

# Animal welfare, etológia és tartástechnológia



## Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 16

Issue 1

Gödöllő  
2020



## Tartalomjegyzék

---

<i>Bujňák Lukáš, Marcin Andrej, Nad' Pavel, Mihok Tomáš: Effect of supplemental humic acid with urea as a non-protein dietary nitrogen source on rumen variables in sheep</i>	1-7
<i>Filipcik Radek, Hanzlikova Katerina, Kuchtik Jan, Reckova Zuzana, Hosek Martin, Pesan Vojtech, Kopec Tomas: Assessment of some behavioral patterns of a sheep flock on pasture</i>	8-14
<i>Janiček Martin, Margetín Milan, Vavrišínová Klára, Juhás Peter, Hozáková Katarína: Effect of linseed and sunflower oil supplementation in the diet on health beneficial fatty acids in intramuscular fat of lambs</i>	15-21
<i>Juhás Peter, Vavrišínová Klára, Hozáková Katarina, Janiček Martin, Debrecéni Ondrej: Effect of environment enrichment to aggressive behaviour in piglets</i>	22-28
<i>Klára Vavrišínová, Katarína Hozáková, Peter Juhás, Martin Janiček, Milan Margetín, Peter Obtulovič: The use of slovak simmental breed in suckler beef system</i>	29-36
<i>Klecska Eszter, Biró Bálint, Egerszegi István, Fábrián Renáta, Hiripi László, Oláh János, Kovács András, Bodó Szilárd: Ivari kromoszómák arányának vizsgálata interszex kecske kiméra szöveteiben</i>	37-44
<i>Margetín Milan, Janiček Martin, Vavrišínová Klára, Pavlík Ivan, Huba Ján, Oravcová Marta, Hozáková Katarína: Slovak dairy sheep – new composite sheep breed raised in Slovakia</i>	45-50
<i>Maskal'ová Iveta, Vajda Vladimír, Timkovičová Lacková Petra: The relation of the nutritional composition of TMR and the urea concentration in milk for evaluation nutrition and efficiency of protein utilization in lactating dairy cows</i>	51-60
<i>Szűcs Márton, Tózsér János: A limousin fajta eredményei 2018-ban</i>	61-69
<i>Takács Marianna, Oláh János: A méhanya életkorának hatása a méhcsaládok (<i>Apis mellifera</i> L.) 2018. évi tavaszi fejlődésére és méztermelésére</i>	70-78
<i>Tóth Violetta, Nagypál Virág, Gulyás László, Mikó Edit: A tőgygyulladásal kapcsolatos selejtezések vizsgálata egy dél-alföldi tejelő tehenészetben</i>	79-86
<i>Zigo František, Vasil' Milan, Ondrašovičová Silvia, Zigová Martina, Kudělková Lenka: The occurrence of mastitis and its impact on selected milk and fertility parameters of dairy cows</i>	87-93

---



---

**Table of contents**

---

<i>Bujňák Lukáš, Marcin Andrej, Nad' Pavel, Mihok Tomáš:</i> Effect of supplemental humic acid with urea as a non protein dietary nitrogen source on rumen variables in sheep	1-7
<i>Filipčík Radek, Hanzlíková Katerina, Kuchtik Jan, Recková Zuzana, Hosek Martin, Pesan Vojtech, Kopec Tomas:</i> Assessment of some behavioral patterns of a sheep flock on pasture	8-14
<i>Janiček Martin, Margetín Milan, Vavrišínová Klára, Juhás Peter, Hozáková Katarína:</i> Effect of linseed and sunflower oil supplementation in the diet on health beneficial fatty acids in intramuscular fat of lambs	15-21
<i>Juhás Peter, Vavrišínová Klára, Hozáková Katarina, Janiček Martin, Debrecéni Ondrej:</i> Effect of environment enrichment to aggressive behaviour in piglets	22-28
<i>Klára Vavrišínová, Katarína Hozáková, Peter Juhás, Martin Janiček, Milan Margetín, Peter Obtulovič:</i> The use of slovak simmental breed in suckler beef system	29-36
<i>Klecska Eszter, Biró Bálint, Egerszegi István, Fábíán Renáta, Hiripi László, Oláh János, Kovács András, Bodó Szilárd:</i> Investigation of xy ratio in different tissues of an intersex goat chimera	37-44
<i>Margetín Milan, Janiček Martin, Vavrišínová Klára, Pavlík Ivan, Huba Ján, Oravcová Marta, Hozáková Katarína:</i> Slovak dairy sheep – new composite sheep breed raised in Slovakia	45-50
<i>Maskal'ová Iveta, Vajda Vladimír, Timkovičová Lacková Petra:</i> The relation of the nutritional composition of TMR and the urea concentration in milk for evaluation nutrition and efficiency of protein utilization in lactating dairy cows	51-60
<i>Szücs Márton, Tózsér János:</i> Results of Limousin breed in 2018	61-69
<i>Takács Marianna, Oláh János:</i> The effect of the queen bee's age on the spring development and honey production of honey bee colonies ( <i>Apis mellifera</i> L.)	70-78
<i>Tóth Violetta, Nagypál Virág, Gulyás László, Mikó Edit:</i> Investigation of mastitis-related culling in a dairy farm in south Great Hungarian Plain	79-86
<i>Zigo František, Vasil' Milan, Ondrašovičová Silvia, Zigová Martina, Kudělková Lenka:</i> The occurrence of mastitis and its impact on selected milk and fertility parameters of dairy cows	87-93

---

## EFFECT OF SUPPLEMENTAL HUMIC ACID WITH UREA AS A NON PROTEIN DIETARY NITROGEN SOURCE ON RUMEN VARIABLES IN SHEEP

Bujňák Lukáš, Marcin Andrej, Nad' Pavel, Mihok Tomáš

University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice  
Institute of Nutrition, Dietetics and Feed Production  
041 81 Košice (SK), Komenského 73  
lukas.bujnak@uvlf.sk

Received – Érkezett: .17. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: .04. 04. 2020.

### Abstract

The aim of this study was to investigate the effects of humic substances (HS) combined with urea as feed additives on the rumen fermentation indicators (pH, concentration of volatile fatty acids VFAs, ammonia concentration, protozoal population) in rumen fluid of 12 female crossbred merino sheep (n = 6 in test and control group). The daily ration for both groups consisted of 1.25 kg grass hay and 0.25 kg cereal grain mixture and 10 g urea. The humic substances were applied at a dose of 20 g/day per animal of the test group orally drenched with a probe directly into rumen (day 1 – 3) at the morning feeding or mixed into feed (day 4 – 18). Rumen samples were taken on day 0, 3 and 18 at 3, 6 and 9 h post morning feeding. The results revealed that HS increased ammonia concentration and protozoal cells of *Entodinium spp.* by 243.2 and of *Diplodinium spp.* by 5.1 ( $\times 10^3$  /ml) on day 3, while the total VFAs concentration; acetate and propionate proportions as well as pH values of rumen fluid and the acetate : propionate ratio were not changed. Ammonia was higher ( $P \leq 0.05$ ) in the test group by 7.9 at 6 h and by 5.6 mg/100ml at 9 h on day 3. Results suggest humic substances addition with urea as a non-protein dietary nitrogen source may improve nitrogen retention in the rumen, but there was no impact on VFAs production. The feed intake of HS with urea had significantly positive effects on the protozoal population in rumen fluid.

**Key words:** humic substances, ammonia, rumen fluid, urea, protozoa

### Introduction

Humate substances, or humic acids, are geological deposits in the earth's soil composed mainly of decaying plant and animal matter through the biological activities of microorganisms (McMurphy et al., 2011). Humates, based on solubility in acids and bases and by molecular weight, can be fractionated into three categories: fulvic acid, humic acid and humin (Stevenson, 1982). Humic and fulvic acids are the major extractable components of soil humates and are predominantly used to improve soil fertility and enhance nutrient uptake by plants (Rajendiran et al., 2016). Humic acid is an end product of biodegradation processes of soil organic substances used as growth promoter (Galip et al., 2010). Humic substances are known to exhibit a high affinity for nitrogen (N), a property that has been postulated to improve rumen microbial synthesis and decrease N excretion into the environment (McMurphy et al., 2011). These nitrogen-binding

qualities could prove to be beneficial in the retention of ammonia nitrogen (NH<sub>3</sub>-N) in the rumen. Urea has commonly become an accepted non-protein nitrogen ingredient in the diets of ruminants. It is rapidly hydrolyzed by rumen bacterial urease to ammonia and the ammonia is utilized for the synthesis of microbial proteins (Jin et al., 2018).

Humic acid as a product of decomposition of animal and plant tissue has been proposed as a feed supplement to stimulate the growth of animals and as a potential replacement for antibiotic growth stimulators (Kocabagli et al., 2002; Karaoglu et al., 2004; Wang et al., 2008; Demeterová et al., 2009). Humates have been shown to reduce ammonia emissions when utilized as an amendment to soil, feces and urine (Shi et al., 2001) or when used as a feed supplement in swine (Ji et al., 2006).

The aim of this study was to investigate the effects of peroral intake (orally drenched or mixed into feed) of humic substances preparation combined with urea, as non protein nitrogen, on the protozoal species, pH values, the concentration of ammonia, the sum of total volatile fatty acids as well as acetate : propionate ratio in rumen of sheep in the time dependence.

## Material and methods

Twelve crossbred merino ewes (two years of age, no pregnant, not lactating) were used in 18 day experiment. The animals were housed in two groups – test and control. Sheep were fed with the daily basal diet consisting of 1.25 kg grass hay and 0.25 kg of cereal grains mixture divided into two equal parts. The experimental dietary ingredients and chemical composition are presented in Table 1. Urea was fed for both groups at dose 10 g / day / sheep mixed into grain mixture at the morning feeding. Water was available *ad libitum*. All procedures were performed with the animals approved by the Animal ethics committee of the University of Veterinary Medicine and Pharmacy in Košice according to Directive 2010/63/EU.

