarnyílású, de többnek a piros ivarnyílású nyulak aránya (*I.a. ábra*). Ez kedvező, mert noha a piros vagy a lila ivarnyílású nyulakat tartják ivarzóknak, ám megfigyelték, hogy nem csak a fehér, de a lila ivarnyílású nyulak is rosszabbul vemhesültek (*Quintela és mtsai, 2001; Najjar és mtsai, 2013*). Kartalon a kettős stimulációval csak az első ismétléskor tűnt többnek a piros ivarnyílású nyulak aránya (*I.b. ábra*). A második ismétléskor az F nyulakhoz képest a DF nyulaknál ugyan kevesebb volt a fehér ivarnyílású (7,0 vs 12%; $P < 0,05$), ám kissé több a rózsaszín vagy a lila, és kevesebb a piros ivarnyílású nyulak aránya.

1. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása az ivarnyílás színére Galgamácsán (a) vagy Kartalon (b)

a)



b)

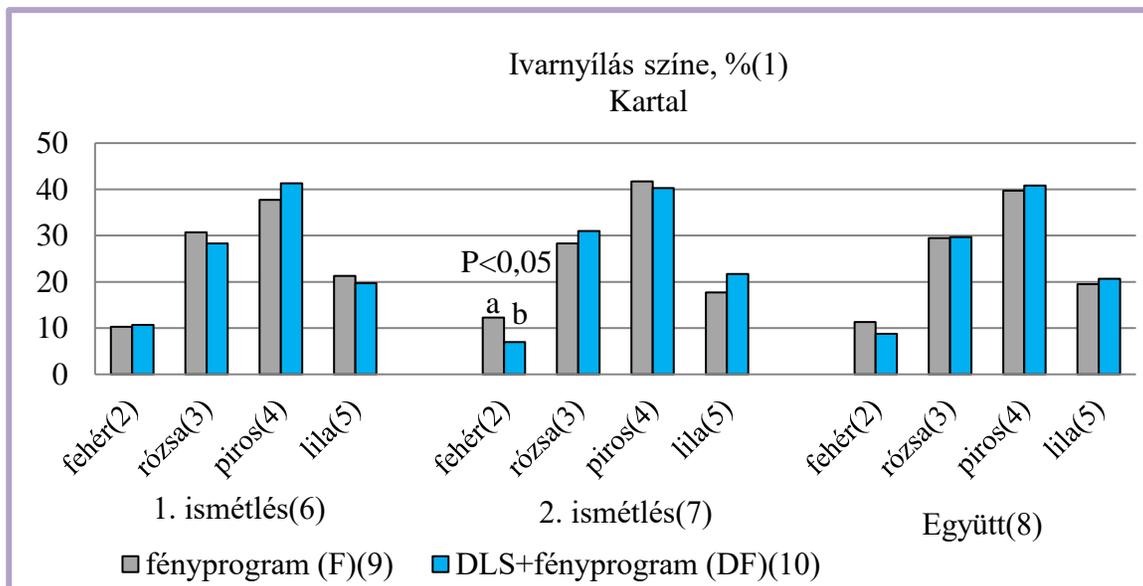


Figure 1: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on vulva colour in Galgamácsa (a) or in Kartal (b)

(1)vulva colour, (2)white, (3)pink, (4)red, (5)violet, (6)1st repetition, (7) 2nd repetition, (8)total, (9)photostimulation (F), (10)DLS plus photostimulation (DF)

Az ivarzási arány a DLS+kényprogrammal mindkét telepen és mindkét ismétléskor nagyobbak tűnt, mint csak a fényprogrammal, de az eltérés nem volt szignifikáns (2. ábra).

2. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása az ivarzási arányra Galgamácsán (a) vagy Kartalon (b)

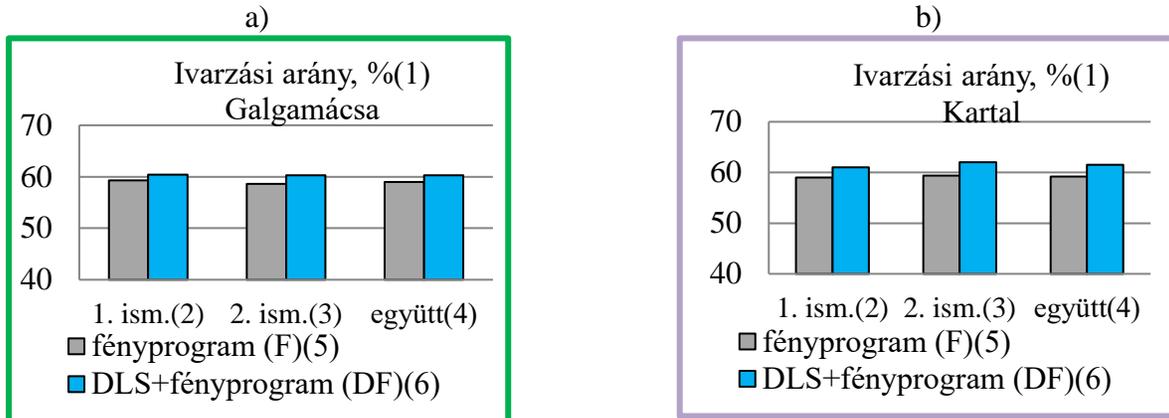


Figure 2: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on sexual receptivity in Galgamácsa (a) or in Kartal (b)

(1)sexual receptivity: rabbits with red / violet vulva, (2)1st repetition, (3) 2nd repetition, (4)total, (5)photostimulation (F), (6)DLS plus photostimulation (DF)

A DF nyulak kissé jobban vemhesültek, mint az F nyulak (3. ábra), igazolva a némileg jobb ivarzást. A DLS+fényprogrammal legnagyobb mértékben Kartalon, az első ismétléskor nőtt a vemhesülés (89 vs 87%), de a különbség nem szignifikáns. Mindkét telepen csak fényprogrammal is jó, 80% feletti volt a vemhesülés, amit nehéz tovább javítani.

3. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása a vemhesülési arányra Galgamácsán (a) vagy Kartalon (b)

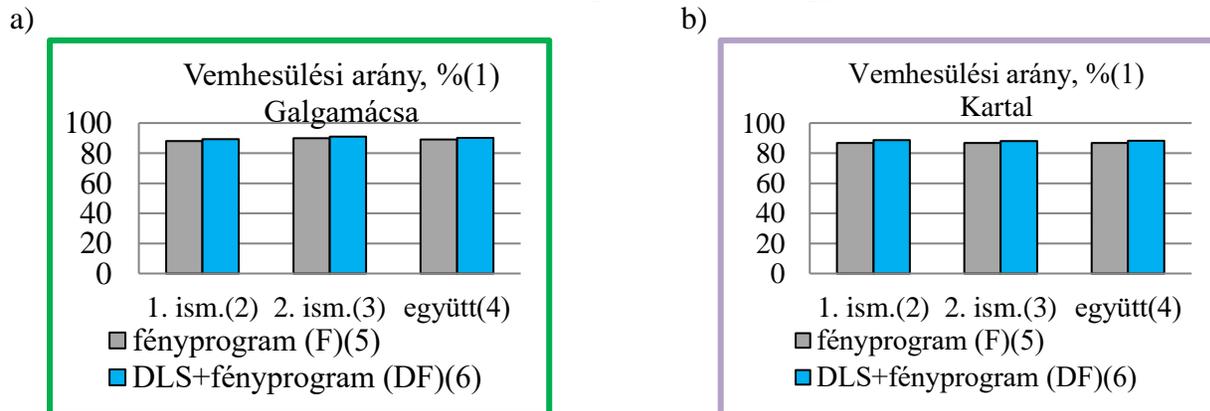


Figure 3: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on pregnancy rate in Galgamácsa (a) or in Kartal (b)

(1)pregnancy rate based on abdominal palpation, (2)1st repetition, (3) 2nd repetition, (4)total, (5)photostimulation (F), (6)DLS plus photostimulation (DF)

Az F nyulak fialási aránya Galgamácsán kiváló (87-89%), de Kartalon is jó volt (86%) (4. ábra). A DLS+fényprogrammal Galgamácsán ezt csak 0,7%-kal lehetett tovább javítani. Kartalon a DF nyulak fialása 2%-kal tűnt jobbnak (88%), mint az F nyulaké (86%).

4. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása a fialási arányra Galgamácsán (a) vagy Kartalon (b)

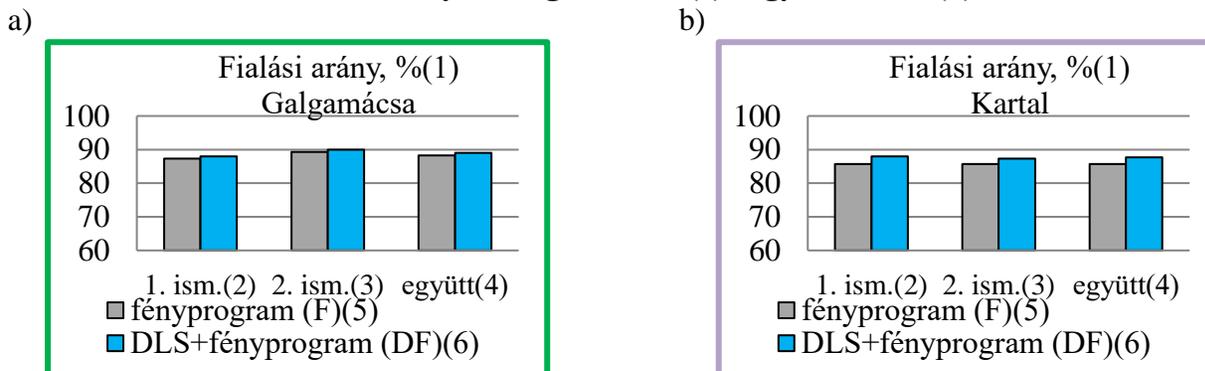


Figure 4: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on kindling rate in Galgamácsa (a) or in Kartal (b)

(1)kindling rate, (2)1st repetition, (3) 2nd repetition, (4)total, (5)photostimulation (F), (6)DLS plus photostimulation (DF)

Az összes születési alomlétszámra a telep, az ismétlés és a DLS+fényprogram is hatott (5. ábra). Galgamácsán népesebb almok születtek (13,1), mint Kartalon (11,4; $P < 0,05$). Galgamácsán a második ismétléskor, Kartalon az első ismétléskor volt nagyobb a születési alomlétszám. Mindkét telepen a DLS+fényprogrammal abban a termelési ciklusban nőtt 0,6 kisnyúllal a születési alomlétszám, amikor kisebb volt az összes születés. Galgamácsán a DLS+fényprogrammal átlagosan 0,4 kisnyúllal nőtt az összes születési alomlétszám a csak fényprogramhoz képest (13,3 és 12,9; $P < 0,05$).

5. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása az összes születési alomlétszámra Galgamácsán (a) vagy Kartalon (b)

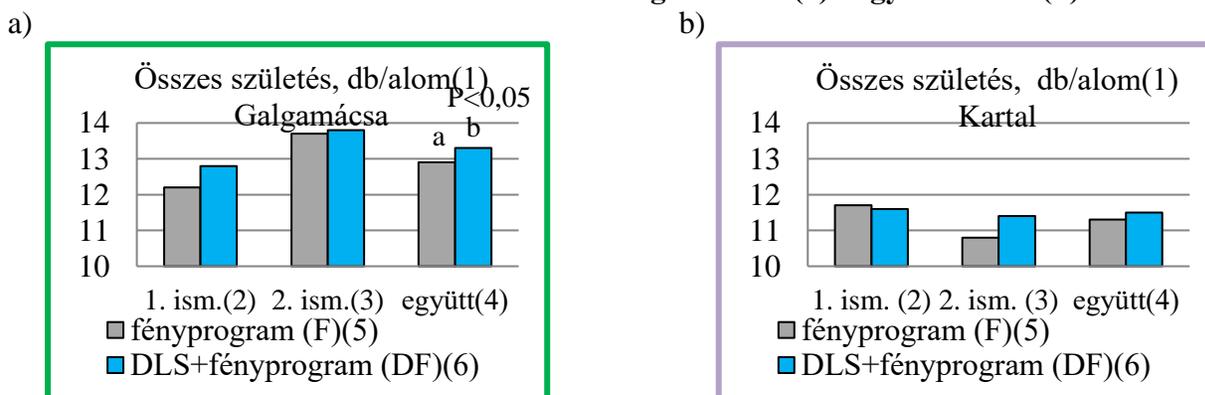


Figure 5: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on the number of total born kits per litter in Galgamácsa (a) or in Kartal (b)

(1) number of total born kits per litter, (2)1st repetition, (3) 2nd repetition, (4)total, (5)photostimulation (F), (6)DLS plus photostimulation (DF)

A produktivitás (6. ábra) csak fényprogrammal 17%-kal jobb volt Galgamácsán (1139 nyúl), mint Kartalon (968 nyúl), ami a jobb fialásnak és a nagyobb születési alomlétszámnak köszönhető. A produktivitásra az ismétlés is hatott. A DLS+fényprogrammal Galgamácsán és Kartalon is 1-7%-kal javítható volt a produktivitás, főleg amikor átlag alatti volt a termelés (Galgamácsa, első ismétlés: +6%, Kartal, második ismétlés: +7%).

6. ábra: A fényprogram (F) vagy az anya-alom elkülönítés és fényprogram (DF) hatása a produktivitásra (összes született nyúl/száz AI) Galgamácsán vagy Kartalon

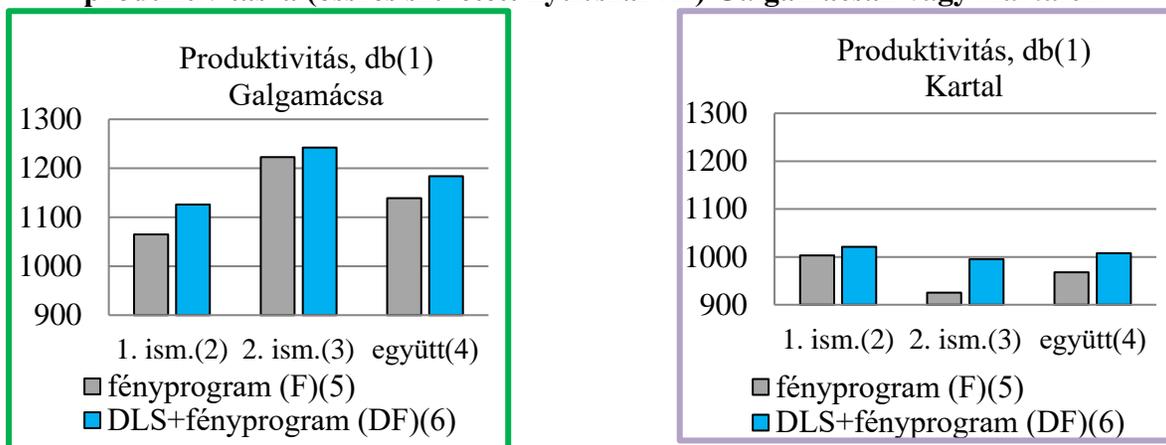


Figure 6: Effect of photostimulation (F) or DLS and photostimulation (DF) on productivity in Galgamácsa or in Kartal

(1)productivity: number of total born kits per 100 AI, (2)1st repetition, (3) 2nd repetition, (4)total, (5)photostimulation (F), (6)DLS plus photostimulation (DF)

Következtetések és javaslatok

Eredményeink szerint a termékenyítés előtti átmeneti anya-alom elkülönítés és a fényprogram, mint biostimuláció kölcsönös és pozitív hatással van az anyanyulak ivarzására és emiatt a termelésükre. A hatás mértéke ugyanakkor függ a telepi körülményektől és az adott termékenyítéskori hatásoktól.