**Table 1: Chemical composition of the diet and formulation of cereal grain mixture**

	Grain mixture	Grass hay
Dry matter (g/kg)	880.70	868.80
Crude fiber (g/kg DM)	34.40	356.0
Ether extract (g/kg DM)	23.20	11.20
Crude protein (g/kg DM)	135.0	77.10
Ash (g/kg DM)	15.10	63.10
Formulation of grain mixture, % as fed		
Barley	50	
Wheat	50	

DM – dry matter; Urea was fed for both groups at dose 10 g / day / sheep mixed into grain mixture at the morning feeding.

We used two different systems of the application of additives during the test period especially for confirmation of our hypothesis of differences in nitrogen-binding capacity in the rumen after two diverse ways of administration. Urea was used as non-protein nitrogen feed source due to fast transformation into ammonia. We tested our hypothesis in order to assess the main effects of additives after the administration by drenching technique or simultaneously intake in the diet with urea.

Sheep received basal diet either without humic substance (HS) (control group, CG) or were orally drenched with 20 g HS / day per animal (test group, TEG) at the time of morning feeding on day 1 – 3. Each HS dose was diluted in fresh water before each morning feeding and orally drenched to each sheep in order to ensure that each sheep receive the full dose of HS. Subsequently HS in the same dose were mixed into daily grain mixture dose from day 4 – 18.

The characteristics of the applied natural HS preparation (HUMAC®Natur AFM; Humac s.r.o., Slovak Republic) were the following: the size of particles up to 100 µm, max. moisture 15%, the content of humic acids min. 650 g/kg, fulvic acids min. 50 g/kg.

The chemical analyses of diets were performed according to Commission Regulation (EC) No 152/2009. The rumen contents were taken from rumen using a tube at 3, 6 and 9 hrs after morning feeding on day 0, 3, 18. The population of rumen protozoa was analysed 3 h after feed intake. Day 0 was control day before starting of experiment (no addition of urea and HS). The level of rumen fermentation was evaluated by analysing rumen pH, ammonia content (NH<sub>3</sub>) (mg /100ml), the sum of volatile fatty acids (ΣVFA) (mmol/l) and the acetate: propionate ratio. Rumen fluid were collected and filtered through two layers of gauze and analysed for pH with pH meter (Consort C830, Belgium). The analysis of VFA was carried out in a two-capillary isotachophoretic analyser (EA100, VILLA LABECO, Slovak Republic). The quantification of NH<sub>3</sub> was performed by direct distillation and titration of 10.0 ml ruminal fluid with an automatic N-analyzer (Foss Tecator 2300). The long-term fixation of rumen protozoa was performed by 10-fold dilution of 1.0 ml ruminal fluid (RF) with 3% formaldehyde solution. The diluted RF was used for the quantification of protozoal cells using the light microscopy (Marcin et al., 1992). The differentiation of protozoal species was performed according to a technique of Williams and Coleman (1997).

The data were expressed as a mean ± standard error (SEM) and analysed using an unpaired t-test in Graph-Pad Prism (Graph Prism software, USA). Significance was declared at levels below P<0.05.

## Results and discussion

Effects of supplementing sheep with urea and HS on the ruminal fermentation parameters, the protozoa counts, and the ruminal pH are presented in *Table 2*. The supplementation of humic substances with urea combination showed the following in hourly dynamics in the test group: significantly higher level of the ammonia content on day 3 at 6 h (P<0.05) and at 9 h (P<0.05) after administration in comparison with the control group. The slower decrease of ammonia in the rumen in between the third and the sixth hour (5.0 mg/100ml in the TEG and 9.9 mg/100ml in the CG, respectively) after feeding was observed in the test group, especially on day 3 after an oral drench addition of HS. The tendency of slower decrease of ammonia was also detected in between the third and the sixth hour (10.4 mg/100ml in the TEG and 13.4 mg/100ml in the CG, respectively) and the sixth and the ninth hour (11.7 mg/100ml in the TEG and 14.1 mg/100ml in the CG, respectively) on day 18 after peroral intake of HS (mixed into concentrate mixture) in the TEG.

There were no statistically significant differences in the ammonia concentration between groups on day 18.

**Table 2: Ruminal fermentation parameters, protozoa counts, and rumen pH in sheep after peroral intake (orally drenched or mixed into feed) of humic substances preparation combined with urea (n = 12; two groups test and control with 6 sheep each). Values are presented as mean±SEM.**

Item	ST (h)	Day 0		Day 3		Day 18	
		TEG	CG	TEG	CG	TEG	CG
Ruminal pH	3	6.65±0.04	6.54±0.08	6.50±0.06	6.62±0.05	6.71±0.06	6.68±0.12
	6	6.65±0.03	6.70±0.04	6.31±0.02	6.49±0.09	6.55±0.09	6.41±0.11
	9	6.87±0.02	6.92±0.01	6.69±0.14	6.77±0.24	6.87±0.11	6.74±0.05
Total VFA, mmol/l	3	95.9±1.8	93.2±1.5	93.9±4.9	93.9±1.8	94.4±1.5	95.5±0.5
	6	90.4±2.0	89.5±1.5	101.3±2.5	100.1±5.6	98.3±1.6	98.8±1.1
	9	87.7±0.6	85.5±1.8	92.7±3.3	90.6±1.4	81.1±2.2	85.5±1.7
Acetate (A), mmol/l	3	62.4±1.2	61.1±1.0	60.4±3.2	60.5±1.2	60.1±1.0	61.5±0.3
	6	59.7±1.3	58.2±0.9	63.4±1.7	62.9±3.7	63.8±1.0	63.7±0.7
	9	58.6±0.4	58.1±1.2	61.2±2.2	59.4±0.9	54.9±1.7	57.1±1.4
Propionate (P), mmol/l	3	20.1±0.4	19.4±0.3	20.5±0.9	20.3±0.4	19.2±0.3	19.7±0.1
	6	17.8±0.4	17.6±0.3	22.1±0.6	21.5±1.3	20.0±0.3	20.3±0.2
	9	15.6±0.1	15.2±0.4	17.6±0.7	17.0±0.3	16.1±0.4	16.6±0.3
A : P ratio	3	3.11±0.07	3.15±0.06	2.95±0.19	2.98±0.07	3.12±0.06	3.11±0.02
	6	3.35±0.08	3.29±0.05	2.87±0.09	2.92±0.21	3.18±0.06	3.13±0.04
	9	3.75±0.03	3.81±0.07	3.43±0.13	3.48±0.05	3.41±0.11	3.43±0.08
Ammonia NH <sub>3</sub> , mg/100ml	3	30.1±1.8	29.1±2.1	52.7±1.8	49.7±3.8	44.7±1.7	47.2±1.9
	6	28.4±1.4	27.6±2.2	47.7±3.5*	39.8±2.3	34.3±0.9	33.8±1.9
	9	18.9±0.4	20.1±0.6	33.8±1.2*	28.2±1.4	22.6±0.6	19.7±1.2
Protozoa, x 10 <sup>3</sup> / ml							
<i>Entodinium spp.</i>	3	96.1±10.5	102.4±15.8	442.8±41.8**	199.6±35.4	295.5±44.2	272.6±67.3
<i>Epidinium spp.</i>	3	1.92±0.62	0.94±0.19	4.44±0.87	1.95±0.94	3.17±1.83	1.01±0.22
<i>Diplodinium spp.</i>	3	1.21±0.23	0.90±0.45	8.56±0.85**	3.44±0.78	1.64±0.20	0.93±0.46

\*=P<0.05; \*\*=P<0.01

VFA – volatile fatty acids; ST – sampling time; h – hour; TEG – test group; CG – control group

Humates have nitrogen-binding qualities that could prove to be beneficial in the retention of ammonia nitrogen in the rumen (McMurphy et al., 2011). The N-binding ability could improve the retention time and slow down releasing of ammonia nitrogen in the rumen. In the rumen, the ammonia can be assimilated by many rumen bacteria for the synthesis of microbial proteins (Owens et al., 1980; Milton et al., 1997). The supplementation of humic substances with urea combination in our study showed the slower decrease of ammonia in the rumen in the time dependence after feeding (in hourly dynamics) in the test group after two different ways for HS administration.

No differences between groups were observed for the total and particular (acetate and propionate) VFA concentrations (mmol/l) in all hourly collections during day 3 and 18 as well as in the pH parameter and the acetate : propionate ratio ( $P > 0.05$ ).

The addition of HS combined with urea had a positive effect on the quantity of some protozoal species in ruminal fluid. The significant increase of *Entodinium* spp. and *Diplodinium* spp. was observed in the TEG compared to the CG on day 3. There was not any significant quantitative differences in *Epidinium* spp. between groups, although the tendency of increase in the number of these protozoal cells was also observed on day 3. The decrease in the number of protozoal cells (*Entodinium* spp., *Epidinium* spp. and *Diplodinium* spp.) was observed on day 18 in the CG. However, there were not any significant quantitative differences on day 18.

A number of studies have examined the value of humic substances as a feed additive for ruminants (Váradyová et al., 2009; Galip et al., 2010; McMurphy et al., 2011; Degirmencioglu, 2012; El-Zaiat et al., 2018; Terry et al., 2018).

McMurphy et al. (2011) determined that humate product high in humic acid content did not dramatically impact some aspects of rumen fermentation (pH value and VFA concentration). Galip et al (2010) observed no significant effect on rumen variables and ruminal protozoal populations except for rumen protozoa *Epidinium* spp. in rams fed humic acid supplemented diets.

A positive increase of *Entodinium* spp. and *Diplodinium* spp. was observed in the EG in our experiment. On the contrary, Galip et al. (2010) observed significant decrease of *Diplodinium* spp. and the increase of *Epidinium* spp. in ruminal fluid of rams after feed intake of humic substances.

The results from El-Zaiat et al. (2018) revealed that humic acid increased ruminal pH, acetate and propionate proportions, while ammonia concentration was decreased. Váradyová et al. (2009) found that when humic substances were added at 10 g/kg DM to a rumen simulation (Rusitec) using sheep inoculum,  $\text{NH}_3\text{-N}$  was reduced by 24.4% in a high-forage diet.

Those results contrast with the results from Terry et al. (2018), in which, at a similar concentration, humic substances increased  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration. This study indicated that total VFA and their individual concentrations were not affected by the addition of humic substances. The concentration of  $\text{NH}_3\text{-N}$  and total protozoa count responded quadratically ( $P = 0.03$ ) to increasing concentrations of HS. The quadratic response of protozoa numbers and  $\text{NH}_3\text{-N}$  concentration to HS dose is consistent with the concept that rumen protozoa engulf rumen bacteria that use  $\text{NH}_3\text{-N}$  to help meet their N requirements (Koenig et al., 2000; Bach et al., 2005). Thus, increased protozoa numbers may have led to less ruminal  $\text{NH}_3$  incorporated into microbial protein and increased  $\text{NH}_3$  concentrations (Terry et al., 2018).

## Conclusion

The addition of humic substances with urea has confirmed nitrogen-binding capacity in the rumen with longer retention time for potential releasing of ammonia for future synthesis of microbial proteins with significantly increased  $\text{NH}_3$  concentration in ruminal fluid. It had no significant effect on the ruminal pH, the VFA content as well as the acetate : propionate ratio. The addition of these additives resulted in increasing of the some ruminal protozoa populations (*Entodinium* spp. and *Diplodinium* spp.).

## References



- Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M.D. (2005): Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 88. (Supplement 1) E9–E21.
- Degirmencioglu, T. (2012): Possibilities of using humic acid in diets for Saanen goats. *Mljekarstvo*, 62. 278–283.
- Demeterová, M., Marišćáková, R., Pisl, J., Nad', P., Šamudovská, A. (2009): The effect of the probiotic strain *Enterococcus faecium* DSM 7134 in combination with natural humic substances on the performance and health of broiler chickens. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 122. 370–377.
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Union*, 53, L 276, 33–79.
- El-Zaiat, H.M., Morsy, A.S., El-Wakeel, E.A., Anwer, M.M., Sallam, S.M. (2018): Impact of humic acid as an organic additive on ruminal fermentation constituents, blood parameters and milk production in goats and their kids growth rate. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 27. 2. 105–113.
- Galip, N., Polat, U., Biricik, H. (2010): Effects of supplemental humic acid on ruminal fermentation and blood variables in rams. *Italian Journal of Animal Science*, 9. e74.
- Ji, F., McGlone, J.J., Kim, S.W. (2006): Effects of dietary humic substances on pig growth performance, carcass characteristics and ammonia emission. *Journal of Animal Science*, 84. 2482–2490.
- Jin, D., Zhao, S., Zheng, N., Beckers, Y., Wang, J. (2018). Urea metabolism and regulation by rumen bacterial urease in ruminants—a review. *Annals of Animal Science*, 18. 2. 303–318.
- Karaoglu, M., Macit, M., Esenbuga, N., Durdag, H., Turgut, L., Bilgin, Ö. C. (2004): Effect of supplemental humate at different levels on the growth performance, slaughter and carcass traits of broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3. 6. 406–410.
- Kocabağlı, N., Alp, M., Acar, N., Kahraman, R. (2002): The effects of dietary humate supplementation on broiler growth and carcass yield. *Poultry Science*, 81. 2. 227–230.
- Koenig, K. M., C. J. Newbold, F. M. McIntosh, L. M. Rode (2000): Effects of protozoa on bacterial nitrogen recycling in the rumen. *Journal of Animal Science*, 78. 2431–2445.
- Marcin, A., Kišidayová, S., Feješ, J., Zeleňák, I., Kmeť V. (1992): A simple technique for cryopreservation of the rumen protozoon *Entodinium caudatum*. *Cryo Letters*, 13. 175–182
- McMurphy, C., Duff, G., Sanders, S., Cuneo, S., Chirase, N. (2011): Effects of supplementing humates on rumen fermentation in holstein steers. *South African Journal of Animal Science*, 41. 134–140.
- Milton, C., Brandt, Jr R., Titgemeyer, E. (1997): Urea in dry-rolled corn diets: finishing steer performance, nutrient digestion, and microbial protein production. *Journal of Animal Science*, 75. 1415–424.
- Owens, F.N., Lusby K.S., Mizwicki K., Forero O. (1980): Slow ammonia release from urea: rumen and metabolism studies. *Journal of Animal Science*, 50. 527–531.
- Rajendiran, S., Purakayastha, T.J. (2016): Effect of humic acid multinutrient fertilizers on yield and nutrient use efficiency of potato. *Journal of Plant Nutrition*, 39. 949–956.
- Regulation (EC) 152/2009: Commission Regulation (EC) No 152/2009 of 27 January 2009 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of feed. *Official Journal of the European Union* L54/1-130 of 26.02.2009.

- Shi, Y., Parker, D.B., Cole, N.A., Auvermann, B.W., Mehlhorn, J.E.* (2001): Surface amendments to minimize ammonia emissions from beef cattle feedlots. *American Society of Agricultural Engineers*, 44. 677–682.
- Stevenson, F.J.* (1982): *Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions*. 1st edn. Wiley. New York, USA.
- Terry, S.A., Ribeiro, G.D.O., Gruninger, R.J., Hunerberg, M., Ping, S., Chaves, A.V., McAllister, T.A.* (2018): Effect of humic substances on rumen fermentation, nutrient digestibility, methane emissions, and rumen microbiota in beef heifers. *Journal of Animal Science*, 96. 9. 3863–3877.
- Váradyová, Z., Kisidayová, S., Jalc, D.* (2009): Effect of humic acid on fermentation and ciliate protozoan population in rumen fluid of sheep in vitro. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89. 1936.
- Wang, Q., Chen, Y.J., Yoo, J.S., Kim, H.J., Cho, J.H., Kim, I.H.* (2008): Effects of supplemental humic substances on growth performance, blood characteristics and meat quality in finishing pigs. *Livestock Science*, 117. 270–274.
- Williams, A.G., Coleman, G.S.* (1997): The rumen protozoa. In *The rumen microbial ecosystem* (pp. 73-139). Springer, Dordrecht.

## ASSESSMENT OF SOME BEHAVIOURAL PATTERNS OF A SHEEP FLOCK ON PASTURE

*Filipcik Radek, Hanzlikova Katerina, Kuchtik Jan, Reckova Zuzana, Hosek Martin, Pesan Vojtech, Kopec Tomas*

Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Faculty of Agronomy  
Department of animal breeding  
613 00 Brno (CZ), Zemedelska 1  
radek.filipcik@mendelu.cz

Received – Érkezett: .19. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 15. 05. 2020.

### Abstract

The aim was evaluated of annual ethological observation of sheep flock which took place on the pastures. There were observed these daily activities in the flock: grazing, laying and chewing, standing and chewing, locomotion, resting, standing and observing, drinking, comfortable behaviour, mineral lick intake. Within special behaviour which were observed only in particular season was sexual and maternal behaviour. The most frequently observed activity in winter was grazing with value of 49,18 %, in spring “laying and chewing“ with value of 63,03 %, in summer “grazing“ with value of 49,49 % and in autumn “grazing“ with value of 77,91 % from the total observed time. Significant differences ( $p < 0.01$ ) in the activities observed in sheep were demonstrated in different seasons in the case of grazing, lying down and chewing cud, and standing and chewing cud. On the basis of the balanced frequency of comfort behaviour demonstrated by the sheep during various seasons, we can state that the animals were kept in satisfactory conditions and their welfare requirements were met.

**Key words:** sheep, behaviour, daily activities

### Introduction

Observation and assessment of the behaviour of animals kept by humans are the key activities of breeders (Broom and Fraser, 2007). Deviation of daily activities from normal activities signals the presence of problems caused by technology, farming technique, herd hierarchy and failure to meet welfare requirements (Smit et al. 2008). According to Carvalho (2013) the behaviour demonstrated by sheep can be used to determine the quality of pasture, achievement of optimum plant production and acceptance of fodder. The animals can be observed by direct observation, using video-recordings, possibly by using sensors. A tri-axial accelerometer (Brown et al. 2013, Decandia et al. 2018), which provides information about sexual behaviour, movement, feeding, chewing cud, rest and sleep (Robert et al. 2009, Hokkanen et al. 2011, Fukasawa et al. 2018) is currently primarily used in research work. In the case of our experiment the method of direct observation was used, which is however most labour intensive. The daily activities of sheep chiefly consist of feeding, i.e. animals grazing (Delagarde and Lambertson 2015) and chewing cud, which is carried out by animals standing and mainly by sheep who are lying down. Grazing is also influenced by the species of plant, whereas Papanastasis et al. (1999)

points out that as well as grasses and dicot plants, sheep should also have access to woody plants, which, according to *Spatze et al.* (1999) need to form up to 30% of the animals' feed.