A csak fényprogramhoz hasonlítva (telepi gyakorlat) a DLS+fényprogrammal a produktivitásban 1-7%-os javulás várható a telepi körülményektől és a termelési ciklustól függően. A DLS+fényprogram hatékonyabbnak tűnt átlag alatti termeléskor. Megjegyzendő, hogy Kartalon a második ismétléskor a DLS+fényprogram nyulaknál ugyan 3%-kal javult az ivarzási arány, ám a fialási arány átlag alatti volt. Ennek oka, hogy a lila ivarnyílású nyulak aránya nőtt, ami az irodalmi adatokkal összhangban nem feltétlenül kedvező.

Kísérletünkben nem volt célunk a nevelt alom termelésének a vizsgálatát. Azonban az átmeneti DLS, a megnövelt fényprogram és a korlátozott szoptatás tartama is hatással lehet az anyanyulak takarmányfogyasztására és tejtermelésére, az anyanyúl szoptatási és/vagy az alom szopási viselkedésére, befolyásolva a termelést, amit érdemes a továbbiakban megvizsgálni.

Köszönetnyilvánítás

A kutatást a KMR_12-1-2012-0195 pályázat támogatta.

Irodalomjegyzék

- Eiben Cs., Gódor-Surmann K., Kustos K.* (2013): Effect of a transitory controlled nursing on days 9–11 or a 24-h fast on the production of free-nursing rabbits. *Livest.Sci.*155, 148–156.
- Eiben Cs., Tóbiás G., Kustos K., Gódor-Surmann K., Kotány Sz., Gulyás B., Szira G.* (2007): The change of nursing for oestrus induction (biostimulation): effect of contact between rabbit doe and its young. *Livest.Sci.*111, 193–203.
- Eiben Cs., Sándor M., Sándor F., Kustos K.* (2016): Effect of photostimulation, light source and season on reproductive performance of rabbit does. *Proc. 11th World Rabbit Congress.* Qingdao, China, pp. 189–192
- García-Dalmán C., González-Mariscal G.* (2012): Major role of suckling stimulation for inhibition of estrous behaviors in lactating rabbits: Acute and chronic effects. *Horm. Behav.* 61, 108–113.
- Gerencsér Zs., Matics Zs., Nagy I., Radnai I., Szendrő É., Szendrő Zs.* (2012): Effect of lighting programme and nursing method on the production and nursing behaviour of rabbit does. *World Rabbit Sci.*, 20 (2), 103-116.
- González-Mariscal G., García-Dalmán C., Jiménez A.* (2015): Biostimulation and nursing modify mating-induced c-FOS immunoreactivity in the female rabbit forebrain. *Brain Research*, 1608, 66–74.
- Matics Zs., Gerencsér Zs., Radnai I., Dalle-Zolle A., Palumbo M., Mikó A., Kasza R., Szendrő Zs.* (2013): Effect of different lighting schedules (16L:8D or 12L:6D) on reproductive performance and nursing behaviour of rabbit does. *Livest Sci.*, 157, 545-551.
- Najjar A., Ben Aicha E., Ben Mrad M.* (2013): Receptivity of the rabbit doe: which methods that could be predictive for receptivity. *The Experiment*, 12 (3), 786-790.
- Quintela L., Peña A., Barrio M., Vega M.D., Diaz R., Maseda F., Garcia P.* (2001): Reproductive performance of multiparous rabbit lactating does: effect of lighting programs and PMSG use. *Reprod. Nutr. Dev.*, 41, 247-257.
- Schuh D., Hoy St., Selzer D.* (2005): Einfluss einer zeitweiligen Mutter-Wurf-Separierung auf das Verhalten der Häsin. *Proc. 14. Arbeitstagung über Haltung und Krankheiten der Kaninchen, Pelztiere und Heimtiere.* Celle, Germany, pp. 47–51
- Statgraphics®* (1992): Reference Manual, Version 6.0, Manugistics Inc., Rockville, MD, USA.
- Sun L., Wu Z., Li F., Liu L., Li J., Zhang D., Sun C.* (2017): Effect of light intensity on ovarian gene expression, reproductive performance and body weight of rabbit does. *Anim. Reprod. Sci.*, 183, 118-125.
- Szendrő Zs., Gerencsér Zs., McNitt J.I., Matics Zs.* (2016): Effect of lighting on rabbits and its role in rabbit production: A review. *Livest. Sci.*, 183, 12-18.
- Theau-Clément M.* (2007): Preparation of the rabbit doe to insemination: a review. *World Rabbit Sci.*, 15, 61-68.

ESTRUS DETECTION AND ITS IMPACT ON REPRODUCTIVE AND ECONOMIC PERFORMANCE IN LARGE DAIRY HERDS

István Fodor, László Ózsvári

Department of Veterinary Forensics, Law and Economics, University of Veterinary Medicine
Budapest, H-1078 Budapest, István utca 2.
fodor.istvan@univet.hu

Received – Érkezett: 02. 07. 2018.
Accepted – Elfogadva: 18. 02. 2019.

Abstract

Poor estrus expression is one of the major reasons of reproductive inefficiency on large dairy farms. Farm managers usually try to overcome this difficulty by using various estrus detection aids (e.g. pedometers, accelerometers, tail chalk), however, each method has its own limitations. Estrus detection aids generally lead to increased heat detection rate, better timing of inseminations relative to the time of ovulation, and ultimately, improved pregnancy rate. Some studies, however, did not find any benefit from the use of estrus detection aids, which is explained by (1) using the same rules on when to start inseminating heifers and cows as prior to the introduction of the new technology, and (2) by the widespread use of hormonal synchronization protocols that can potentially mask the effect of estrus detection aids. Economic outcome of the investment into estrus detection aids depends on the circumstances of the farm, although the reduction of labour cost can usually be expected. Despite efforts made towards the development of new estrus detection technologies, due to the high prevalence of anovular cows hormonal protocols are still required.

Keywords: dairy cattle, estrus detection, pedometer, activity monitoring, reproduction, economics

Az ivarzókeresés gyakorlata, ill. hatása a szaporodási és gazdasági eredményekre nagy létszámú tehenészetekben

Összefoglalás

Az ivarzási problémák jelentik az egyik legnagyobb akadályt a hatékony szaporodásbiológiai menedzselés előtt a nagy létszámú tejelő tehenészetekben. Ennek kiküszöbölésére a telepi menedzsment gyakran ivarzókeresési segédeszközöket (pl. lépésszámláló, aktivitásmérő, farokkrétázás) vezet be, azonban minden módszernek megvannak a maga korlátai. Az ivarzókeresési segédeszközök általában javítják az ivarzásmegfigyelési rátát, a termékenyítések időzítését az ovuláció időpontjához képest, ill. a vemhesülési rátát. Néhány kutatás azonban nem talált javulást az ivarzókeresési segédeszközök bevezetését követően, amit egyrészt annak tudtak be, hogy az üszők és tehenek termékenyítésére vonatkozó szabályokon nem változtattak az új technológia bevezetésével egyidőben, másrészt a hormonális ivarzás-szinkronizálási protokollok elfedhetik a segédeszközök nyújtotta előnyöket. Az ivarzókeresési segédeszközök beruházás-gazdaságossági vizsgálatai változatos eredményeket hoztak, mivel ezek jelentősen függenek az adott tehenészet körülményeitől, viszont általában várható a bérköltség csökkenése. Napjainkban is jelentős erőfeszítéseket tesznek új ivarzókeresési segédeszközök kifejlesztése érdekében, azonban az anovuláció gyakori előfordulása miatt továbbra is indokolt a hormonális ivarzás-szinkronizálási protokollok alkalmazása.

Kulcsszavak: tejelő szarvasmarha, ivarzókeresés, lépésszámláló, aktivitásmérő, szaporodás, gazdasági elemzés

The importance of estrus detection

Poor estrus expression is a major contributor to the decline in reproductive efficiency (Lucy, 2001). Efficient and accurate estrus detection is a key management factor in the success of reproductive programs using artificial insemination and in achieving acceptable reproductive results in the herd (Heersche and Nebel, 1994). Problems in estrus detection lead to increased days to first service and breeding interval, and will ultimately result in reduced pregnancy rate (Fricke et al., 2014; Michaelis et al., 2014). In their simulation study, De Vries and Conlin (2003) found that the temporary decrease of estrus detection rate affected the economic performance of the herd even several years later.

The cow in estrus

The name estrus comes from Greek and refers to the gnatfly (member of the Family *Oestridae*). The buzzing of this insect during summer causes that cows become hyperactive and show frenzied behaviour. The behavioural signs of estrus in cows are similar and can be classified as primary and secondary signs (Roelofs et al., 2010).

Standing to be mounted is the primary sign, as this is the most definite and accurate indicator of estrus. During standing estrus, cows stand to be mounted by other cows or more forward slightly with the weight of the mounting cow (Diskin and Sreenan, 2000).

However, various behavioural signs are displayed more (or more intensively) during estrus compared to those periods when the cow is not in estrus; these are the secondary signs of estrus. Secondary signs are often seen in those cows, as well, which come into estrus (in this case closer attention should be given to these cows in the next 48 hours), and in those that have been in estrus recently (in this case more attention should be paid to her 17-20 days later). Secondary signs increased significantly 1-3 hours before the beginning of standing estrus (Sveberg et al., 2011). The secondary signs of estrus include restlessness, increase in activity (in >90% of the estrus periods), mounting (in approximately 90% of the estrus periods), being mounted but not standing, hair loss and dirt marks caused by the frequent mounting by herd mates, decreased milk production (at the first milking after the onset of estrus, followed by a compensatory increase at subsequent milking), decreased feed intake, sniffing the vulva of another cow, flehmen, resting with the chin on the back of another cow, licking, rubbing, aggression, swelling and reddening of the vulva, discharge of clear mucus, and increase of the body temperature by 0.3-0.4°C (Diskin and Sreenan, 2000; Roelofs et al., 2010; Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018).

The detection of cows in estrus

Visual observation of estrus signs is one method of finding cows in estrus. However, many factors, such as the short duration and low intensity of estrus in modern dairy cows, increasing herd size, limited availability of labour time per cow, and the greatest activity of cows in estrus occurring in the early morning and late evening created the need for improving a wide variety of aids that may help the farm management to increase the success of estrus detection (Fricke et al., 2014; Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018). According to Senger (1994), the ideal system for the detection of estrus should have the following characteristics:

- continuous surveillance of the cow,
- accurate and automatic identification of the cow in estrus,

- operation for the productive lifetime of the cow,
- minimal labour requirements, and
- high (95%) accuracy and efficiency for identifying the physiological events of estrus or ovulation or both.
-

Visual estrus detection

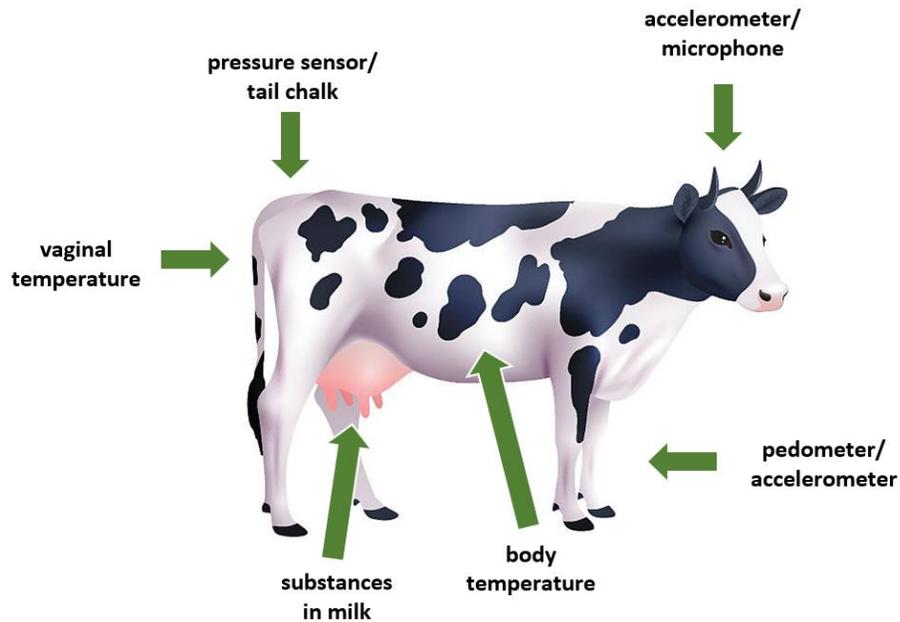
Modern dairy cows show fewer estrus signs with shorter duration, therefore, detecting cows in estrus is challenging (Dobson *et al.*, 2007). Timing, duration, frequency and the signs taken into account when observing cows for detection of estrus have large effect on estrus detection rate, moreover, record keeping of animals in estrus also plays a crucial role (Roelofs *et al.*, 2010). The rate of estrus detection based on the observation of standing estrus varies widely among farms (<50% to 90%). Since standing to be mounted can be observed only in 60% of estrus periods in recent studies, the secondary signs of estrus have to be taken into account, as well (Roelofs *et al.*, 2010). A scoring system was developed that enables farmers to detect cows in estrus without standing to be mounted (Van Eerdenburg *et al.*, 1996). Approximately one quarter of cows showed estrus with low intensity (<1.5 stands per hour) and short duration (<7 hours), therefore, detection of estrus is difficult if observed only twice daily for less than 30 minutes (Dransfield *et al.*, 1998). Thus, longer and more frequent observation is needed.

The role of the human factor in estrus observation is inevitable. Farm staff responsible for this activity should be fully committed to estrus observation and should understand signs of estrus (Michaelis *et al.*, 2014). Moreover, estrus observation is a very boring task, therefore, motivation of farm staff plays a crucial role, as well (Heersche and Nebel, 1994).

Estrus detection aids

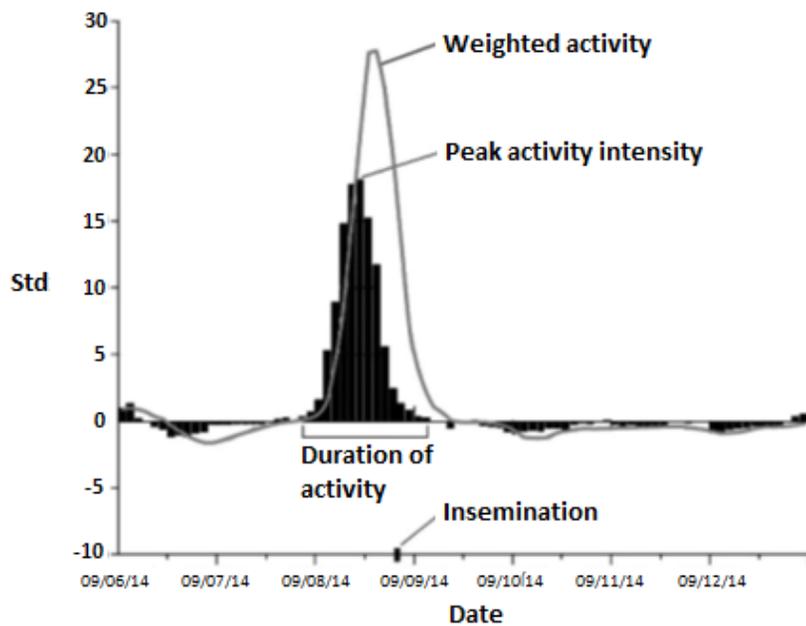
Due to the impact of estrus detection rate on reproductive performance and to the problems with visual estrus detection, technologies have been developed and marketed to farmers. These technologies enhance the detection of estrus by the surveillance of behaviour in the absence or in addition to visual observation (Fricke *et al.*, 2014). Some of the available technologies for estrus detection are summarized in *Figure 1*.