## Material and Methods

The goal of the work was to assess the behaviour of sheep kept on pasture year-round, in relation to their welfare. The experiment was carried out on a private farm that farms animals in the Křivoklátsko protected nature area in the Czech Republic. Suffolk breed sheep (n=35), which were bred to a ram during the breeding season (October - November), were included in the experiment. The animals had the option of staying on the pasture year-round. In the event of poor weather the sheep were able to take shelter in a stable. During the winter period hay was provided in this area and there was also a source of drinking water here. The pasture had an area of 16 ha. The strip grazing system was used. The sheep have a source of water and a mineral lick available in each strip. Only lambs receive additional grain feed. Etiological observation was carried out during all four seasons, whereas the presented results for each season always cover on average 20 days during which the herd was observed. The observation period was selected from 7:15 a.m. to 4:15 p.m., so that the observation period was the same during all four seasons. The method of synchronous observation (a group of animals demonstrating various behaviour was observed during the specific period) was used to record the behaviour of the sheep. Records were made at 5 minute intervals. The sample of ethogram for the first hour of observation was shown in the *Table 1*. The following activities were recorded in the ethogram: grazing, lying down and shewing cud, standing and chewing cud, locomotion, standing and observing, drinking, licking the mineral lick, comfort behaviour, rest, sexual behaviour and maternal behaviour. The acquired data was processed in the STATISTICA 12 program. The Kruskal-Walis test was used to determine differentiation between the seasons.

**Table 1: The sample of ethogram for the first hour of observation**

Date of observation		Behaviour										
Time of observation	grazing	laying and chewing	standing and chewing	locomotion	observing and standing	drinking	mineral lick intake	comfortable behaviour	rest	sexual behaviour	maternal behaviour	
7:15												
7:20												
7:25												
7:30												
7:35												
7:40												
7:50												
7:55												
8:00												
8:05												
8:10												
8:15												

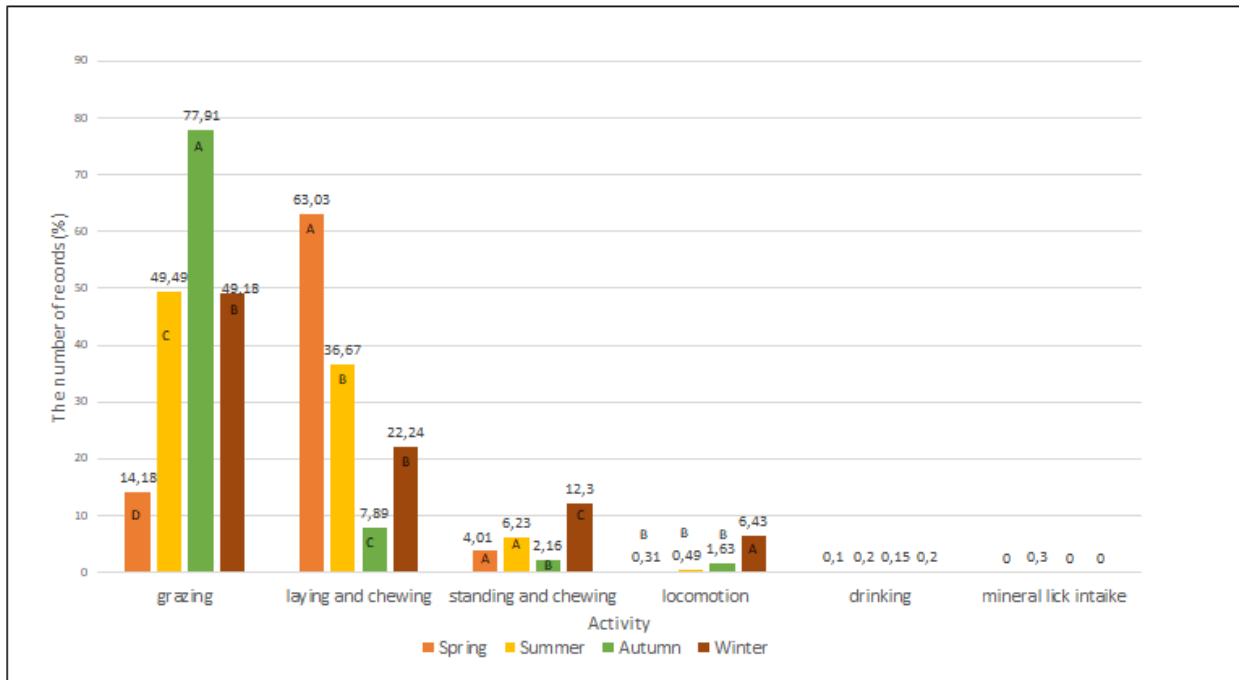
## Results and Discussion

The most frequent activity during all four seasons was "grazing". Whereas the highest ( $p < 0.01$ ) proportion of this activity (77.91%) was registered during the autumn observation (*Figure 1.*) In winter this activity was observed in 49.18% cases, during the summer observation period, grazing took up nearly half the observation time (49.49%). Animals grazed least during the spring period (14.18%). The low proportion of this activity was mainly affected by the mothers' care of the newly-born lambs. Assumed that the sheep grazed more at night, when the lambs were resting. The most important activity was the grazing behaviour. Therefore we focused on this trait and we performed detailed observation of proportion of daily activity during the day (*Figure 2.*) The behaviour was observed in 5-minute intervals and for graphic presentation was summarized to 1-hour observations. The graph reveals that the highest grazing behaviour was in morning hours and then slightly decreased till 10.00 a.m.. Second highest activity was observed in midday which ended at 2:15 p.m. The last increasing of activity was observed from 3.00 p.m. There was the same trend in all seasons. The results pointed almost identical grazing behaviour in winter and summer seasons. On the contrary different results were observed in spring and autumn, although they had similar trends between themselves. The lower amount of grazing animals in spring could be explained by presence of lambs and higher grazing behaviour in autumn could be related with poor nutrition quality of pasture.

The established results correspond to the data given in the work by *Rutter (2002)*, when the average grazing period per day is given as 8 - 9 hours. *Fraser and Broom (1997)* state that this activity can take up to 10 hours a day. *Haupt (2011)* adds the statement that the sheep feed more in colder weather. The daily activity of "lying down and chewing cud" was the second most frequent behaviour demonstrated by the observed herd of sheep. This activity took up 63.03% of the observation time during the spring observation period, during the summer period this activity took up 36.67% of the observation time and in winter it took up 22.24% of the observation time.

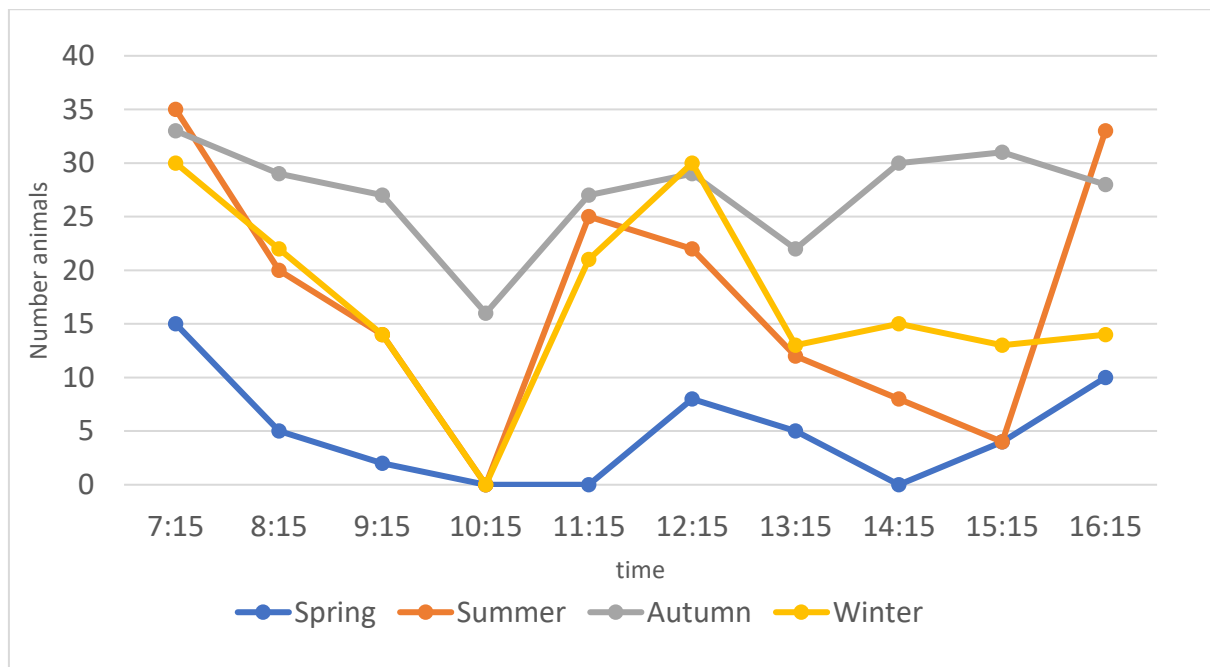
The smallest ( $p < 0.01$ ) proportion of the lying down and chewing cud activity was observed in autumn (7.89%). The animals always chose areas in the shade and protected against bad weather to lie down and chew cud. "Standing and chewing cud" was another observed activity that took up a significant proportion of time. It is significant ( $p < 0.01$ ) that this activity was observed most in the winter period (12.30%), when there was more precipitation and the pastures were wet. This activity was observed only exceptionally during other seasons (spring 4.01%, summer 6.23%, autumn 2.16%). *Decandia et al. (2018)* give a range of from 15 to 17% of the time spent chewing cud by sheep. Locomotion was observed most frequently ( $p < 0.01$ ) in the winter period (6.43%), this activity represented 1.63% of the total number of recorded activities in the autumn. During the spring and summer observation periods animals were observed to ambulate aimlessly practically exceptionally in 0.31 - 0.49% of cases. Similar low numbers of cases (0.44%) were recorded in relation to rest, which was only observed during the summer period.

**Figure 1: Basic daily activities of sheep**



\*the different letters A, B, C, D, mean significant differences ( $p < 0.01$ ) between the seasons.

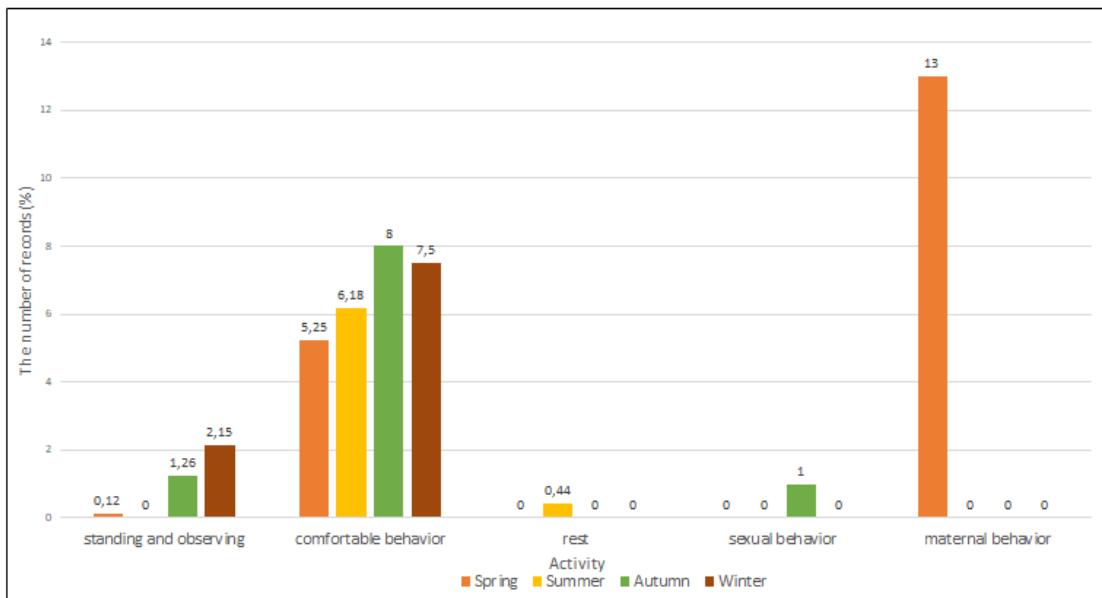
**Figure 2: Proportion of grazing periods during day in different seasons**



This result corresponds to the statement by Lynch et al. (1992) that sheep mostly rest at night. The "standing and observing" activity can be described as the attention of the herd of sheep being captured by external factors, when most of the animals focused their attention on the observed subject and assessed it for potential danger. During the winter period this activity was registered in 2.15% of cases, during the autumn it was observed in 1.26% of cases and in spring in just 0.12% of cases. This activity was not observed during the summer ethology observation period. Drinking made up only a small proportion of the total number of records of daily activities. Drinking ranged from 0.10% to 0.20% with a higher need ( $p>0.05$ ) for drinking in the winter and summer periods. Damian et al. (2018) states that water consumption depends mainly on the quantity and type of food, the climatic conditions, milk production, the amount of movement by the animals and the season. During assessment of the quality of the animals' stabling, or more precisely inspection that suitable welfare conditions are maintained, the appearance of comfort behaviour is considered a reliable indicator that the animals are comfortable.

Of the total number of observed incidents, comfort behaviour did not represent a great percentage (2 - 8%). However, it is important that it appeared during all seasons, which proves that the animals were satisfied in the pasture. The activity of the sheep scratching against items (trees, fences, hay mangers), respectively the animals scratching themselves with their rear limb, was observed most frequently from the activities included in comfort behaviour. Licking the mineral lick was observed in the summer and autumn periods only in 0.30% of the cases. To some degree a specific daily activity is the appearance of sexual and maternal behaviour because this behaviour does not occur throughout the entire year, but is connected to the season in sheep. Demonstration of sexual behaviour (the ram seeking out sheep in season, the animals mating) was observed during the autumn ethological observation period, during which it took up 1% of the time spent on the observed activities (Figure 3). Maternal behaviour distinguished as care of lambs and suckling, only took place in the spring period in 13% of ethological records. Alhamada et al. (2016) state that demonstration of sexual behaviour depends on the physical condition of the animals, when individuals in optimum condition provably demonstrated a higher score of attractiveness ( $p>0.05$ ).

**Figure 3: Other daily activities of sheep**



## Conclusion

The results of the experiment indicate that the season had a significant influence on most of the activities observed in the herd of sheep. The most significant changes were proven in the case of grazing and chewing cud when it is ideal from the aspect of welfare that most of the animals chew cud when lying down. We can state at this point that most of the animals demonstrated this behaviour and therefore the specific breeding conditions can be considered satisfactory. This statement is also substantiated by the fairly balanced number of incidents of comfort behaviour, appearing in animals that are not subject to stress. The appearance of sexual and maternal behaviour during only one season is related to the seasonal nature of breeding sheep in the conditions of the Czech Republic. In conclusion we can state that the originally English Suffolk breed has adapted fully to the climatic conditions of the Czech Republic and these animals can be kept on the pasture year-round.

## References

- Alhamada M., Debus N., Lurette A., Bocquier F.* (2016): Validation of automated electronic oestrus detection in sheep as an alternative to visual observation. *Small Ruminant Research*, 134, 97–104.
- Brown D.D., Kays R., Wikelski M., Wilson R., Klimley A.P.* Observing watchable trough acceleration logging of animal behaviour. *Animal Biotelemetry*, 1. 20. <https://animalbiotelemetry.biomedcentral.com/articles/10.1186/2050-3385-1-20>.
- Broom D.M., Fraser A.F.* (2007): Domestic animal behaviour and welfare. 4th Edition, CAB international, Wallingford, 438. ISBN 978-1-84593-287-9.
- Carvalho P.C.F.* Harry stobbs memorial lecture: can grazing behaviour support innovations in grassland management? *Tropical Grasslands*, 1. 137–155.
- Decandia M., Giovanettia V., Mollea G., Acciaroa M., Mamelic M., Cabiddua A., Cossub R., Serraa M.G., Mancaa C., Rassu S.P.G., Dimauro C.* (2018): The effect of different time epoch settings on the classification of sheep behaviour using tri-axial acceleration. *Computers and Electronics in Agriculture*, 154, 112–119.
- Delagarde R., Lambert P.* (2015): Daily grazing time of dairy cows is recorded accurately using the Lifecorder Plus device. *Applied Animal Behaviour Science*, 165. 25–32.
- Fraser A.F., Broom D.M.* (1977): Farm animal behaviour and welfare. 3rd ed. Wallingford, Oxon, UK: CAB International, c1997, ISBN 0-85199-160-2.
- Fukasawa M., Komatsu T., Higashiyama Y., Oshibe A.* (2018): The use of accelerometer to measure sleeping posture of beef cows. *Animal Science Journal*, 89. 488–493.
- Hokkanen, A. H., Hanninen, L., Tiusanen, J., Pastell M.* (2011): Predicting sleep and lying time of calves with a support vector machine classifier using accelerometer data. *Applied Animal Behaviour Science*, 134. 10–15.
- Houpt K.A.* (2011): Domestic animal behaviour for veterinarians and animal scientists. 5th ed. Ames: Wiley-Blackwell, ISBN 978-0-8138-1676-0.
- Lynch J.J., Adams D. B., Hinch G. N.* (1992): The behaviour of sheep: biological principles and implications for production. Wallingford, Oxon, U.K.: C.A.B. International, c1992. ISBN 0-85198-787-7.



- Damian J.P., Hotzel M. J., Banchemo G., Ungerfeld R.* (2018): Growing without a mother during rearing affects the response to stressors in rams. 2018. *Applied Animal Behaviour Science*, 209. 36–40.
- Papanastasis V.P., Frame J., Nassis A.S.* (1999): Grasslands and woody plants in Europe with special reference to Greece. In: *Grasslands and woody plants in Europe. Proceedings of the International occasional symposium of the European Grassland Federation, 27 – 29 May, Thessaloniki, Greece, 15–24.*
- Robert B., White B.J., Renter D.G., Larson R.L.* (2009): Evaluation of three-dimensional accelerometers to monitor and classify behaviour patterns in cattle. *Computers and Electronics in Agriculture*, 67. 1–2. 80–84.
- Rutter S.M.* (2002): Behaviour of Sheep and Goats. In: Jenden P. (ed.): *The ethology of domestic animals: an introductory text.* Wallingford. CABI Publishing, ISBN 0-85199-602-7.
- Spatz G., Papachristou T.G., Papanastasis V.P., Frame J., Nassis A.S.* (1999): Ecological strategies of shrubs invading extensified grasslands: their control and use. In: *Grasslands and woody plants in Europe. Proceedings of the International occasional symposium of the European Grassland Federation, 27 – 29 May, Thessaloniki, Greece, 27–36.*
- Smit H.J., Metzger M.J., Ewert F.* (2008): Spatial distribution of grassland productivity and land use in Europe. *Agricultural Systems*, 98. 208–219.