Figure 1. Estrus detection aids for dairy cattle



Increased activity of cows in estrus can be measured by pedometers and accelerometers (Figure 2). Pedometers calculate the change in the number of steps per unit of time. Accelerometers measure the acceleration forces in three dimensions (Fricke et al., 2014). Above a certain threshold, these devices indicate that the cow is in estrus.

Figure 2. Activity report for a cow in an activity monitoring system (Heatime; SCR Engineers Ltd, Netanya, Israel)



Source: Valenza et al. (2012)

The efficiency of pedometers and activity monitoring devices has been subject to intensive research. An estrus detection rate of >80% can be often achieved by using pedometers, but the efficiency is affected by the threshold used. Accuracy of these systems is 49-90% according to previous reports (Roelofs *et al.*, 2010). The large variation among farms was confirmed by Galon (2010), as well. Research conducted on Canadian dairy farms found that the major drivers for adopting an activity monitoring system were the desire to improve reproductive performance and the opinions and experiences of other farmers (Neves and LeBlanc, 2015).

Tail chanks are the non-electronic variants of mount detection devices (Roelofs *et al.*, 2010). The chalk is applied to the tailhead of cows, and when they are being mounted by their herdmates, the chalk is rubbed off. Detection rates using mount detection devices varies from <50% to >85%.

In the future, one of the possible ways of improving estrus detection can be inline milk sensors that measure hormones or substances secreted in milk. More than 40% of cows were inseminated at high progesterone levels (Nebel *et al.*, 1987). Although high progesterone levels indicate inappropriate time for insemination, low progesterone indicates only that the cow is in follicular phase, therefore, low progesterone levels should not be used to determine the time of insemination (Heersche and Nebel, 1994). The decrease of the level of progesterone indicates luteolysis, however, the interval from luteolysis to ovulation varies widely, therefore, this hormone is not a good candidate for determining the optimal time of insemination in itself. Combined measurements of progesterone and estradiol could improve timing of AI (Fricke *et al.*, 2014).

Several further possibilities exist for the detection of cows in estrus. Cow positioning can be measured by using ultra-wideband radio technology (UWB) that allows for the detection of both standing-to-be-mounted and mounting behaviours (Homer *et al.*, 2013). The rise of body temperature at the time of estrus can be monitored by temperature sensors either placed in the vagina or in the reticulum (Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018). An estrus detection system measuring vaginal temperature outperformed pedometers in terms of heat detection rate (Sakatani *et al.*, 2016). Furthermore, a sound processing system has been developed that can detect estrus by >94% accuracy (Chung *et al.*, 2013). The great variety of possibilities regarding estrus detection is also indicated by dogs (with previous experience in detection of explosives) being capable of differentiating estrus vs. non-estrus cows with >80% accuracy (Kiddy *et al.*, 1978). However, most of these methods require further studies to evaluate their applicability and efficiency among practical circumstances.

Factors influencing estrus detection

Cow factors

1. *Heritability*. The degree of estrus expression has a low heritability ($h^2=0.21$) and varies individually, even from one estrus to another within the same cow (Roelofs *et al.*, 2010).
2. *Postpartum period*. In the US, 20-30% of high producing cows are anovular at 60-75 DIM (the time coinciding with the end of the VWP). These cows will not be detected by any means of estrus detection. Silent ovulations occur quite frequently, as well, since 35% of cows not detected in estrus had an ovulation. In few cases increase of activity is detected, but ovulation does not occur (Fricke *et al.*, 2014; Roelofs *et al.*, 2010; Valenza *et al.*, 2012).
3. *Number of lactations*. Behavioural scores and activity are higher in primiparous than in multiparous cows, however, the number of standing estrus events increases with parity (Garcia *et al.*, 2011; Madureira *et al.*, 2015; Roelofs *et al.*, 2010; Yániz *et al.*, 2006).

4. *Milk yield.* A weak antagonism between milk production and estrus expression exists (Diskin and Sreenan, 2000; Yániz et al., 2006).
5. *Body condition score (BCS).* Cows with higher BCS at the time of estrus are more likely to be detected (Kovács et al., 2010; Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018).
6. *Lameness.* Feet and leg problems lead to less mounting and fewer standing estrus events, but lame cows may well stand when not in estrus, if it is too painful for them to escape from the mounting cow (Diskin and Sreenan, 2000; Roelofs et al., 2010). In the study of Garcia et al. (2011) no significant association between lameness and estrus intensity was found, however, lameness reduced the odds of pregnancy.
7. *Hormonal treatments.* A higher level of progesterone prior to estrus increases the sensitivity to estradiol, which, in turn, has a positive effect on estrus expression. No difference was found between the duration of PGF-induced and spontaneous estrus (Roelofs et al., 2010).

Environmental factors

1. *Bull.* The interval between calving and the onset of estrus can be shortened by the presence of a bull (Roelofs et al., 2010).
2. *Nutrition.* Negative energy balance has a negative effect on estrus expression. Similarly, lower body condition score decreases activity and the duration of estrus (Madureira et al., 2015; Roelofs et al., 2010).
3. *Weather.* Heavy rain, strong wind and high relative humidity suppresses estrus behaviour (Roelofs et al., 2010; Yániz et al., 2006).
4. *Circadian variation.* Estrus behaviour is more frequent from late evening until early morning, however, management has a large influence (e.g. feeding, milking) (Diskin and Sreenan, 2000; Roelofs et al., 2010).
5. *Housing.* Confinement housing with concrete floors has reduced estrus expression of modern dairy cows. However, rubber mats on concrete promote estrus behaviour (Lucy, 2001; Roelofs et al., 2010).
6. *Herdmates.* Estrus expression increases largely as the number of cows simultaneously in estrus increases (Diskin and Sreenan, 2000; Roelofs et al., 2010; Yániz et al., 2006).

Timing of insemination

The interval from insemination to ovulation is critical for optimizing conception risk (Fricke et al., 2014; Répási et al., 2014). Early studies based on frequent estrus detection (4-12 times per day) and insemination at standing estrus (not taking secondary estrus signs into account) found that the best conception risk was achieved when inseminations were performed a few hours after the end of the standing behaviour. Based on these results, the a.m.-p.m rule was developed as a guide for farmers. This means that if cows are observed in standing estrus in the morning, they should be inseminated in the afternoon, and if seen in estrus in the afternoon, they should be inseminated next morning. With proper estrus detection, the a.m.-p.m. rule can be used, however, if conception risk is not satisfactory, or estrus is not routinely detected, cows should be inseminated soon after they are first detected in estrus (Roelofs et al., 2010). When cows are inseminated 0-12 hours after ovulation, fertilization rate and embryo quality are reduced due to the aging of the oocyte, however, when insemination is performed >24 hours before ovulation, fertilization rates are high, but embryo quality is low, possibly due to the aging of the sperm cells (Fricke et al., 2014).

Automated estrus detection aids may help to optimize the timing of insemination (Chebel and Ribeiro, 2016). Cows ovulated 27-30 hours (range: 21-39 hours) after estrus detection by

activity monitoring systems, on average, whereas conception risk was the highest with inseminations performed 5-18 hours after the estrus alert (Roelofs *et al.*, 2015). For farms relying on activity monitoring for timing of insemination, Fricke *et al.* (2014) suggested that they generate list of cows and perform insemination twice per day rather than only once, to minimize variation from insemination to ovulation that could potentially reduce conception risk.

Impact of estrus detection aids and economic considerations

The most prevalent reason (81% of the responding herds) for introducing an automated activity monitoring system was the desire to improve reproductive performance. In the same study, 51% of the respondents indicated lack of time to detect estrus and 39% indicated the desire to reduce labour as the reason of adopting such a system (Neves and LeBlanc, 2015). Other studies found that the primary reasons for implementing sensor systems (e.g. for reproductive purposes) were the reduction of labour and the facilitation of management (Steenefeld *et al.*, 2015b). However, the lack of familiarity and the interpretation of the huge amount of data are the major obstacles to the uptake of these systems (Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018).

Reproductive performance of the year before vs. the year after the implementation of automated estrus detection systems was compared in 505 dairy herds in Canada. The improvement of the heat detection rate (from 42% to 50%) led to the increase of pregnancy rate (from 15% to 17%) after the adoption of estrus detection aids, however, no change in the conception risk was detected (Neves and LeBlanc, 2015). In the Netherlands, the uptake of sensor systems did not have a positive effect on first calving age, days to first service and milk production (Steenefeld *et al.*, 2015b). On large Hungarian dairy farms, the use of estrus detection aids in heifers was related to reduced age at first service and age at first calving, and the probability of pregnancy at 20 months of age tended to be higher in these herds, as well (Fodor *et al.*, 2018b). However, no difference was found between those farms that used and those that did not use estrus detection aids in cows (Fodor *et al.*, 2018a). In a simulation study, however, it was found that the introduction of activity meters reduces calving interval and improves annual milk production (Rutten *et al.*, 2014). The lack of effect of estrus detection aids in some studies were explained by (1) using the same rules on when to start inseminating as before implementing the new technology and (2) the widespread use of hormonal synchronization protocols that can mask the effect of estrus detection aids (Fodor *et al.*, 2018a; Steenefeld *et al.*, 2015b).

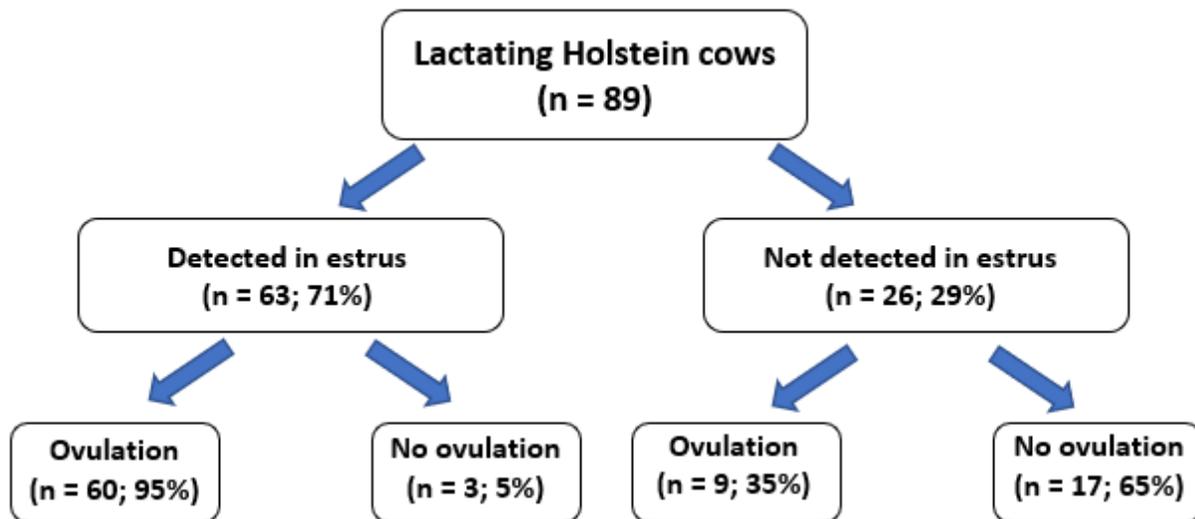
When the dairy farms introduce a reproductive management tool, they have to take into account the costs related to the implementation of the technology and the cost of maintenance, as well (Fodor and Ózsvári, 2018; Fodor *et al.*, 2016). Chebel and Ribeiro (2016) stated that the cost of estrus detection aids can be compensated for by the improvement of reproductive performance, especially in those herds where heat detection rate and conception risk are poor. In a simulated 130-cow herd the annual net cash flow increased by 2,827 EUR after the implementation of an activity meter system, and the internal rate of return (IRR) of the investment was 11% (Rutten *et al.*, 2014). On farms performing automated milking the total capital costs and total revenues increased after the adoption of sensor systems, however, labour costs and all variable costs did not change significantly (Steenefeld *et al.*, 2015a). In another study, the payback period of an automated estrus detection system ranged from 1.6 to >10 years (Dolecheck *et al.*, 2016). Labour cost is an important issue in the decision to invest into estrus detection aids (Steenefeld *et al.*, 2015a).

Estrus detection and hormonal synchronization

In practice estrus detection is often combined with synchronization protocols. The introduction of estrus detection aids influences the expenditures on hormonal synchronization protocols. Considering the hormonal protocols, the major cost factors are the cost of labour and the cost of drugs (Fodor et al., 2014). The use of estrus detection aids could be an alternative to hormonal synchronization, however, those cows that do not display estrus will not be detected by these methods (Chebel and Ribeiro, 2016; Saint-Dizier and Chastant-Maillard, 2018). Activity monitoring systems do not detect two subpopulations of cows: anovular cows and those cows that ovulated but their activity did not increase detectably (Figure 3) (Fricke et al., 2014).

Until the mechanisms causing anovulation and silent ovulation are understood and effective preventive measures are introduced, hormonal therapy will be required to deal with these cows (Fricke et al., 2014). The economic outcome of the combined synchronization and estrus detection programmes depends on the conception risk to estrus detection and to timed insemination, as well as on the proportion of cows being inseminated to detected estrus (Fricke et al., 2014; Giordano et al., 2012). However, farm managers are often not aware of the economic losses stemming from the suboptimal reproductive parameters, and are, therefore, unable to weigh the costs of investment or change in management against its potential benefit (Tóth et al., 2006). When conception risk to detected estrus is poor, involving cows in a hormonal synchronization protocol can be a profitable approach.

Figure 3. Distribution of cows by estrus activity and ovulation



Based on the results of Valenza et al. (2012)

Acknowledgements

The Project was supported by the European Union and co-financed by the European Social Fund: (1) EFOP-3.6.1-16-2016-00024 ‘Innovations for Intelligent Specialisation on the University of Veterinary Science and the Faculty of Agricultural and Food Sciences of the Széchenyi István University Cooperation’; (2) EFOP-3.6.2-16-2017-00012 ‘Development of a product chain model for functional, healthy and safe foods from farm to fork based on a thematic research network’; and (3) EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005 ‘Strengthening the scientific replacement by supporting the academic workshops and programs of students, developing a mentoring process’.

References

- Chebel, R. C., Ribeiro, E. S.* (2016): Reproductive Systems for North American Dairy Cattle Herds. *Vet. Clin. N. Am.-Food A.*, 32. 267–284.
- Chung, Y., Lee, J., Oh, S., Park, D., Chang, H. H., Kim, S.* (2013): Automatic detection of cow’s oestrus in audio surveillance system. *Asian Austral. J. Anim.*, 26. 1030–1037.
- de Vries, A., Conlin, B. J.* (2003): Economic value of timely determination of unexpected decreases in detection of estrus using control charts. *J. Dairy Sci.*, 86. 3516–3526.
- Diskin, M. G., Sreenan, J. M.* (2000): Expression and detection of oestrus in cattle. *Reprod. Nutr. Dev.*, 40. 481–491.
- Dobson, H., Smith, R. F., Knight, C. H., Sheldon, I. M.* (2007): The High-producing Dairy Cow and its Reproductive Performance Defining the Problem with respect to Milk Yield. *Reprod. Domes. Anim.*, 42(Suppl.2), 17–23.
- Dolecheck, K. A., Heersche, G., Bewley, J. M.* (2016): Retention payoff-based cost per day open regression equations: Application in a user-friendly decision support tool for investment analysis of automated estrus detection technologies. *J. Dairy Sci.*, 99. 10182–10193.
- Dransfield, M. B. G., Nebel, R. L., Pearson, R. E., Warnick, L. D.* (1998): Timing of Insemination for Dairy Cows Identified in Estrus by a Radiotelemetric Estrus Detection System. *J. Dairy Sci.*, 81. 1874–1882.
- Fodor, I., Abonyi-Tóth, Zs., Ózsvári, L.* (2018a): Management practices associated with reproductive performance in Holstein cows on large commercial dairy farms. *Animal*, 12. 2401–2406.
- Fodor, I., Baumgartner, W., Abonyi-Tóth, Z., Lang, Z., Ózsvári, L.* (2018b): Associations between management practices and major reproductive parameters of Holstein-Friesian replacement heifers. *Anim. Reprod. Sci.*, 188. 114–122.
- Fodor, I., Cziger, Zs., Ózsvári, L.* (2016): Economic analysis of the application of reproductive ultrasound examinations on a large-scale dairy farm. *Magy. Állatorvosok Lapja*, 138. 515–522. (in Hungarian with English abstract)
- Fodor, I., Ózsvári, L.* (2018): Early pregnancy diagnosis on large dairy farms and its role in improving profitability. *Animal welfare, ethology and housing systems*, 14. 22–36.
- Fodor, I., Szerémi, Z., Ózsvári, L.* (2014): Economic consequences of different reproductive managements in Hungarian large-scale dairy herds. In: *Szenci, O., Brydl, E.* (eds.): XXIV. International Congress of Hungarian Association for Buiatrics, 15-18. October 2014, Hajdúszoboszló, Hungary. 159–165. (in Hungarian with English abstract)
- Fricke, P. M., Carvalho, P. D., Giordano, J. O., Valenza, A., Lopes, G., Amundson, M. C.* (2014): Expression and detection of estrus in dairy cows: the role of new technologies. *Animal*, 8. 134–143.



- Galon, N.* (2010): The use of pedometry for estrus detection in dairy cows in Israel. *J. Reprod. Develop.*, 56. S48–S52.
- Garcia, E., Hultgren, J., Fällman, P., Geust, J., Algers, B., Stilwell, G., Gunnarsson, S., Rodriguez-Martinez, H.* (2011): Oestrous intensity is positively associated with reproductive outcome in high-producing dairy cows. *Livest. Sci.*, 139. 191–195.
- Giordano, J. O., Kalantari, A. S., Fricke, P. M., Wiltbank, M. C., Cabrera, V. E.* (2012): A daily herd Markov-chain model to study the reproductive and economic impact of reproductive programs combining timed artificial insemination and estrus detection. *J. Dairy Sci.*, 95. 5442–5460.
- Heersche, G., Nebel, R. L.* (1994): Measuring Efficiency and Accuracy of Detection of Estrus. *J. Dairy Sci.*, 77. 2754–2761.
- Homer, E. M., Gao, Y., Meng, X., Dodson, A., Webb, R., Garnsworthy, P. C.* (2013): Technical note: A novel approach to the detection of estrus in dairy cows using ultra-wideband technology. *J. Dairy Sci.*, 96. 6529–6534.
- Kiddy, C. A., Mitchell, D. S., Bolt, D. J., Hawk, H. W.* (1978): Detection of estrus-related odors in cows by trained dogs. *Biol. Reprod.*, 19. 389–395.
- Kovács L., Szélényi Z., Szentléleki A., Tózsér J., Szenci O.* (2010): Role of environmental and other factors as the causes of embryonal and foetal mortality in dairy cattle. *AWETH*, 6. 154–176.
- Lucy, M. C.* (2001): Reproductive Loss in High-Producing Dairy Cattle: Where Will It End? *J. Dairy Sci.*, 84. 1277–1293.
- Madureira, A. M. L., Silper, B. F., Burnett, T. A., Polsky, L., Cruppe, L. H., Veira, D. M., Vasconcelos, J. L., Cerri, R. L. A.* (2015): Factors affecting expression of estrus measured by activity monitors and conception risk of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 98. 7003–7014.
- Michaelis, I., Burfeind, O., Heuwieser, W.* (2014): Evaluation of oestrous detection in dairy cattle comparing an automated activity monitoring system to visual observation. *Reprod. Domest. Anim.*, 49. 621–628.
- Nebel, R. L., Whittier, W. D., Casell, B. G., Britt, J. H.* (1987): Comparison of On-Farm and Laboratory Milk Progesterone Assays for Identifying Errors in Detection of Estrus and Diagnosis of Pregnancy. *J. Dairy Sci.*, 70. 1471–1476.
- Neves, R. C., LeBlanc, S. J.* (2015): Reproductive management practices and performance of Canadian dairy herds using automated activity-monitoring systems. *J. Dairy Sci.*, 98. 2801–2811.
- Répási, A., Szélényi, Z., Reiczigel, J., Bajcsy, Á. C., Horváth, A., Szenci, O.* (2014): Control of ovulation after prostaglandin treatment by means of ultrasonography and effect of the time of ovulation. *Acta Vet. Hung.*, 62. 74–83.
- Roelofs, J., López-Gatius, F., Hunter, R. H. F., van Eerdenburg, F. J. C. M., Hanzen, C.* (2010): When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology*, 74. 327–344.
- Roelofs, J., van Erp-van der Kooij, E.* (2015): Estrus detection tools and their applicability in cattle: recent and perspectival situation. *Anim. Reprod.*, 12. 498–504.
- Rutten, C. J., Steeneveld, W., Inchaisri, C., Hogeveen, H.* (2014): An ex ante analysis on the use of activity meters for automated estrus detection: To invest or not to invest? *J. Dairy Sci.*, 97. 6869–6887.
- Saint-Dizier, M., Chastant-Maillard, S.* (2018): Potential of connected devices to optimize cattle reproduction. *Theriogenology*, 112. 53–62.



- Sakatani, M., Takahashi, M., Takenouchi, N.* (2016): The efficiency of vaginal temperature measurement for detection of estrus in Japanese Black cows. *J. Reprod. Develop.*, 62. 201–207.
- Senger, P. L.* (1994): The Estrus Detection Problem: New Concepts, Technologies, and Possibilities. *J. Dairy Sci.*, 77. 2745–2753.
- Steenefeld, W., Hogeveen, H., Oude Lansink, A. G. J. M.* (2015a): Economic consequences of investing in sensor systems on dairy farms. *Comput. Electron. Agr.*, 119. 33–39.
- Steenefeld, W., Vernooij, J. C. M., Hogeveen, H.* (2015b): Effect of sensor systems for cow management on milk production, somatic cell count, and reproduction. *J. Dairy Sci.*, 98. 3896–3905.
- Sveberg, G., Refsdal, A. O., Erhard, H. W., Kommisrud, E., Aldrin, M., Tvette, I. F., Buckley, F., Waldmann, A., Ropstad, E.* (2011): Behavior of lactating Holstein-Friesian cows during spontaneous cycles of estrus. *J. Dairy Sci.*, 94. 1289–1301.
- Tóth, F., Gábor, Gy., Mézes, M., Váradi, É., Ózsvári, L., Sasser, R. G., Abonyi-Tóth, Zs.* (2006): Improving the reproductive efficiency by zoo-technical methods at a dairy farm. *Reprod. Dom. Anim.*, 41. 184–188.
- Valenza, A., Giordano, J. O., Lopes, G., Vincenti, L., Amundson, M. C., Fricke, P. M.* (2012): Assessment of an accelerometer system for detection of estrus and treatment with gonadotropin-releasing hormone at the time of insemination in lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 95. 7115–7127.
- Van Eerdenburg, F. J. C. M., Loeffler, H. S. H., van Vliet, J. H.* (1996): Detection of oestrus in dairy cows: A new approach to an old problem. *Vet. Quart.*, 18. 52–54.
- Yániz, J. L., Santolaria, P., Giribet, A., López-Gatius, F.* (2006): Factors affecting walking activity at estrus during postpartum period and subsequent fertility in dairy cows. *Theriogenology*, 66. 1943–1950.



TOJÁS MINŐSÉGÉNEK ÉS A HÉJ REPEDÉSÉNEK RONCSOLÁSMENTES VIZSGÁLATA

*Kertész István¹, Zsomné Muha Viktória¹, Zsom Tamás², András Rebeka¹, Nagy
Dávid¹, Felföldi József¹*

Szent István Egyetem, Élelmiszertudományi Kar ¹Fizika-Automatika Tanszék, ²Árúkezelési és
Érzékszervi Minősítési Tanszék, 1118 Budapest, Villányi út 29-43.

kertesz.istvan@etk.szie.hu

Received – Érkezett: 03. 11. 2017.
Accepted – Elfogadva: 28. 03. 2019.

Összefoglalás

Kísérletünk célja a tyúktojás minőségének jellemzése, illetve a héjának repedésvizsgálata volt akusztikus módszerrel. A mérés során összesen 150 tojás került vizsgálatra. A mintákat 7 héten keresztül szobahőmérsékleten tároltuk. A minták megütése (kis energiájú akusztikus gerjesztése) 2 pozícióban (állítva, illetve fektetve) történt. A kapott jel spektruma és wavelet transzformáltja került elemzésre. Az előfeldolgozást követően kapott adatokat használtuk bemeneti változókként a mért fizikai paraméter becslésére. Ehhez PLS regressziót (Partial Least Squares Regression) használtunk. Az illeszkedés jóságát mutató (goodness-of-fit, GoF) statisztika segítségével határoztuk meg a módszerek alkalmazhatóságát. Spektrális adatok alapján a mintákat a repedés jelenléte és a kor alapján csoportosítottuk, ehhez lineáris diszkriminancia analízist (LDA) használtunk. Minden becslés 10-szeres keresztvalidációval történt. A legjobb becslést a tömegre kaptuk, abban az esetben, amikor a tojás csúcsi részre állva került megütésre. Az optimális jelfeldolgozással kapott paraméterek alapján a minták 100%-osan csoportosíthatók voltak a repedés jelenléte, illetve a tojás tárolási ideje alapján.

Kulcsszavak: akusztikus, tojás, repedés

NON-DESTRUCTIVE QUALITY EVALUATION AND CRACK DETECTION OF EGGS

Abstract

Our aims were the examination of the quality parameters of hen eggs and crack detection carried out by the use of the acoustic response technique. Altogether 150 eggs were tested during the measurement. The samples were stored for 7 weeks at ambient (room) temperature. The samples were excited in two positions (upright and horizontal). The received signal spectra and their wavelet transformations were analyzed. After the preprocessing, the obtained coefficients were used as input variables for the estimation of the physical parameters by partial least squares regression. Goodness of fit (GoF) statistics were used to evaluate the applicability of the method. Spectral data were used for classification by crack presence and age by linear discriminant analysis. Every estimation was validated by 10-fold cross-validation. Best approximations were achieved for mass in case of measured in the upright position of the egg sample. With the optimum signal processing parameters the samples can be classified 100% correctly for crack detection and age estimation as well.

Keywords: acoustic, eggshell, crack

Irodalmi áttekintés

A tojás élettani szempontból jelentős élelmiszer köszönhetően magas tápértékének, valamint a benne lévő vitaminoknak és ásványi anyagoknak. Az előbb említett tulajdonságok miatt a fogyasztói igény egyre nő a tojás iránt. Ezért a roncsolásmentes vizsgálati módszerek fejlesztése kiemelkedő fontossággal bír, hogy becsülhessük a tojás fizikai paramétereit, illetve minőségét. Ilyen vizsgálandó tulajdonságok lehetnek például a tojáshéj épségének vizsgálata (repedések jelenléte) valamint a tojás fehérje-sárgája arányának meghatározása. Ezen jellemzők közül több is ipari jelentőséggel bír, pl. a tojáshéjnak, mint a tojáspor előállítás melléktermékének további gazdasági értéke van, köszönhetően annak, hogy hozzáadott értékű termék állítható elő belőle. A tojás bizonyos paramétereit összefüggésben állnak a minőséggel, későbbi felhasználhatósággal, értékesíthetőséggel, amely változik a tárolás során, ilyen például a légkamara mérete, a tojásfehérje viszkozitása és összetétele, ezért fontos ismerni a tojás korát.

Zhang és mtsai (2015) hiperspektrális képalkotás módszerével vizsgálták a tojás frissességét. A frissesség becslés jóságát leíró RMSEP% (Root Mean Squared Error of Prediction) statisztikai jellemző 4,01% volt, a légkamra méretének és a tojás sárgája épségének meghatározására Support Vector Machine (SVM) módszert használtak, melynek pontossága 90,0% volt légkamra esetében és 96,3% volt a sárgája épsége esetében. Az akusztikus mérési módszer alkalmas arra, hogy roncsolásmentesen információt kapjunk a minta belső tulajdonságairól (Zsom-Muha et al., 2007). Pan et al. (2005) a tojások rezonancia frekvenciáját vizsgálták a tojás középvonalát ért mechanikai behatás után és 87%-os eredményt értek el repedés detektálása során. Hasonló eredményt (87,5%-ot) értek el Zhu és mtsai (2012) akusztikus módszert használva, a sérült és ép minták szétválasztását a Bayes-tétel alapján végezték. Cho és mtsai (2000) is kifejlesztettek egy algoritmust a tojáshéj repedésének detektálására, ami az akusztikus jellemzők alapján diszkriminancia analízist alkalmazásával. Ép tojás esetében 6%-os, és repedt tojás esetében 4%-os osztályozási hibát értek el. Egy érdekes kísérleti módszert használtak a repedés vizsgálatára Jin és mtsai (2015), akik a tojásminták gerjesztését 7 lépcsős elrendezésben valósították meg, melyeken a minták legördültek, így nem volt szükség külső gerjesztésre és a fizikai erőhatás mértéke azonos volt. Ez a mérési elrendezés az ipari megvalósíthatóságot és az egyszerű kivitelezhetőséget helyezte előtérbe. Ezzel az elrendezéssel képesek voltak meghatározni az optimális lépcsőszámot a kívánt osztályozási pontosság eléréséhez, de csak 90%-os helyes osztályozást értek el Mahalanobis-távolság alapján, a módszer azonban további algoritmikus finomítás segítségével tovább javítható.

Általános probléma a fent idézett cikkekkel kapcsolatban, hogy nem publikálták a validációs eredményeket, ezért megbízható következtések nem vonhatók le az alkalmazhatóságot illetően. Bain és mtsai (2016) publikációjukban a dinamikus keménységvizsgálaton (K_{dyn}) alapuló módszer ipari alkalmazhatóságát vizsgálták tojáshéj repedésének azonosítására. Megállapították, hogy a ténylegesen repedt tojások száma kétszer annyi volt, mint a termelő által becsült érték. Attar és Fathi (2014) mérték a tojáshéj, fehérje és sárgája rezonancia frekvenciáját, a rezonancia frekvencia és a tojáshéj szilárdsága között a korreláció 0,97-nek, a rezonancia frekvencia és a keménység között a korreláció 0,91-nek bizonyult.