## EFFECT OF LINSEED AND SUNFLOWER OIL SUPPLEMENTATION IN THE DIET ON HEALTH BENEFICIAL FATTY ACIDS IN INTRAMUSCULAR FAT OF LAMBS

<sup>1</sup>Janiček Martin, <sup>1,2</sup>Margetín Milan, <sup>1</sup>Vavrišínová Klára, <sup>1</sup>Juhás Peter, <sup>1</sup>Hozáková Katarína

<sup>1</sup>Slovak University of Agriculture in Nitra, Faculty of Agrobiological Sciences, Department of Animal Husbandry, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovak Republic

<sup>2</sup>NPPC - Research Institute for Animal Production Nitra, Hlohovecká 2, 951 41 Lužianky, Slovak Republic  
martin.janicek@uniag.sk

Received – Érkezett: 15. 11. 2019.

Accepted – Elfogadva: 04. 04. 2020.

### Abstract

The effect of linseed and sunflower oil on health beneficial fatty acids composition of *Musculus longissimus lumborum et thoracis* (MLLT) of lambs was investigated. Thirty slovak dairy sheep breed ram lambs (20.11±3.06 kg) randomly allocated into three groups were fed a control diet (C) composed by 70 % concentrate and 30 % forage and two experimental diets (5% linseed oil and 5% sunflower oil, LO and SO respectively). The experimental period was 46 days and lambs were slaughtered at 28.83±3.88 kg. Differences between dietary groups were calculated using General Linear Model of SAS 9.3. Addition of linseed oil, rich in  $\alpha$ -linolenic acid (C18:3n-3) significantly increased rumenic acid (c9,t11-C18:2; P<0.01), C18:3n-3 (P<0.001), eicosapentaenoic acid (C20:5n-3; P<0.001), docosahexaenoic acid (C22:6n-3; P<0.05), conjugated linoleic acid (CLA; P<0.01) and decreased n-6/n-3 ratio (P<0.001). The addition of SO to the diet did not influence significantly essential and health beneficial fatty acids in lamb meat. The results of the present study suggest that linseed oil supplementation can be safely incorporated in the diets of lambs to enrich lamb meat with essential and healthy fatty acids.

**Key words:** lamb meat, fatty acid, linseed, sunflower, oil

### Introduction

The composition of fatty acids (FA) in consumed meats play important role in the human diet in Western countries. Meat from ruminants may be an important source of healthy and essential fatty acids in human diet, as the n-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 PUFA) with anti-inflammatory and anti-arrhythmic properties (Barceló-Coblijn and Murphy, 2009, Calder 2018) and the conjugated linoleic acid (CLA) that has received considerable attention because of its anti-carcinogenic and anti-mutagenic properties (Whigham et al. 2000; Pariza et al. 2001; Lehnen et al. 2015). CLA is the generic term of a group of positional and geometric isomers of the n-6 essential fatty acid C18:2n-6 (linoleic acid). The major CLA isomer in ruminant tissues is c9,t11-C18:2 (rumenic acid), which is synthesized mainly by endogenous desaturation of t11-C18:1 (vaccenic

acid) catalysed by stearyl-CoA desaturase. Vaccenic acid is the main intermediate of microbial biohydrogenation of dietary PUFA, namely linoleic acid (LA) and C18:3n-3 ( $\alpha$ -linolenic acid).

Weissová (2013) and Horečná (2015) reported that proportion of healthy and essential FA in meat gained from intensive finished lambs from indoor systems in Slovakia was lower than in lambs finished on pasture. The linseed and sunflower oil have a high proportion of essential FA, especially  $\alpha$ -linolenic acid (ALA) in linseed and LA in sunflower oil. Feed content linseed oil may increase n-3 PUFA, mostly ALA and also long chain (LC) C20:5n-3 (EPA), C22:5n-3 (DPA) and C22:6n-3 (DHA), (Scollan et al. 2001; Doreau – Ferlay, 2015). According to Kitessa et al. (2009), the strongest increase of ALA in lamb meat is in first weeks after supplementation of linseed oil to lambs' feed, while contents of EPA, DPA and DHA are increased only after minimum six weeks of linseed oil supplementation.

Therefore, this study was conducted to investigate the effects sunflower and linseed oil supplementation in lamb diets on fatty acid profile, particularly essential and health beneficial fatty acid in intramuscular fat of growing lambs.

## Material and methods

### *Experimental design, animal management and diets*

Thirty ram lambs of Slovak dairy sheep breed (average live weight of 20.11 kg) were randomly allocated to the three complete ground diets (10 lambs in each group), that were composed by 70% concentrate and 30% alfalfa, supplemented with 5% linseed oil (LO) or sunflower oil (SO). Lambs from the control group (C) never received additive oil. The ingredients, chemical and fatty acid composition of diets are presented in *Table 1*. Feed was offered *ad libitum* and intake of feed was controlled daily by weighing the offered and refused feed. The trial lasted 46 days and at the end, lambs were weighted without fasting and transported to the experimental slaughterhouse, located at Slovak University of Agriculture in Nitra. The lambs were stunned and slaughtered according to the official European legislation regarding protection of animals during slaughter. Twenty-four hours after slaughter and chilling, 100 g of *Musculus longissimus lumborum et thoracis* were taken from each carcass, minced, vacuum packed, and stored at  $-25^{\circ}\text{C}$  until lipid analyses were carried out.

### *Fatty acid analysis*

The proportion of the individual FAs was analysed using capillary gas chromatography (GC). The lipids from 0.5 g minced meat samples were extracted using 2 mL chloroform-methanol mixture (2:1 vol.vol-1) during 1 hour on rotary shaker. The 1 mL of saline water was added for better separation of chloroform layer and after then, samples were centrifuged at 2000 g for 5 minutes. The lower chloroform layers with extracted lipids (1 mL) were filtered through anhydrous sodium sulphate, and then dried and stored under nitrogen at  $-20^{\circ}\text{C}$ . The base-catalysed methylation procedure with a solution of sodium methoxide in methanol was used for the preparation of fatty acid methyl esters (FAME). Gas chromatographic analyses was realized by gas chromatograph Agilent Technologies 6890N with flame ionization detector (Agilent, Waldbronn, Germany) and 5973 Network mass-selective detector. FAME were separated in a capillary column 100 m x 0.25 mm i.d. x 0.2  $\mu\text{m}$  film thickness of HP-88 stationary phase (J&W Scientific, Agilent Technologies, California, USA). The initial column temperature of the programmed run was set to  $45^{\circ}\text{C}$  and it was held for 2 minutes, then followed by a step up ramp of  $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  to  $145^{\circ}\text{C}$ , and then of  $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  to  $240^{\circ}\text{C}$  and held for 5 minutes. Helium was used as the carrier gas with a linear

velocity set at 20 cm.s<sup>-1</sup>. Two µL samples, which represented approximately 10 mg.mL<sup>-1</sup> FAME, were injected using a split 50:1 at injection temperature 300°C. Separated fatty acids were identified by reference materials (Supelco 37 Component FAME mix, PUFA No. 3 from menhaden oil, Sigma, Aldrich, Germany), published retention data and mass spectrometric measurements.

**Table 1: Ingredients, chemical and fatty acid composition of the experimental diets**

Feed ingredient <sup>1</sup>	Diets		
	C	LO	SO
Dehydrated chopped alfalfa	30.0	30.0	30.0
Corn meal	25.0	6.0	6.0
Barley grain	16.0	22.9	22.9
Soybean meal	11.0	9.0	9.0
Rapeseed meal	8.0	8.0	8.0
Malted barley	3.9	10.0	10.0
Sugar beet pulp	2.0	5.0	5.0
Premix	3.0	3.0	3.0
Sodium chloride	0.6	0.6	0.6
Calcium carbonate	0.5	0.5	0.5
Linseed oil	-	5.0	-
Sunflower oil	-	-	5.0
<b>Chemical composition<sup>2</sup></b>			
Dry matter <sup>3</sup>	922.5	929.3	930.0
Crude protein	168.9	184.3	184.4
Ether extract	24.7	73.3	76.1
Neutral detergent fiber (NDF)	243.6	281.7	280.2
Acid detergent fiber (ADF)	161.4	173.7	174.1
Crude ash	88.3	95.2	95.8
<b>Fatty acid composition<sup>4</sup></b>			
C16:0	14.1	11.0	9.0
C18:0	2.3	4.3	3.4
c9-C18:1	24.6	18.9	61.3
C18:2n-6	43.9	23.4	15.8
C18:3n-3	8.8	38.9	5.8

C – control; LO – linseed oil; SO – sunflower oil; <sup>1</sup> g/100 g; <sup>2</sup> g/kg dry matter; <sup>3</sup> g/kg; <sup>4</sup> g/100g FAME

The chromatograms were published response factors of flame ionization detector for FAME (Ackman, 2000). The fatty acid composition of IMF was detected in grams of each individual FAME per 100 g of sum detected FAME. The average relative standard deviation of the FAME analysed with a proportion above 0.5 g 100 g<sup>-1</sup> was 1.1 % for the whole analytical procedure and the five replicate samples.

*Statistical analysis*

The experimental data were evaluated using an analysis of variance and a general linear model procedure as implemented in SAS 9.3. Least-squares means were compared using a Scheffe test.

## Results and discussion

Results concerning composition of selected fatty acids in intramuscular fat of lambs are presented in *Table 2*. The supplementation with linseed oil increased the proportion of *c9t11*-C18:2, which is important isomer of CLA, essential C18:3n-3 and LC n-3 PUFA, namely EPA and DHA. Linseed oil can be considered as significant source of n-3 PUFA in the diet, when it increased ALA more than fourfold and EPA more than twofold. Proportions of DPA and DHA were more similar to results in C group. It can be caused by low activity of the elongase enzyme in elongation  $C18 \geq C20$  and following desaturation of ALA on more effective LC n-3 PUFA. Similar results after linseed oil supplementation are reported *Le et al.* (2019), who mentioned almost twofold higher proportion of ALA and increased proportion of EPA, whereas proportion of DPA and DHA were similar to control group. Aproximately twofold higher proportion ALA and slightly higher proportion EPA and DPA in *M. longissimus thoracis* of lambs after linseed supplementation reported *Andrés et al.* (2014). Likewise *Urrutia et al.* (2015) reported almost twofold higher proportion of ALA after 5% supplementation of linseed oil, however they did not find out differences in EPA content of intramuscular fat of lambs.