A folyamatosan fejlődő számítási kapacitási háttérnek köszönhetően az úgynevezett „wavelet-transzformáción” alapuló módszerek egyre jobban teret hódítanak. Li és mtsai (2012) a tojáshéj repedésének vizsgálatára egy wavelet-transzformáción és bayesi diszkriminancián alapuló módszert fejlesztettek ki MATLAB környezetben. A szerzők azonban nem publikálták a módszerük megbízhatóságát, cikkükben mindössze azt közölték, hogy az eredmények kielégítőek voltak és a helyes csoportba sorolás mértéke 95% feletti volt. Hasonlóan Deng és mtsai (2010)

wavelet-transzformáció alapú repedés meghatározást és SVM szétválasztást végeztek és csak a maximális repedésdetektálási pontosságot (98,9%) közölték.

A vizsgálatunk célja annak a meghatározása, hogy a tojás milyen minőségi paraméterei és mekkora megbízhatósággal becsülhetők roncsolásmentes akusztikus vizsgálattal és többváltozós statisztikai módszerekkel.

Anyag és módszer

150 darab repedésmentes, 53 és 63 g közötti tömegű tojás vizsgálatát végeztük, melyek tárolása 21-23°C hőmérsékleten, 50-70%-os relatív páratartalom mellett történt álló pozícióban (légkamrával lefelé). A minták alakját számítógépes látórendszerrel határoztuk meg, az ezt leíró alak tulajdonsági mutatószámok kinyerésével (ovalitás, excentricitás). A rendelkezésre álló tojásokat minden héten akusztikus vizsgálatnak vetettük alá, majd közülük hetente 20 darabot roncsolásos vizsgálati módszerekkel is megmértünk, így hetente 20-szal csökkent a minták száma. A roncsolásos vizsgálat során mikrorepedést hoztunk létre a minták légkamrával szemközi csúcsán, így is elvégezve az akusztikus mérést. Az akusztikus vizsgálat során a gerjesztést egy üreges fémpálcával, egyszeri megütéssel végeztük a mintákat egy hangszigetelő szivacsra helyezve, álló és fekvő pozíciókban (1. ábra). Az ütés által gerjesztett hangot a szivacsba vágott üregbe helyezett mikrofonnal vettük fel, amelyet egy Hewlett-Packard 53670A jelanalizátorra kötöttünk, az ebből érkező jelet pedig egy számítógépen rögzítettük 96 kHz-es mintavételezéssel, veszteségmentes formátumban. A hangfájlokat MATLAB R2012a környezetben fejlesztett célprogrammal elemeztük.

1. ábra: Kísérleti elrendezés, a szaggatott vonal a minta fekvő, a folytonos vonal a minta álló pozícióját jelzi

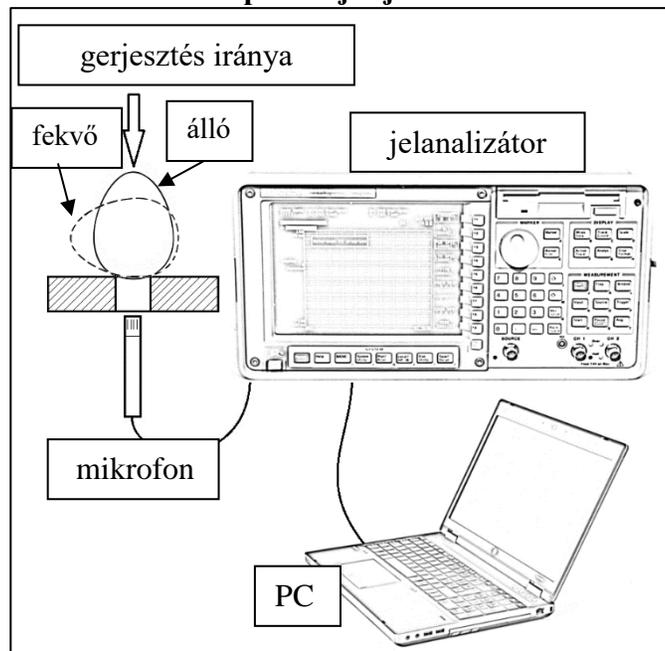


Figure 1: Experimental setup, dashed line shows horizontal, continuous line shows the upright position of the sample

A tojás ovalitása a hossz és szélesség arányaként került meghatározásra, míg az excentricitás azon pont által a hossz tengelyen kijelölt két szakasz arányát jelöli, ahol a legnagyobb átmérő elmetszi a hossz tengelyt. Mivel ezen mérőszámok becslése nem hozott jó eredményt, a rájuk vonatkozó eredményeket nem szerepeltettük az eredményeket összefoglaló táblázatban. Az apadás a minta teljes tömegéhez viszonyított százalékos veszteséget mutatja (g/g%). A tojás héj vastagsága tolómérő segítségével, mintánként három párhuzamos méréssel került meghatározásra, a fehérje szárazanyag-tartalmát 105°C-on, 8 óra hosszú szárítószekrényben történő szárítással állapítottuk meg.

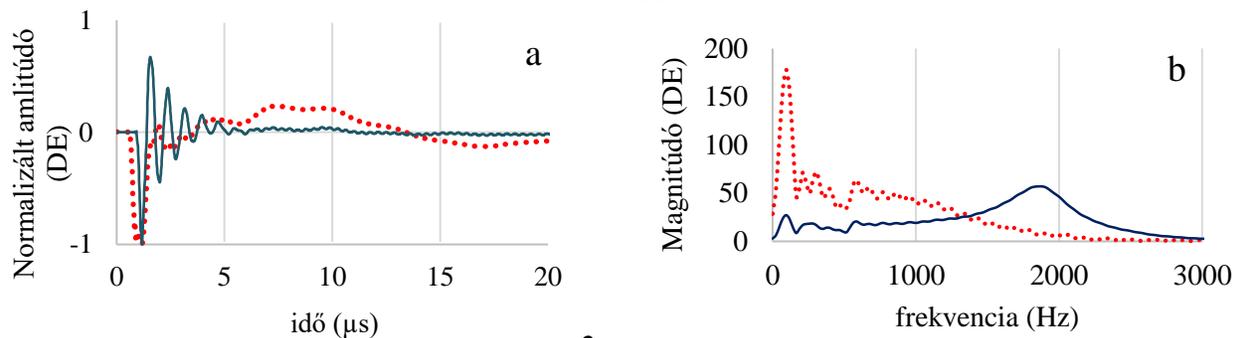
A hangfájlok feldolgozását egy wavelet-alapú zajszűréssel kezdtük, ehhez a MATLAB egy beépített függvényét használtuk, melynek paraméterezését a vizsgált jeleknek megfelelően optimalizáltuk. Ezt követően gyors Fourier-transzformációval (FFT) kinyertük a Fourier-együtthatókat az álló és fekvő pozíciókra, 0 és 3000 Hz közötti tartományon 512 adatpontot kinyerve, ezeket PLS regresszióhoz bemenő paraméterekként használtuk fel a vizsgált jellemzők becslésére. A jeleken folytonos wavelet-dekompozíciót végeztünk lineáris méretnövelésű Paul anyawaveletek alkalmazásával, majd a kinyert wavelet-együtthatókat vektorba rendezve főkomponens-analízist végeztünk. Ezek közül kiválasztottuk azt az 512-t, amely a variancia legnagyobb részét leírta, és eszerint csökkenő sorba rendezve használtuk fel őket a későbbiekben PLS regresszióra. A regressziós modell illeszkedésének jóságának vizsgálatát korrigált R^2 , RMSEP%, RMSECV% (kereszt-validáció átlagos eltérésnégyzet gyökének terjedelemez viszonyított százalékos értéke) és RPD (Residual Predictive Deviation, RMSE és szórás aránya) statisztikai mutatószámok segítségével végeztük. A becslés validációját tízszeres kereszt-validációval végeztük, ez megbízhatónak bizonyult validáció céljára, ennél alaposabb vizsgálat aránytalanul sok időt igényelt volna, és nem javított volna számottevően a validáció megbízhatóságán. A számítás sebességének ipari esetben is reális keretek között tartása érdekében a regresszió látens változóinak számát 250-ben maximalizáltuk.

A repedések és a vizsgálat idejének (hetének) becslésére lineáris diszkriminancia-analízist végeztünk. Ehhez a jeleket eltérő méretű FFT ablakokkal (2048, 4096, 8192), és a spektrum felbontását befolyásoló, teljes jelhosszt növelő szorzókkal (2, 4, 8) vizsgáltuk, a létrehozott új jelszakaszt nullákkal kitöltve. A megnövekedett felbontás nagyobb számú, a becsléshez felhasználható változót jelent a pontosabb eredmény reményében. A túlillesztettséget elkerülendő az osztályozást is tízszeres kereszt-validációval ellenőriztük.

Eredmények

Az egyes pozíciókban felvett jelek a minták között magas, az álló pozícióban 0,96-os, fekvő pozícióban 0,92-es R értékű korrelációt mutattak. A jellemző jelalakokat és azok spektrumait a 2. ábra szemlélteti.

2. ábra: Jellemző jelforma (a) és jelspektrum (b) álló pozícióban (folytonos vonal) és fekvő pozícióban (szaggatott vonal)



2.

Figure 2: Characteristic signal shapes (a) and spectra (b) for upright position (continuous line) and horizontal position (dashed line)

Az egyes becült paraméterekhez tartozó, regresszió jóságát jelző statisztikai mutatószámokat az 1. táblázat tartalmazza.

1. táblázat: PLS regresszió GoF statisztikája wavelet-koefficiensek alapján (a) és Fourier-koefficiensek alapján (b)

a		tömeg	apadás	sárgája	héj	héj vas-	sárgája/fe	fehérje
		(3)	(4)	tömege(5)	tömege(6)	tagsága(7)	-hérje(8)	sz.a.(9)
		(g)	(g/g %)	(g)	(g)	(mm)	(g/g)	(g/g%)
álló(1)	R^2_{adj}	0,81	0,86	0,87	0,87	0,87	0,87	0,87
	RPD	1,50	1,25	1,02	1,05	1,02	1,14	1,06
	RMSEP%	5,01	3,63	7,61	4,24	4,20	7,44	5,16
	RMSECV%	10,61	9,25	23,70	12,96	13,10	20,96	15,67
fekvő(2)	R^2_{adj}	0,71	0,84	0,80	0,81	0,81	0,81	0,79
	RPD	1,27	1,28	1,01	1,04	1,01	1,08	1,01
	RMSEP%	6,17	3,63	7,58	4,27	4,18	7,50	5,17
	RMSECV%	12,46	9,01	24,10	13,03	13,29	22,12	16,40

b		tömeg	apadás	sárgája	héj	héj	sárgája/fe	fehérje
		(g)	(g/g %)	tömege	tömege	vastagsága	hérje	sz.a.
		(g)	(g/g %)	(g)	(g)	(mm)	(g/g)	(g/g%)
álló(1)	R^2_{adj}	0,89	0,88	0,87	0,87	0,88	0,88	0,87
	RPD	1,59	1,22	1,14	1,09	1,00	1,17	1,06
	RMSEP%	5,01	5,62	7,62	4,26	4,15	7,43	5,16
	RMSECV%	11,31	9,47	22,51	12,08	13,25	19,48	15,80
fekvő(2)	R^2_{adj}	0,82	0,89	0,88	0,88	0,89	0,88	0,88
	RPD	1,32	1,43	1,04	1,10	1,01	1,14	1,02
	RMSEP%	5,03	3,62	7,43	4,19	4,18	7,39	5,01
	RMSECV%	11,39	9,11	24,30	12,36	12,77	22,40	15,57

Table 1: GoF statistics of PLS regression based on wavelet-coefficients (a) and Fourier-coefficients (b).

(1)upright, (2)horizontal, (3)mass, (4)mass loss, (5)volk mass, (6)shell mass, (7)shell thickness, (8)volk/albumen, (9)albumen dw,

A diszkriminancia-analízis eredményeit a 2. táblázat foglalja össze. Mindkét pozíció esetén az ablak méretének növekedése csökkenő becslési hibát eredményezett, ahogy az várható volt, azonban a szorzó nagysága nem mutatott ilyen egyértelmű trendet. Általánosan a fekvő pozícióban alacsonyabb hiba volt tapasztalható, ez a különbség csökkent a kereszt-validációval.

2. táblázat: LDA osztályozási hibája a különböző FFT beállítások függvényében

ablakméret(3)	szorzó(4)	becslés hibája (%) (1)				validáció hibája (%) (2)			
		repedés(5)		tárolási idő(6)		repedés(7)		tárolási idő(8)	
		álló	fekvő	álló	fekvő	álló	fekvő	álló	fekvő
2048	2	6,96	9,38	2,98	6,39	15,20	15,34	10,37	11,51
	4	10,08	3,41	3,13	0,85	21,59	21,88	21,02	19,17
	8	10,65	0,43	5,11	0,00	29,97	30,26	31,96	31,96
4096	2	3,84	4,40	0,14	0,42	22,59	23,72	11,93	12,93
	4	2,98	0,00	0,28	0,00	30,82	34,09	20,60	22,02
	8	5,53	0,00	0,71	0,00	28,41	29,26	22,30	18,89
8192	2	0,28	0,43	0,00	0,00	29,26	31,25	12,64	14,49
	4	1,27	0,00	0,00	0,00	25,43	23,44	7,10	6,53
	8	2,27	0,00	0,00	0,00	21,59	23,86	5,54	4,97

2. table: Classification error of LDA for different settings of FFT.

classification error(1), validation error(2), window size(3), multiplier(4), crack(5), storage time(6), crack(7), storage time(8)

Értékelés

A legtöbb paraméter esetén az illesztés mutatószámai jobb eredményt adtak az FFT-együtthatók alapján, mint a wavelet-koefficiensekre alapozott becslések, ebből arra következtethetünk, hogy a számításigényes wavelet alapú módszereket (további algoritmikus optimalizálás híján) nem érdemes alkalmazni tojások vizsgálatához. Bár a geometriai paraméterek gyenge eredményeket adtak, ezek ipari szempontból kevésbé jelentősek mint némelyik, jó eredményt mutató jellemző (össztömeg, héjtömeg, fehérje szárazanyag-tartalom). Az LDA eredményeinek értékelésekor az alacsonyabb klasszifikációs hibát részesítjük előnyben, azonban figyelembe kell venni, hogy mivel gyors módszerről van szó, a számítási időnek is ipari körülmények között alkalmazhatónak kell lennie, a paraméterek magasabb értéke pedig magasabb számítási időt eredményez. Ezen kívül ipari környezetben lényeges, hogy ne legyen szükség pozíció váltására a különböző paraméterek becsléséhez, ez alapján az álló pozíció összességében jobb eredményt mutatott. Továbbá fontos megemlíteni, hogy más roncsolásmentes módszerekkel szemben nagy előnye az akusztikus vizsgálatnak, hogy azonnal képes információt szolgáltatni számos lényeges jellemzőről egyszerre, beleértve a repedések kimutatását.

Köszönetnyilvánítás

A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap (ESZA) társfinanszírozásával valósul meg (a támogatási szerződés száma: EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005).

Irodalomjegyzék

- Attar, M. Z., Fathi, M. M. (2014): Non-Destructive Acoustic Resonance Method for Evaluating Eggshell Strength and Thickness, *International Journal of Biophysics*, 4 (1), 9-15.
- Bain, M. M., Dunn, I. C., Wilson, P. W., Joseph, N., De Ketelaere, B., De Baerdemaeker, J., Waddington, D. (2006): Probability of an egg cracking during packing can be predicted using a simple non-destructive acoustic test, *British Poultry Science*, 47 (4), 462-469.
- Cho, H. K., Choi, W. K., Paek, J. H., (2000): Detection of surface cracks in shell eggs by acoustic impulse method, *Transactions of the ASAE*, 43 (6), 1921-1926.
- Deng, X., Wang, Q., Chen, H., Xie, H. (2010): Eggshell crack detection using a wavelet-based support vector machine, *Computers and Electronics in Agriculture*, 70 (1), 135-143.
- Jin, Ch., Xie, L., Ying, Y. (2015): Eggshell crack detection based on the time-domain acoustic signal of rolling eggs on a step-plate, *Journal of Food Engineering*, 157, 53-62.
- Li, P., Wang, Q., Zhang, Q., Cao, Sh., Liu, Y., Zhu, T. (2012): Non-destructive Detection on the Egg Crack Based on Wavelet Transform, *International Conference on Future Computer Supported Education, IERI Procedia* 2, 372-382.
- Pan, L., Tu, K., Zhao, L., Pan, X. (2005): Preliminary research of chicken egg crack detection based on acoustic resonance analysis, *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 21 (4), 11-15.
- Zhang, W., Pan, L., Tu, S., Zhan, G., Tu, K. (2015): Non-destructive internal quality assessment of eggs using a synthesis of hyperspectral imaging and multivariate analysis, *Journal of Food Engineering*, 157, 41-48.
- Zhu, Z., Wu, L., Hu, D., Wen, Y. (2012): Cracked-Shell Detection of Preserved Eggs Based on Bayes Theory in Mechanical Engineering, *2012 International Conference on Mechanical and Electronic Engineering*
- Zsom-Muha, V., Felföldi, J., (2007): Vibration Behavior of Long Shape Vegetables, *Progress in Agricultural Engineering Sciences*, 3, 21-46.

HIDEGVÉRŰ LOVAK VISELKEDÉSÉNEK VIZSGÁLATA SZEMÉLYISÉGTESZTTEL

Hajdú Péter, Tóthné Maros Katalin, Horvainé Szabó Mária

Szent István Egyetem, Állattenyésztés-tudományi Intézet, 2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.
hajdupeter17@gmail.com

Received – Érkezett: 03. 11. 2017.
Accepted – Elfogadva: 24. 04. 2019.

Összefoglalás

A hidegvérű lovak tenyésztése alapvetően a mezőgazdaság igaerőigényét volt hivatott kielégíteni. A mezőgazdaság nagyfokú gépesítettsége ellenére, e lovak továbbra is jelen vannak a mezőgazdasági termelésben, mint bioerőgépek. Ezen felül sajátos viselkedési jellemzőik és igénytelenségük révén hobbilóként és bizonyos sportokban (pl. rönkhúzó versenyek) való használatra is alkalmasak. Köszönhetően élettani és küllemi adottságaiknak, jelentős szerepet kaptak az étkezési célú lóhús előállításban is, főként az európai piacon. Ez utóbbit leszámítva, mindegyik hasznosítási mód az állat mozgásán, vagyis az emberrel közös munkán alapul. A lovakkal végzett munka azonban nem veszélytelen. Természetes környezetében a faj ugyanis szinte minden fenyegetésre meneküléssel reagál. Ezt a viselkedést ugyanakkor bármilyen helyzet kiválthatja. A megrettent ló pedig ennek következtében veszélyt jelent a környezetére. Nem véletlen, hogy az elmúlt időszakban, mind nagyobb hangsúlyt fektettek a ló faj etológiai vizsgálatára. Munkánk során, a használat közben előforduló stresszhelyzetek generálásával vizsgáltuk a magyar hidegvérű fajtába tartozó lovak reakcióit. Ehhez személyiségtesztet és szívfrekvencia mérést alkalmaztunk, egy hazai hidegvérű ménésben.

Kulcsszavak: magyar hidegvérű, személyiségteszt, szívritmus variancia

Behaviour analysis on cold-blooded horses with personality test

Abstract

The goal of cold-blooded horses basically was to give draft horses to the agriculture in need. In nowadays such as „biotractors” these animals serve in the agricultural production, in the mechanized world too. In addition their behavioural traits and less sensitivity makes them suitable for hobby horse keepers and usefull in some equestrian sport too (for example draft horse pull events). Thankfully for their physiological and external qualities these horses also used in horse meet producing mainly in the Europe. All of these utilizations based on the work with human, except the last one. However it is not safe to use horses. This specie react with scuttle for every threat in its natural habitat. This behaviour can be seen in any situation. In this case the horryfied horse become dangerous for its environment. It is not coincidence that the researchers started so much researchwork in the last years in the subject of horse ethology. In our research we analized the stressreactions of the animals of hungarian cold-blooded horse breed. Therefore we used personality test and heart rate variability analizys in a hungarian stud farm.

Keywords: Hungarian cold-blooded horse, hungarian draft horse, personality test, heartrate variability

Irodalmi áttekintés

A lovakkal történő munkavégzés, legyen az akár sport, mezőgazdasági munka – ugyan jelentősége csökkent, azonban mégis van igény igáshasznú hidegvérű lovakra (Hajdú, Horvainé Szabó, 2013) – vagy csak szabadidős tevékenység, állandóan veszélyeket rejt magában. Rendszeresen hallani lovas balesetokról, melyek közül nem egy a lovas, vagy hajtó, illetve a ló számára halálos kimenetelű volt, és szinte mindig jelentős anyagi kárral párosultak. A jelenség hátterében gyakran a lovak sajátos viselkedése áll. Miller (2012) munkájában írja, hogy „a háziállatok közül a ló az egyetlen, amelynek fő védekezése a menekülés”. Ezt a viselkedés mintát pedig bármilyen veszélyt jelentő vizuális, illetve hanghatás kiválthatja, mint például a gépjármű forgalom, légi járművek, munkagépek megjelenése, vagy csak egy vadon élő állat felbukkanása. A megriadt fogatolt lovak (melyek túlnyomó többségben hidegvérű lovak), az általuk vontatott teher miatt komoly károkat tudnak okozni magukban és környezetükben egyaránt. Graf és mtsai (2014) szerint a lovas balesetek negyedének hátterében a lovak ijedősége áll. A hazai hidegvérű lótenyésztés kezdetén Döhrmann (1921) kiemelten foglalkozott a vérmérséklet kérdésével, szerinte fontos, hogy az állat „csöndes vérmérsékletű” legyen. Mivel a „nyugodt vérmérséklet következtében kezelheti, etetheti, sőt befogni és hajtani is tudja egy asszony, vagy akár egy 14-16 éves gyermek” (Petracsek, 1939). Ez nem véletlen, ugyanis megfékezni sem könnyű egy közel 1 tonnás – vagy még annál is nagyobb – állatot, amely olyan erővel bír, hogy képes akár 8 tonnányi teher elmozdítására is.

Mindezek ellenére a lovak használhatóságát befolyásoló tényezők közül a küllem és teljesítmény paramétereire helyeződik a hangsúly, a teljesítményvizsgálati rendszerekben, mivel ezek könnyen és megbízhatóan mérhetőek (Bodó, Hecker, 2013). Ugyanakkor a lovak használhatóságát mégis a vérmérséklet és az azzal szoros kapcsolatban álló viselkedés határozza meg a legjobban (Bodó, Hecker; 2013, Graf és mtsai, 2014). Ráadásul Graf és mtsai (2014), Górecka-Bruzda és mtsai (2011), valamint Heird és mtsai (1986) szerint egyaránt a kiegyensúlyozott vérmérséklet könnyebb kezelhetőséget tesz lehetővé, és a gyorsabb tanulás révén javítja a kiképzés eredményességét is. E tekintetben a hidegvérű fajtakör a többi fajtakörhöz képest előnyösebb helyzetben van, az egyedek kifejezetten nyugodt vérmérséklete miatt. Azonban a STV-n vizsgált többi paraméterrel szemben a viselkedésbírálat módszere igen szubjektív. Egyes szerzők véleménye szerint a viselkedés objektív minősítése a jövő lótenyésztésének egyik kiemelt kutatási területe lesz (Graf és mtsai, 2014). Ebből kifolyólag a személyiség vizsgálatok alapját az adja, hogy az állatok esetében is megfigyelhetőek olyan egyedi viselkedési különbségek, melyek időben és szituációk között is állandóak.

Az eddigi kutatások eredményei alapján megállapítható, hogy a fajták között jelentős különbségek vannak a személyiségtesztekre adott válaszreakciók esetében (Graf és mtsai, 2014; Hausberger és mtsai, 2004; Lloyd és mtsai, 2007). Azonban a képzettség szintje nem befolyásolta a teszteken kapott eredményeikkel (Graf és mtsai, 2014). Továbbá Keeling és mtsai (2009) vizsgálataik során kimutatták, hogy a lovon ülő, vagy a lovat vezető embernek igenis van hatása a lovak viselkedésére. A ló és az ember közötti kapcsolat minősége tehát jelentős mértékben befolyásolni tudja a közös munka minőségét és végeredményét, függetlenül a lóhasználat jellegétől (Hausberger és mtsai, 2008; Wolff és mtsai, 1997; Visser és mtsai, 2003).

Célunk volt fényt deríteni arra a kérdésre, objektív módszer alkalmazásával, hogy a hidegvérű lovak miként reagálnak, a hasznosítás során előforduló helyzetekben egyedül, illetve

emberi irányítás alatt, továbbá vizsgálni ezen állatok nyugalmi szívfrekvencia értékeit. Ezen felül célul tűztük ki egy személyiségteszt alkalmazhatóságának vizsgálatát is.

Anyag és módszer

Vizsgálataink helyszínéül a Tiszaföldvár határában található Homokréti Ménesgazdaság szolgált, mely több ló- és szarvasmarha fajtát is fönntart. Az itt található magyar hidegvérű állomány 17 egyedét használtuk fel kutatásunk során. A mintául szolgáló egyedek között 5 mén és 12 kanca volt.

Az állatok hasznosítása során bekövetkező váratlan helyzetekre adott reakciók vizsgálatához egy 5 szakaszból/fázisból álló személyiségtesztet alkalmaztunk, melyet két módon alakítottunk ki. Fontos szempont volt, hogy a teszt egy olyan helyen legyen elvégezve, melyet az állatok ismernek. Ezt szem előtt tartva a gazdaság egyik 25 m x 40 m alapterületű nyitott karámját választottuk erre a feladatra, ugyanis a telep nem rendelkezik fedeles lovardával. A karám bejáratával szemben állítottuk fel az indító állást, három méterre annak túlsó végétől, hogy legyen lehetőség az állat bevezetésére. Az indítóállás a karám bejárata felé szűkült. Az indítóállástól három méterre egy műanyag villanypásztor karót szúrtunk le, megjelölve a különböző szakaszokban használt „stresszorok” helyét. Majd, a karó mögött öt méterre egy, a gazdaságban, abrakolás céljából használt vödört helyeztünk el, melybe jutalomfalatot tettünk. A jelen vizsgálatban, a ménesgazdával történt egyeztetést alapján, zab volt a jutalomfalat.

A vizsgálat két fő részből állt. Először egy szabadon mozgó tesztet végeztünk, melyet később egy felvezetéses teszt követett. A szabadon mozgó teszt öt szakaszból állt, melyet egy nulladik, habituációs szakasz előzött meg. A habituációs szakasz során háromszor vezettük be az állatot a karámba, majd az állásba, s azon keresztül a jutalomfalatot tartalmazó vödörhöz. Majd hagytuk, hogy annak tartalmát elfogyassza. Ezt követően három alkalommal már felvezető nélkül kell eljutni az állatnak a vödörhöz. Erre három perc állt a rendelkezésére, az elengedést követően. Ha a ló egyszer sem végezte el a feladatot, akkor kizártuk a további vizsgálatból. Itt derült ki, hogy az adott egyed alkalmas-e egyáltalán a teszt folytatására, ugyanakkor, hogy elviseli-e, ha szűk folyosókon kell végig haladnia.

Ezt követte az új tárgy szakasz (1. kép). E fázis során egy kék színű gumilabdát – mely 75 cm átmérőjű volt – helyeztünk el az indítóállással szemben, attól három méterre. A színválasztást az indokolja, hogy a szakirodalom szerint ez a szín váltja ki a legerősebb érzelmi reakciókat (Christensen, 2005; Graf és mtsai, 2013). A habituációs szakasz második részéhez hasonlóan – ahogy a többi fázisban is – az állatoknak a felvezető nélkül kellett eljutnia a vödörig és elfogyasztania annak tartalmát. A feladat végrehajtására 3 perc állt a ló rendelkezésére, mint, ahogy a többi szakaszban is. Ez idő alatt mértük, hogy mennyi idő alatt teljesítette a feladatot, tovább megfigyeltük, hogy az objektum melyik oldalán haladt el – ugyanis azokat a tárgyakat a ló, melyektől fél a bal szemével vizsgálja –, megszaglássza-e megérinti-e azt, érdeklődik-e a tárgy iránt, s ehhez mennyi időre van szüksége. Ha az egyed a rendelkezésére álló időn belül nem teljesíti a feladatot, a tesztnek ezen része sikertelen, de a többi fázisban részt vehet. Folyamatosan rögzítésre kerülnek egyéb viselkedés jegyek, mint a nyerítés, ürités, ágaskodás, helyben ügetés. A személyiségteszt második szakasza a hídfázis/szakasz. Ennek lényege, hogy fordított „V” alakban egy-egy 180 cm hosszú, 95 cm széles futószőnyeget helyeztünk el az állással szemben. Az állatoknak ezen keresztülhaladva kellett eljutnia a vödörig. Ez látható a 2. képen. Vizsgáltuk az állat mozgását, annak irányát, érdeklődését az idegen tárgy iránt. Ezt követte a mozgótárgy szakasz. E fázis során egy 1 m széles fa állványra felfüggesztett kék színű szalagokat mozgatunk egy hordozható ventilátorral a talaj közelében, három méterre az indítóállástól. Emellett kellett az

állatnak elhaladnia és eljutnia a vödörig. A negyedik, az idegen személy szakasz. Itt az állatoknak, az emberekhez való viszonyáról kaptunk képet. Egy a lovak számára idegen személy állt a kijelölt helyre. Az állat feladata volt, hogy eljusson az abrakos vödörig és elfogyassa annak tartalmát. Az utolsó a függönyszakasz, vagy magasan mozgó tárgy szakasz (3. kép) volt. Ehhez egy speciális, 2 m magas állványt készítettünk, melyre egy 2 méter széles rudat helyeztünk. A rúdra kék színű szalagokat rögzítettünk. A színválasztás az idegen tárgy szakasznál indokoltak alapján történt. Az

1. kép: Új tárgy szakasz (Szerző saját felvétele)



1. kép: Híd szakasz (a Szerző saját felvétele)



2. picture: Bridge test (the author's own picture)

állványt az indítóállástól három méterre helyezzük el. Az előzőekhez hasonlóan az állatnak emellett is el kell haladnia a vödörig.