**Table 2: Effect of dietary supplementation with linseed and sunflower oil on the on health beneficial fatty acids in intramuscular fat of lambs**

FA composition (g/100g FAME)	C	LO	SO	S. E.	P-values
<i>t11</i> -C18:1	0.393	0.359	0.404	0.0394	0.697
C18:2n-6	6.68	6.73	7.37	0.461	0.502
<i>c9, t11</i> -C18:2	0.167 <sup>b</sup>	0.279 <sup>a</sup>	0.202 <sup>b</sup>	0.0230	0.006
C18:3n-3	0.396 <sup>b</sup>	1.77 <sup>a</sup>	0.389 <sup>b</sup>	0.0758	<0.001
C20:5n-3	0.174 <sup>b</sup>	0.413 <sup>a</sup>	0.212 <sup>b</sup>	0.0395	<0.001
C22:5n-3	0.422	0.632	0.576	0.0765	0.152
C22:6n-3	0.055 <sup>b</sup>	0.090 <sup>a</sup>	0.070 <sup>a,b</sup>	0.0109	0.090
Total CLA	0.188 <sup>b</sup>	0.297 <sup>a</sup>	0.217 <sup>b</sup>	0.0229	0.007
n-3 PUFA	0.657 <sup>b</sup>	2.32 <sup>a</sup>	0.703 <sup>b</sup>	0.1056	<0.001
LC n-3 PUFA	0.261 <sup>b</sup>	0.552 <sup>a</sup>	0.314 <sup>b</sup>	0.0525	0.001
n-6 PUFA	9.63	9.42	11.58	0.810	0.134
LC n-6 PUFA	2.95 <sup>b</sup>	2.69 <sup>b</sup>	4.21 <sup>a</sup>	0.423	0.039
n-6 PUFA / n-3 PUFA	15.02 <sup>a</sup>	4.14 <sup>b</sup>	16.97 <sup>a</sup>	0.798	<0.001
LC n-6 PUFA / LC n-3 PUFA	11.87 <sup>a</sup>	4.97 <sup>b</sup>	13.96 <sup>a</sup>	0.819	<0.001

C – control; LO – linseed oil; SO – sunflower oil; S. E. – standard error; <sup>a, b, c</sup> means in the same row with different superscripts differ significantly (P<0.05)

Linseed oil supplementation increased important FA groups, namely  $\sum$ n-3 PUFA,  $\sum$ LC n-3 PUFA and  $\sum$ CLA. Higher proportion of  $\sum$ LC n-3 PUFA can be caused by the higher level of bypass lipids and their protection from excessive lipolysis and extensive biohydrogenation in rumen (Chikunya et al. 2004). Differences in rumen biohydrogenation proces between groups can caused also higher CLA proportion in *MLLT* of lambs in LO group. Increasing of CLA after linseed product supplementation reported also Majewska et al. (2004) and Kamel et al. (2018), whereas Urrutia et al. (2015), Andrés et al. (2014) and Giannico et al. (2009) found no differences between groups. It can be due to diferent biohydrogenation proces of fatty acids in rumen dependent on different experimental diets. Only linseed oil supplementation positively affected n-6 PUFA/n-3 PUFA a LC n-6 PUFA/ LC n-3 PUFA ratios, when these ratios were at the level recomen by the health organizations in terms of suitability for human health. The ratio n-6 PUFA/n-3 PUFA was more than threefold lower after linseed supplementation, what influenced LC n-6 PUFA/ LC n3 PUFA ration too. The similar ratios decreasing after linseed supplementation reported Abuefatah et al. (2016) in goat kid and de la Fuente et al. (2014) in lambs. Urrutia et al. (2015) noted twofold decreasing of n-6 PUFA/n-3 PUFA ratio after 5% linseed oil supplementation. Le et al. (2019) and Majewska et al. (2016) found no differences in n-6 PUFA/n-3 PUFA ratio after linseed supplementation. The high proportion of  $\alpha$ -linoleic acid in intramuscular fat of LO lambs significantly caused level of LA/ALA ratio, where the level was fourfold lower in comparision to C lambs.

The sunflower oil supplementation had no significant effect on proportion of specific polyunsaturated FAs, only sum of LC n-6 PUFA was significant higher in SO compared to C. In accordance with de la Fuente et al. (2014), the proportion of LA was not influenced by addition of vegetable oils, because the LA proportion is more influenced by animal genotyp and slaughter weight of lambs (Bessera et al. 2004).

## Conclusion

This study demonstrated that feeding lambs a diet supplemented with linseed oil significantly increased rumenic acid, CLA and omega 3 fatty acids as essential  $\alpha$ -linoleic, eicosapentenoic, doxosaheaxenoic acids and decreased n-6/n-3 and LA/ALA ratio in lamb meat. This study demonstrated also that, unlike sunflower oil supplementation of lamb diets had no effect on essential and health beneficial fatty acids in meat of lambs.

## Founding

This project was supported by the KEGA grant No. 015SPU – 4/2019 and the VEGA grant No. 1/0364/15.

## References

- Abuelfatah, K., Zuki, A.B.Z., Goh, Y.M., Sazili, A.Q. (2016): Effect of enriching goat meat with n-3 polyunsaturated fatty acids on meat quality and stability. *Small Ruminant Research*, 136. 36–42.
- Andrés, S., Morán, L., Aldai, N., Tejido, M.L., Prieto, N., Bodas, R., Giráldez, F.J. (2014): Effects of linseed and quercetin added to the diet of fattening lambs on the fatty acid profile and lipid antioxidant status of meat samples. *Meat Science*, 97. 2. 156–163.
- Barceló-Coblijn, G., Murphy, E.J. (2009): Alpha-linolenic acid and its conversion to longer chain n3 fatty acids: Benefits for human health and a role in maintaining tissue n3 fatty acid levels. *Progress in Lipid Research*, 48. 355–374.
- Beserra, F.J., Madruga, M.S., Leite, A.M., Da Silva, E.M.C., Maia, E.L. (2004): Effect of age at slaughter on chemical composition of meat from Moxotó goats and their crosses. *Small Ruminant Research*, 55. 1-3. 177–181.
- Calder, P.C. (2017): Very long-chain n-3 fatty acids and human health: fact, fiction and the future, *Proceedings of the Nutrition Society*, 77. 52–72.
- de la Fuente, J., Díaz-Díaz-Chirón, M.T., Pérez-Marcos, C., Cañeque-Martínez, V., Sánchez-González, C.I., Álvarez-Acero, I., Fernández-Bermejo, C., Rivas-Cañedo, A., Lauzurica-Gómez, S. (2014): Linseed, microalgae or fish oil dietary supplementation affects performance and quality characteristics of light lambs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 12. 436–447.
- Doreau, M., Ferlay, A. (2015): Linseed: a valuable feedstuff for ruminants. *Oilseeds and fats, Crops and Lipids*, 22. 6. D611.
- Giannico, F., Colonna, M.A., Coluccia, A., Crocco, D., Vonghia, G., Cocca, C., Jambrenghi, A.C. (2009): Extruded linseed and linseed oil as alternative to soybean meal and soybean oil in diets for fattening lambs. *Italian Journal of Animal Science*, 8. 2. 495–497.
- Horečná, Z. (2015): Kvalita mäsa a tuku ťažkých jatočných jahniat z rôznych systémov chovu. Doktorandská dizertačná práca. Nitra : SPU Nitra.
- Chikunya, S., Demirel, G., Enser, M., Wood, J.D., Wilkinson, R.G., Sinclair, L.A. (2004): Biohydrogenation of dietary n-3 PUFA and stability of ingested vitamin E in the rumen, and their effects on microbial activity in sheep. *British Journal of Nutrition*, 91. 4. 539–550.
- Kamel, H.E.M., Al-Dobaib, S.N., López, S., Alaba, P.A. (2018): Influence of dietary supplementation with sunflower oil and quebracho tannins on growth performance and meat fatty acid profile of Awassi lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 235. 97–104.
- Kitessa, S.M., Williams, A., Gulatia, S., Boghossian, V., Reynolds, J., Paercea, K.L. (2009): Influence of duration of supplementation with ruminally protected linseed oil on the fatty acid composition of feedlot lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 151. 228–239.
- Le, H.V., Nguyen, D.V., Nguyen, Q.V., Malau-Aduli, B.S., Nichols, P.D., Malau-Aduli, A.E.O. (2019): Fatty acid profiles of muscle, liver, heart and kidney of Australian prime lambs fed different polyunsaturated fatty acids enriched pellets in a feedlot system. *Scientific Reports*, 9. 1. 1-11.
- Lehnen, T.E., Ramos da Silva, M., Camacho, A., Marcadenti, A., Lehnen, A.M. (2015): A review on effects of conjugated linoleic fatty acid (CLA) upon body composition and energetic metabolism. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12. 36.