3. kép: Fügönyszakaszban a stresszort figyelő ló (a Szerző saját felvétele)**3. picture: A horse watching the stressor during the curtain test (the author's own picture)**

A felvezetéses tesztben a habituációs szakasz nem szerepelt, ugyanakkor a többi szakasz, a fentebb említett sorrendben igen. A különbség, hogy a felvezetőnek az állatot át kellett vezetnie az indító álláson, majd a karám kerítése mentén egymástól 10 méter távolságra elhelyezett stresszorok mellett. Az új/idegen tárgy szakasz során két 75 cm átmérőjű, kék színű gumilabda között kellett a lónak elhaladnia. Ez látható a 4. képen. Az ezt követő hídszakasz során pedig 3 db egymás mellé, a menetirányra nézve keresztbe elhelyezett 180 cm X 95 cm alapterületű szőnyegen kellett a lovat végigvezetnie a hajtónak. A földön mozgó tárgy, majd az idegen személy és végül a magasan mozgó tárgy a meghatározott útvonal mellett lett elhelyezve. A felvezetőnek a lovat a mindennapi gondozás során megszokott módon kellett vezetnie. Emellett, ha az állat érdeklődést mutatott az adott stresszor iránt, a felvezetőnek hagynia kellett, hogy megvizsgálja azt. A szakaszokon történő áthaladásra szakaszonként legfeljebb egy perc állt rendelkezésre.

2. kép: Az új tárgy szakasz a felvezetéses tesztben (a Szerző saját felvétele)**4. picture: Novel object test during the leading test (the author's own picture)**

Az állatok reakcióiról video felvételeket készítettünk, azokat a továbbiakban titkosan kezeltük. A kapott felvételek alapján a lovak által mutatott reakciókat pontosítottuk. A tesztre adható összpontszám két fő részből tevődött össze: reaktivitás és óvatosság/kíváncsiság. Az előbbi a folyósón történő áthaladáskor, valamint a stresszorként funkcionáló tárgy körül mutatott viselkedésmintázatok, míg az utóbbi a tárgyal való kapcsolat és a tárgy melletti elhaladás iránya alapján került meghatározásra.

Ezen kívül, a tesztek alatt az állatok pulzusszámát és szívfrekvencia értékeit is rögzítettük. A tesztek megkezdése előtt a lovak nyugalmi szívritmus és szívritmus variancia paramétereit is mértük, egy teljes órán keresztül. E célból 4 db Polar Equinne V800 Science típusú pulzusmérő órákat használtuk. A vizsgálat megkezdése előtt az állatok alap adatait, képzettségükre, hasznosításukra és elhelyezésükre vonatkozó adatait egy űrlapon rögzítettük.

A pulzusmérő órák segítségével mértük az állatok pulzusát (HR), a szívverések között eltelt időt (R-R távolság), ami alapján képet kaphattunk a vegetatív idegrendszer szimpatikus aktivitásáról, valamint az állatok pszichofiziológiai állapotáról (Loijens és mtsai, 2002; Tóthné Maros és mtsai, 2010) A műszerek által mért értékeket a Kubios HRV 2.2. szoftverrel értékeltük ki. A nyugalmi állapotban rögzített adatok alapján készült diagramok egyazon pontjáról 1 perces, 10 perces és 30 perces időintervallumú szakaszokat vizsgáltunk. Az átlagos pulzusszám és az R-R távolságok átlaga mellett vizsgáltuk az R-R távolságok szórását (SDNN), az egymás mellett elhelyezkedő R-R távolságok négyzetgyökét (RMSSD), a HR értékek szórását (STDHR) és a LF/HF hányadost (10 és 30 perces időintervallumok esetében). Ez utóbbi az R-R távolságok rövidtávú ingadozásai alapján megállapított alacsony- (LF) és magas frekvenciás (HF) értékek hányadosa. Az LF tartományt 0,04-02 Hz, míg a HF tartományt 0,2-2 Hz értékekre állítottuk be (Cottin és mtsai. 2005). Az adatok elemzése az R 3.3.2. (x64 bit) statisztikai elemző programmal történt. Az adatok kiértékeléséhez először általános statisztikai elemzést, majd homogenitás vizsgálatot és varianciaanalízist (ANOVA) végeztünk. Emellett a kapcsolatok feltárására Spearman-féle rangkorrelációt számítottunk.

Eredmények értékelése

A vizsgálatban résztvevő 17 egyedből 16 fajtatiszta magyar hidegvérű ló volt. A fennmaradó egyetlen állat belgahidegvérű X magyar hidegvérű keresztezésből származó egyed volt. A minta 5 egyede (tenyésztési engedéllyel rendelkező) fedezőmén és 12 egyede tenyészkanca volt. Bár a vizsgált állomány ménesi tartású volt, az állatok napi szinten kerültek kapcsolatba a gazdaság dolgozóival, a mindennapi gondozási műveleteknek köszönhetően. Ezen felül csupán négy egyedet nem képeztek ki fogatos, vagy más, az állatok mozgásával kapcsolatos hasznosítási módra. Ezek mindegyike kanca volt. Ugyanakkor a tesztekben résztvevő lovak közül csak a méneket fogták be fogatba napi szinten, míg a kancákat csak elvétele, tehát hetente egynél kevesebb alkalommal. A mintában sztereotíp viselkedésformával (rossz szokással) rendelkező ló nem volt. Az állatokat minden esetben ugyanarról az oldalról szerszámozták fel, vagy vezették. A kísérletben felhasznált eszközöket előzetesen egyik ló sem ismerte. Továbbá az állatokat gondozók kézből nem etették.

Az adatok kiértékelése során először arra a kérdésre kerestünk választ, hogy a nyugalmi szívritmus mérés során, a diagram egyazon pontjáról felvett 1, 10 és 30 perces szakaszok között van-e eltérés? Az átlagos szívritmus, az átlagos R-R távolság, valamint a LF/HF paraméterek tekintetében nem találtunk statisztikailag igazolható különbséget a három, különböző hosszúságú intervallum átlagai között. Az RMSSD és az SDNN értékek átlagainak vizsgálata kimutatta, hogy

a 30 perces ($329,84 \pm 198,94$; $295,15 \pm 130,82$) és az 1 perces ($181,95 \pm 171,99$; $160,6 \pm 121,77$) intervallum között szignifikáns eltérés volt ($p < 0,05$, $p < 0,01$). Az STDHR paraméter tekintetében (1. diagram) az 1 perces intervallum átlaga ($16,22 \pm 15,93$) különbözött a 10 perces ($28,04 \pm 10,12$; $p < 0,05$) és a 30 perces ($31,21 \pm 9,88$; $p < 0,01$) intervallum alatti értékek átlagától, míg az utóbbi kettő között nem volt statisztikailag igazolható különbség. Mindhárom paraméter esetében az 1 perces intervallum átlaga kisebb volt a 30 perces intervallum átlagánál, míg a 10 perces intervallum átlaga a kettő között volt. Az LF/HF paraméter tekintetében a 10 perces, valamint a 30 perces időintervallumok között korrelációs számítás végeztünk, azonban nem tudtunk statisztikailag igazolható összefüggést megállapítani ($p = 0,554$).

1. diagram: A három időintervallumban mért értékek átlaga az STDHR paraméter tekintetében

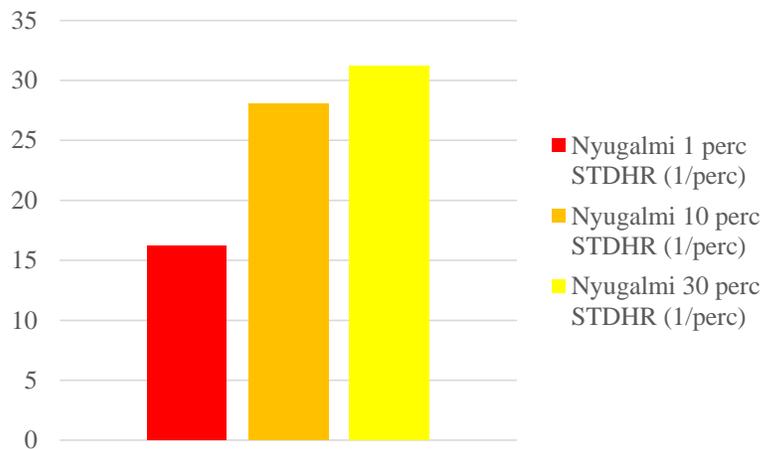


Figure 1: The three time interval by the STDHR parameter

A nyugalmi állapotban mért átlagos szívritmus szignifikáns eltérést mutatott az összes szakasz – beleértve a felvezetési tesztet is – során rögzített értékek átlagaival, mind három időintervallum esetén egyaránt ($p < 0,001$). A nyugalmi állapotban mért 60/perc körül értékek a tesztek alatt 100/perc és 120/perc között alakultak. Ugyanakkor nem tudtunk különbséget kimutatni a szabadon mozgó teszt és a felvezetési teszt között, ahogy a szakaszok között sem. A varianciaanalízis az átlagos R-R távolság paraméter tekintetében hasonló eredményt mutatott ($p < 0,001$). Az RMSSD (2. diagram), valamint az SDNN adatok vizsgálata során csupán a magasan mozgó tárgy szakasz során mért értékek átlaga (SDNN=600, RMSSD<750 ms) mutatott eltérést az 1 perces intervallumú nyugalmi állapot ($p < 0,05$, SDNN<200, RMSSD<200 ms) és a 10 perces intervallumú nyugalmi állapot átlagaival ($p < 0,05$, SDNN<250, RMSSD<300 ms). A minta STDHR értékeiből kiderült, hogy az 1 perces intervallumú nyugalmi állapot átlaga (STDHR<20/perc⁻¹) mutatott szignifikáns különbséget a szakaszok átlagaival (STDHR>40/perc⁻¹, $p < 0,001$). Statisztikailag igazolható különbség ezen kívül csak a 10 perces intervallum átlaga ($28,04 \pm 10,12$) és magasan mozgó tárgy ($42,51 \pm 13,84$), illetve a híd szakasz átlagai ($44,8 \pm 12,26$) között volt tapasztalható ($p < 0,001$, $p < 0,05$), valamint a 30 perces intervallum ($31,21 \pm 9,88$) és a magasan mozgó tárgy szakasz ($p < 0,05$) esetén.

2. diagram: A nyugalmi és a személyiségteszt alatt mért RMSSD értékek átlagainak alakulása

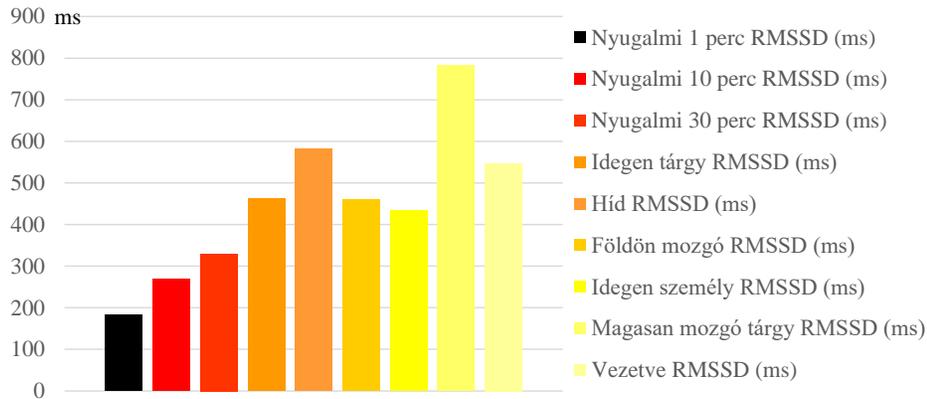


Figure 2: The average of the RMSSD values measured in the calm state and the personality test

Az állatok reakciói alapján a reaktivitásra adott pontszám tekintetében találtunk eltérést (3. diagram), a szabadon futó és teszt idegentárgy- ($1,5 \pm 2,54$) és magasan mozgó tárgy ($-2,73 \pm 2,45$) szakaszai között ($p < 0,05$). Az idegen tárgy szakasz esetében érték el az állatok a legjobb pontszámokat, míg a magasan mozgó tárgy szakasz során sokkal intenzívebb reakciókat tapasztaltunk.

3. diagram: A szabadon futó teszt szakaszai alatt szerzett pontok átlagainak alakulása a reaktivitás pontszám esetében

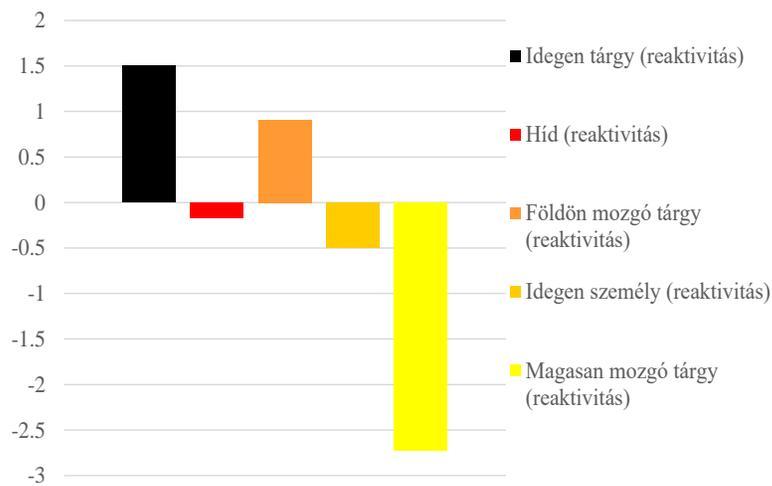


Figure 3: Changes of the means of points obtained for the reactivity score during the free running test stages

Az óvatosságra/kíváncsiságra adott pontszámon belül a tárggyal való kapcsolatra vonatkozó részpontszámok átlagainak vizsgálatából kitűnt, hogy a magasan mozgó tárgy szakaszra adott pontszámok átlaga ($-2,64 \pm 0,5$) szignifikáns eltérést mutatott ($p < 0,05$, $p < 0,05$, $p < 0,05$) az idegen tárgy- ($0,00 \pm 2,13$), a földön mozgó tárgy- ($-0,27 \pm 2,05$) és a hídszakasz átlagaitól ($-0,33 \pm 2,57$). A vizsgált állomány az előbbi szakasz során gyengébb eredményeket ért el. Ezen felül az állatok reaktivitására adott összesített pontszám tekintetében statisztikailag igazolható különbséget találtunk szabadon futó teszt ($-0,92 \pm 10,7$), valamint a felvezetéses teszt ($12,5 \pm 4,82$) során kapott eredmények átlagai között ($p < 0,001$). A felvezetéses teszt során az állatok jobb értékeket értek el. Ez látható a 4. diagramon. Ugyanezt tapasztaltuk a tesztre adott összpontszámok átlagai (szabadonfutó teszt: $-5,58 \pm 15,65$; felvezetéses teszt: $10,63 \pm 6,24$) esetén is ($p < 0,001$). Azonban az óvatosság/kíváncsiság pontszámok átlagai között nem találtunk statisztikailag igazolható eltérést a két teszt típus között.

4. diagram: A szabadonfutó és a felvezetéses teszt átlagainak alakulása a reaktivitás, az óvatosság/kíváncsiság és az Összpontszám tekintetében

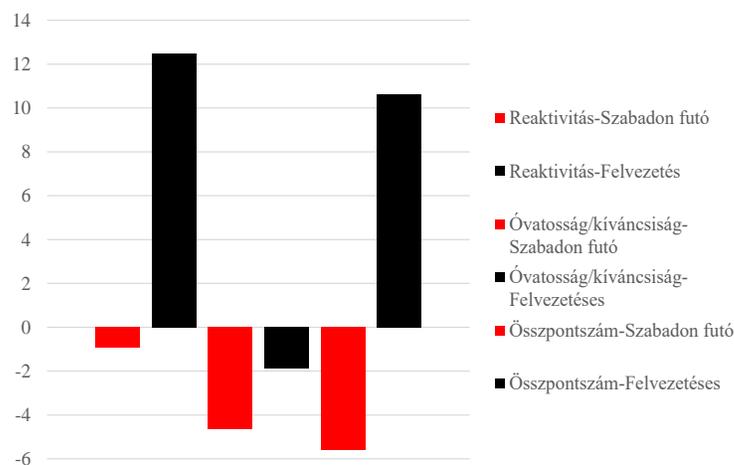


Figure 4: The changes of means of points obtained for reactivity, caution / curiosity and total score during the free running and the lead test

Ezt követően megvizsgáltuk, hogy a különböző szakaszok során mért értékekre van-e hatása az állatok ivarának, képzettségének, továbbá annak, hogy a vizsgált egyedek milyen gyakran végeznek fogatos munkát. Az eredmények alapján, az említett faktorok és a szakaszok átlagai között nem találtunk statisztikailag igazolható interakciót.

Következtetések és javaslatok

Az eredményekből kiderült, hogy a szívritmus variancia vizsgálatához kontrollként történő használatra az állatok nyugalmi állapotban felvett adataiból a 10, illetve 30 perces intervallumok

alkalmasak. Ennek oka, hogy feltehetően kevésbé érzékenyek a mérési hibákból eredő torzító hatásokra. Ráadásul egy mérési hibákkal terhelt adatsor esetén a 30 perces intervallum felcserélhető a 10 perces intervallummal, mivel az általunk vizsgált paraméterek tekintetében nem tértek el egymástól, míg az 1 perces intervallum igen. Ennek oka feltehetően a vizsgált szakaszok rövidegében keresendő, mivel a mérési hibák erőteljesebb torzulást idéztek elő a végeredményben. Ugyanakkor, az a megfigyelésünk, miszerint a LF/HF paraméter tekintetében nincs kapcsolat a 10 és 30 perces időintervallumok között arra enged minket következtetni, hogy a jelen fajta esetében ez a paraméter nem ad megfelelő képet a szimpatikus és paraszimpatikus idegrendszer működéséről. A személyiségteszt alapján alkalmazott szakaszok, állatokra gyakorolt hatása igazolást nyert. Tehát az általunk alkalmazott teszt alkalmas lovak temperamentumának vizsgálatára. A kapott adatok alapján, az ivar, a képzettség, valamint a lóhasználat gyakorisága nem volt hatással a személyiségteszt eredményeire, a szívritmus paraméterek tükrében. Ennek oka feltehetően a minta kis elemszámára vezethető vissza. Továbbá nem, tudtunk kimutatni a felvezető befolyásoló hatását a lovak viselkedésére a szívritmus és szívritmus variancia esetében. Ezzel szemben a mintát képező lovak reakciói alapján igenis volt különbség a két tesztípus között. Ez a jelenség feltehetően a *Keeling és mtsai* (2009) által is megfigyelt természetes reakción alapszik, mely során az állat felkészül egy potenciális veszélyhelyzetből történő menekülésre, még, ha az ember utasításait követi is. Ugyanakkor a kapott eredmények jól szemléltetik a lovak megbízhatóságát, ha összevetjük a két tesztípus alapján nyert eredményeket. Azonban fontos figyelembe venni azt a tényt, miszerint a vizsgált lovak ménesi tartású egyedek. Ezek az egyedek sokkal kevesebb alkalommal érintkeznek az emberrel, mint a lovardákban, sport- és rekreációs célból tartott állatok. Feltehetően ez is eredményezhette az általunk kapott eredményeket.

Eredményeink alapján érdemes lenne további egyedek bevonásával növelni a minta elemszámot, növelendő a statisztikai elemzés hatékonyságát. Ezen felül a ménesi tartású hidegvérű lovak mellett, köztenyésztésben lévő, kiscgazdaságokban használt gazdasági lovakat is, be lehetne vonni a vizsgálatba, hogy pontosabb képet kapjunk a témában.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnénk köszönetet mondani Nagy Ferencnek, a Homokréti Ménesgazdaság tulajdonosának, amiért lehetővé tette számunkra vizsgálataink elvégzését. Ezen felül köszönet illeti R. Kiss Ferenc ménesgazdát és a gazdaság lovászait, mivel mindenben a segítségünkre voltak. Munkánk a NTP-SZKOLL-17-0065 pályázat keretében valósult meg.

Felhasznált irodalom

- Bodó I., Hecker W.* (2013): Lótenyésztés, lótartás, lóhasználat, Mezőgazda kiadó, Bp., 91-92.
- Christensen, J.W., Keeling, L.J., Lindstrom, N.B.*, (2005): Responses of horses to novel visual, olfactory and auditory stimuli, *Applied Animal Behavioral Science*, 53-65.
- Cottin F., Médigue C., Lopes P., Petit E., Papelier Y., Billat V.L.* (2005): Effect of exercise intensity and repetition on heart rate variability during training in elite trotting horse, *Int. J. Sports Med.*, 26. 10. 859-867.
- Döhrmann H.* (1921): Az igásló tenyésztése, Pátria Irodalmi Vállalat és Nyomda RT., Bp., 66-68.

- Górecka-Bruzda, A., Jastrzębska, E., Sosnowska, Z., Jaworsky Z., Jezierski, T., Chruszczewski, M. H. (2011): Reactivity to humans and fearfulness tests: Field validation in Polish Cold Blood Horses, *Applied Animal Behavioral Science*, 133. 207-215.
- Graf, P., König von Borstel, U., Gauly, M. (2014): Practical consideration regarding the implementation of a temperament test into horse performance tests: Result of a large scale test run, *Journal of Veterinary Behavior*, 9. 329-340.
- Hajdú P. és Horvainé Szabó M. (2013): A gazdasági lovak használatának és tenyésztésének helyzete hazánkban. *Animal Welfare Etológia és Tartástechnológia*, 9. 3. 160-169.
- Hausberger, M., Bruderer, C., Le Scolan, N., Piere, J. S. (2004): Interplay between environmental and genetic factors in temperament, personality traits in horses, *Journal of Comparative Psychology*, 118. 434-446.
- Hausberger, M., Roche, H., Henry, S. és Visser, E., (2008): A review of the human–horse relationship, *Applied Animal Behavioral Science*, 109. 1-24.
- Keeling, L. J., Jonare, L., Lanneborn, L., (2009): Investigating horse-human interactions – The effect of a nervous man, *The Veterinary Journal*, 181. 70-71.
- Lloyd, A. S., Martin, J. E., Bornett-Gauci, H. L. I., Wilkinson, R. G. (2007): Horse personality: Variation between breeds, *Applied Animal Behavioural Science*, 112. 369-383.
- Loijens, L.W., Janssens, C.J., Schouten, W.G., Wiegant, W.M. (2002): Opioid activity in behavioral and heart rate responses of tethered pigs to acute stress. *Physiology and Behavior*, 75. 621-626.
- Miller, R. M. (2013): Értsük meg a lovak viselkedését, *Mezőgazda Kiadó, Bp.*, 17. pp
- Petracsek B. (1939): A hazai hidegvérű lótenyésztés kiválmái, *Köztelek, Pátria Irodalmi Vállalat és Nyomda RT., Bp.*, 49. 3. 37-39.
- Tóthné Maros K., Tóth P., Janan, J. (2010): A viselkedés hatása az állatok szív-működésére. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 132. 285-294.
- Visser, E.K., van Reenen, C.G., Schilder, M.B.H., Barneveld, A., Blokhuis, H.J., (2003): Learning performances in young horses using two different learning tests, *Applied Animal Behavioral Science*, 80. 311-326.
- Wolff, A., Hausberger, M., Wol, N., (1997): Experimental tests to assess emotionality in horses, *Behavioural Processes*, 4. 209-221.

SZENT ISTVÁN EGYETEM
MEZŐGAZDASÁG- ÉS KÖRNYEZETTUDOMÁNYI KAR
ÁLLATTENYÉSZTÉS-TUDOMÁNYI INTÉZET
GÖDÖLLŐ



MEGHÍVÓ

a

VII. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Nap

c.

Nemzetközi konferenciára

1. körlevél

Időpontja: 2019. november 22.

Helyszíne: Szent István Egyetem,
Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar,
Gödöllő, Páter Károly u. 1.

Főszervező: Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattenyésztés-tudományi Intézete, Gödöllő

Társszervezők:

Magyar Nemzeti Vidéki Hálózat

GAK Nonprofit Közhasznú Kft

MAG Alapítvány Gödöllő

Konferencia nyelve: angol és magyar

Tervezett szekciók (a résztvevők számának függvényében):

- Élelmiszerbiztonság
- Állatvédelem és állatjóllét
- Szarvasmarha-tenyésztés
- Juh- és kecsketenyésztés
- Sertésenyésztés
- Lótenyésztés
- Baromfi és kisállattenyésztés
- Szaporodásbiológia
- Takarmányozás és gyepgazdálkodás
- Állatélettan és állategészségügy
- Vadgazdálkodás, vadbiológia
- Haltenyésztés
- Egzotikus állatok tenyésztése
- Molekuláris genetika és biotechnológia
- Ökonómia és marketing
- Organikus és biogazdálkodás

Részvételi díj:

Résztevőknek (publikációval vagy anélkül):

Részvételi díj: bruttó **15.000 Ft/fő**.

Bsc Msc és Ph.D. hallgatóknak, nyugdíjasoknak és a Szent István Egyetem dolgozóinak bruttó **10.000 Ft/fő**.

A részvételi díj magában foglalja a konferencia-csomagot (előadások, poszterek összefoglalóinak nyomtatott kiadványa, ajándéktáska, jegyzetfüzet, toll és egyéb meglepetések), a büfészolgáltatást, az ebéd, valamint a szakember-találkozó költségét. Valamint a teljes terjedelmű írások megjelentetésének lehetőségét (lektori javaslatok alapján) az „*Animal welfare, etológia és tartástechnológia*” c. elektronikus újságunkban.

A konferencián való részvétel általános feltételei:

A konferencián előadással, poszterrel, valamint publikáció nélkül bárki részt vehet a mellékelt *jelentkezési lap kitöltésével*.

Publikációval való fellépés feltételei:

A konferencia anyagainak elkészítése:

A *jelentkezési lap*, valamint max. *1 oldalas* – magyar és angol nyelven írt – *összefoglalók* elküldési határideje: **2019. október 31.** Az *összefoglaló mintáját* a jelentkezési lap végéhez csatoltuk.

Lehetőség biztosítunk egy maximum *6 oldalas teljes terjedelmű lektorált anyag* (beleértve az egyoldalas összefoglalót is) megjelentetésére is az **Animal welfare, etológia és tartástechnológia** c. folyóiratban is. Az elkészítésére vonatkozó szempontokat a 2. körlevél fogja tartalmazni.

A teljes terjedelmű anyag leadásának határideje: **2019. november 15.**

Az elkészített összefoglalókat, valamint a teljes anyagokat a konferencia hivatalos email-címére kérjük megküldeni: gan.konferencia@mkk.szie.hu

Néhány fontos határidő:

<i>Jelentkezési lap visszaküldési határideje:</i>	2019. október 31.
<i>Az összefoglaló (magyar és angol nyelven) leadási határideje:</i>	2019. október 31.
<i>A részvételi díj átutalásának határideje:</i>	2019. november 15.
<i>A teljes, 6 oldalas anyag leadásának határideje:</i>	2019. november 15.

A szervezőbizottság tagjai:

Abayné Dr. Hamar Enikő, egyetemi adjunktus
Bényi Erzsébet, igazgatási ügyintéző
Dr. Kovács-Weber Mária, egyetemi docens
Szabó Rubina Tünde, tudományos segédmunkatárs
Dr. Bodnár Ákos, egyetemi adjunktus
Dr. Egerszegi István, egyetemi docens
Dr. Pajor Ferenc, egyetemi docens
Dr. Póti Péter, egyetemi docens
Dr. Tőzsér János, egyetemi tanár

2100 Gödöllő, Páter K. u. 1.
Tel.: 28/522-000/1632
Fax: 28/410-804

A rendezvény hivatalos honlapja: <http://atti.mkk.szie.hu>
A rendezvény hivatalos email-címe: gan.konferencia@mkk.szie.hu

SZENT ISTVÁN UNIVERSITY
FACULTY OF AGRICULTURAL AND ENVIRONMENTAL SCIENCES
INSTITUTE OF ANIMAL HUSBANDRY
GÖDÖLLŐ



Call for application

to the

7th Animal Breeding Scientific Day in Gödöllő

1st announcement of conference

Date: 22 November, 2019

Place: Szent István University,
Faculty of Agricultural and Environmental Sciences,
Páter Károly str. 1., Gödöllő

Organizers: Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences,
Institute of Animal Husbandry, Gödöllő
Magyar Nemzeti Vidéki Hálózat
GAK Nonprofit Közhasznú Kft
MAG Mezőgazdaságért Alapítvány Gödöllő

Planned sessions:

- Food safety
- Animal welfare
- Cattle breeding
- Sheep and goat breeding
- Pig breeding
- Horse breeding
- Poultry and small animal breeding
- Reproduction
- Nutrition
- Grassland management
- Animal physiology
- Wildlife management, Wild life ecology
- Fish breeding
- Molecular genetics and biotechnology
- Economy and marketing
- Organic farming and organic production

Participation fee:

For General Participants (with or without publication):

Participation category	Conference fee
Full attendance	30 Euro/head

The participation fee includes the registration package (proceeding of presentations and posters, and conference bag), buffet service, two tickets for lunch and cost of the Expert's Meeting.

Payment conditions of participation fee:

The payment of participation fee occurs by *transfer or cash* (at location of Conference). After arrival, the sum an invoice is going to be sent to the address given on the application form. Therefore, indicate the invoice address on the application form, please!

If participation fees of more than one participant are transferred by an institute at the same time, please, send a detailed list containing the names of the participants to our email address!

General conditions of participation in the Conference:

Anybody is allowed to take part in the Conference with a lecture, a poster or without a publication by filling in the application form enclosed.

Conditions of application with a publication:

Preparation of conference materials:

1. In the first round, the **application form** and maximum one page of **abstract** written in English have to be submitted until **31st October, 2019**. A formula of the abstract is enclosed to the end of the application form.
2. In the second round, the **6-page-publication** (including the abstract as well) is expected to submit up to **15th November, 2019**.

The abstract and the 6-page-publication have to be sent to the official email address of the Conference as follows: gan.konferencia@mkk.szie.hu

Publishing the conference materials:

6 pages of both lecture and poster publications are going to be Editorial Office of “*Animal welfare, etológia és tartástechnológia*” Journal. The full papers will be evaluated by peer review process, and only accepted ones may proceed in the Journal!

Organizing Committee:

Abayné dr. Hamar Enikő assistant professor

Bényi Erzsébet administrator

Dr. Kovács-Weber Mária associate professor

Szabó Rubina Tünde scientific research fellow

Dr. Bodnár Ákos assistant professor

Dr. Egerszegi István associate professor

Dr. Pajor Ferenc associate professor

Dr. Póti Péter associate professor

Dr. Tőzsér János full professor

Szent István University, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences, Institute of Animal Husbandry. H-2100 Gödöllő, Páter K. str. 1. Hungary

Official email address of the Conference: gan.konferencia@mkk.szie.hu

Officinal homepage of the Conference: <http://atti.mkk.szie.hu>