- Majewska, M.P., Pajk, J.J., Skomial, J., Kowalik, B.* (2016): The effect of different forms of sunflower products in diets for lambs and storage time on meat quality. *Animal Feed Science and Technology*, 222. 227–235.
- Pariza, M.W., Park, Y., Cook, M.E.* (2001): The biologically active isomers of conjugated linoleic acid. *Progress in Lipid Research*, 40. 4. 283–298.
- Scollan, N.D., Choi, N.J., Kurt, E., Fisher, A.V., Enser, M., Wood, J.D.* (2001): Manipulating the fatty acid composition of muscle and adipose tissue in beef cattle. *The British Journal of Nutrition*, 85. 1. 115–124.
- Urrutia, O., Mendizabal, J.A., Insausti, K., Soret, B., Purroy, A., Arana, A.* (2015). Effect of linseed dietary supplementation on adipose tissue development, fatty acid composition, and lipogenic gene expression in lambs. *Livestock Science*, 178. 345–356.
- Weissová K.* (2013): *Jatočná kvalita a kvalita mäsa a tuku ťažkých jatočných jahniat*. Diplomová práca. Nitra : SPU. 75 s.
- Whigham, L.D., Cook, M.E., Atkinson, R.L.* (2000) Conjugated linoleic acid: implications for human health. *Pharmacological Research*, 42. 6. 503–510.



## EFFECT OF ENVIRONMENT ENRICHMENT TO AGGRESSIVE BEHAVIOUR IN PIGLETS

*Juhás Peter, Vavrišinová Klára, Hozáková Katarina, Janíček Martin,  
Debrecéni Ondrej*

Slovak university of Agriculture in Nitra, Faculty of Agrobiological and Food Resources  
Department of animal Husbandry  
94901 Nitra (SK), Tr. A. Hlinku 2  
peter.juhás@uniag.sk

Received – Érkezett: .16. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 02. 04. 2020.

### Abstract

Aim of the paper was to evaluate the effect of various types of environment enrichment to aggressive behavior in piglets. Two types of pen were involved in tests - the pen with concrete floor covered by straw (CFS) and the pen with slatted floor (SF). The CFS pen was enriched by temporary dividing to two parts by barrier with gap stuffed by straw (CFSD). Barrier was placed to the pen before shifting and mingling litters, two litters were placed each to another side. The gap was cleared from straw by the piglets during the pen exploration and mingling was unforced. The SF pen was enriched by plastic tube (SFT), PET bottle (SFB) and with anise smell (SFS). The number of attacks during 1st hour after shifting (NA1H) and total number of attacks during 8 hours after shifting to the new pen (TNA) and mean of attacks per 20 minutes intervals (MA20) have been evaluated. The CFSD modification significantly decreased MA20 ( $P < 0.001$ ), TNA and NA1H were decreased too, difference was not significant. Modifications of SF pen had no significant effect. SFT led to decrease NA1H, TNA and MA20 were increased. SFS and SFB led to increasing all evaluated traits. The most effective seem to be space modification (CFSD). Moreover, Spearman correlation showed importance of space allocation per piglet. Higher space allowance leads to decrease of aggressive behavior -area per pig negatively correlated with NA1H ( $-4.19, P > 0.05$ ), TNA and MA20 ( $\rho = -0.636, P < 0.05$ ).

**Keywords:** environmental enrichment, aggression, behavior, pig

### Introduction

The term “environmental enrichment” has no exact and precise definition but is increasingly considered as important factor of improvement of husbandry conditions and welfare in farm animals. Generally, enrichment refer to enhancement in physical or social environment. Environmental enrichment has been reported to have wide range physiological and behavioral effects and can be particularly effective in reduction of undesirable or abnormal behavior as well as beneficiary for productivity and welfare (Young, 2003, Averós et al., 2010, Bolt and George, 2019).

One of the main problems in pig breeding is unequal size and live weight of piglets in litter and consecutive batch creation from different litters. The mixing of different litters induces social stress and might increase the level of aggression. The consequences are higher number of injuries and/or cannibalism. There are various enrichment techniques published for solving problems in pig breeding: intense odors, pheromones, tranquilizers, light intensity changes, dividing the pen by diagonal wall with junctions, boards with holes to hide and protect head, box for hiding, objects for manipulation e.g. (Petheric and Blackshaw, 1987, Deschamps and Nicks, 1989, Christinson 1996, Olesen et al., 1996, Ayo, Oladele and Fayomi, 1998, Ishiwata, Uetake and Tanaka, 2002, Rhim, et al., 2015, Buijs and Muns, 2019).

Aim of this study was to assess the impact of four types of environmental enrichment to aggressive behavior of piglets after mingling groups.

## Material and Methods

The environment enrichment was tested in two types of pen: pen with concrete floor and straw bedding (CFS) and in pen with slatted floor (SF). Three types of enrichment were tested: physical (partitioning), occupational (PET bottle, plastic tube) and sensory (smell).

### *Enrichment in CFS pen*

Experiment was held at Breeding farm of Slovak University of Agriculture in Nitra. Pen dimensions (length×width) were 3650 mm x 2010 mm. Pen was equipped with two feeding racks and watering point. Pen is regularly used for mixing 2 litters after weaning. CFS pen was enriched by partitioning. Pen was divided to two parts by 500 mm high wooden barrier in middle of pen, from wall to opposite wall– CFSD pen. Near wall was in barrier gap stuffed with straw. Each litter was after weaning placed to separated area. The gap in barrier was step by step opened by the piglets during environment exploration and mingling was spontaneous. The barrier was removed 24 hours after weaning and shifting litters to new pen (CFS or CFSD). Weaning and mingling was three times repeated (three group, 6 litters were used) in CFS as well as CFSD pen.

### *Enrichment in SF pen*

Experiment was held in Experimental Centre for Farm Animals of Slovak University of Agriculture in Nitra. Pen has size 2380 x 1840, was equipped with one feeding place and watering point. Along longer side was placed 600 mm wide nest for piglets with two heating lamps. Piglets are weaned without mingling. Two types of enrichment were used for SF pen. First enrichment was occupational enrichment by PET bottle (SFB) or plastic tube with length 825 mm and diameter 315 mm (SFT). The SFB enrichment offer PET bottle as toy for manipulation and play. The plastic tube in SFT enrichment was object for play, explore and shelter for submissive ones during attacks. Weaning in SF pen was repeated three times (three group each from siblings from litter). Test in SFT and SFB pen was repeated once, because high increase of attacks in comparison with SF pen.

Second enrichment was sensory by anise smell (SFS pen). Anise dilution was painted to the back of pregnant sow 7 days before expected day of farrowing. The farrowing pen was treated with anise dilution on 10-th and 20-th day after farrowing by painting walls with dilution. The pen for weaning was treated by same dilution at morning on day of weaning. Each time was used dilution with same concentration – 2 ml of the anise oil dissolved in 400 ml water. We have expected familiar odor of anise evokes piglets “home” environment in farrowing pen and make animals

calmer after shifting to the new pen and weaning. Test with anise smell was repeated three times (three group each from siblings from litter).

All procedures related to animals were performed in accordance with guidelines of the Slovak University of Agriculture Ethics Committee. Processes with animals were managed in daily routine as common at commercial farms. The animals were kept under close veterinary attention and treated where necessary.

### Animals

In testing were used piglets Large White, total number animals in tests was 156, the average weight  $9.79 \pm 4.72$  kg. Number of animals in particular tests was different, because of different litter size in farrowing. Detailed data about piglets are in Table 1.

### Data collection

Behavior of the piglets after shifting to the new pen was observed and recorded by means of video-surveillance CCTV system. In each pen one camera was mounted at ceiling. Behavior in duration 8 hour after shifting was analysed by software for behavior analysis The Noldus Observer XT 11.5. Aggressive behavior was scored (number of attacks) by continuous sampling, attack was scored as point event. Like aggressive behavior was considered physical confrontation between at least two pigs including head to head contact, head to shoulder contact, with and without biting another pig, pushing or knocking another pig with the head (Hessel et al., 2006).

**Table 1: Number of piglets in tests, average weight, weight range and average floor area per piglet**

Pen	Group	AW [kg]	$\Delta$ AW [kg]	N	AFA [m <sup>2</sup> ]
Concrete floor with straw bedding (CFS)	Group 1	9,79	5,42	15	0,477
	Group 2	11,13	5,50	12	0,596
	Group 3	25,00	12,00	12	0,596
Concrete floor with straw bedding divided (CFSD)	Group 1	7,84	3,27	13	0,550
	Group 2	6,60	3,41	11	0,651
	Group 3	7,32	3,30	12	0,596
Slatted floor (SF)	Group 1	7,98	3,75	10	0,438
	Group 2	7,94	5,80	6	0,730
	Group 3	9,20	6,08	11	0,398
Slatted floor PET bottle (SFB)	Group 1	9,67	6,71	10	0,438
Slatted floor plastic tube (SFT)	Group 1	6,11	3,18	12	0,365
Slatted floor and anise smell (SFS)	Group 1	11,47	10,50	10	0,438
	Group 2	10,68	4,11	9	0,487
	Group 3	6,29	2,85	13	0,337

AW – average weight

$\Delta$ AW –weight range

N – number of piglets in group

AFA – average floor area per pig in pen

### Statistical analysis

Evaluated were average total number of attacks per piglet during 1<sup>st</sup> hour after shifting (NA8H), average total number of attacks for 8 hours per piglet (TNA) and mean of attacks in 20 minutes intervals per piglet (MA20). Relationship among behavior traits (NA1H, TNA and MA20) and piglets data (AW,  $\Delta$ AW, N, AFA) was evaluated by Spearman rank correlation.

Evaluation changes in MA20 in partition enrichment (CFS x CFSD) was performed by t-test for independent samples. Comparison of TNA and NA8H between CFS and CFSD was done by Mann-Whitney test.

Evaluation changes in MA20 in occupational and sensory enrichment was performed by One Way ANOVA (SF x SFB x SFT x SFS). Comparison of TNA and NA8H was performed by Mann-Whitney test only for SF and SFS pens. Enrichment SFB and SFT was omitted because small number of tests.

Statistical analysis was performed with IBM SPSS version 20.

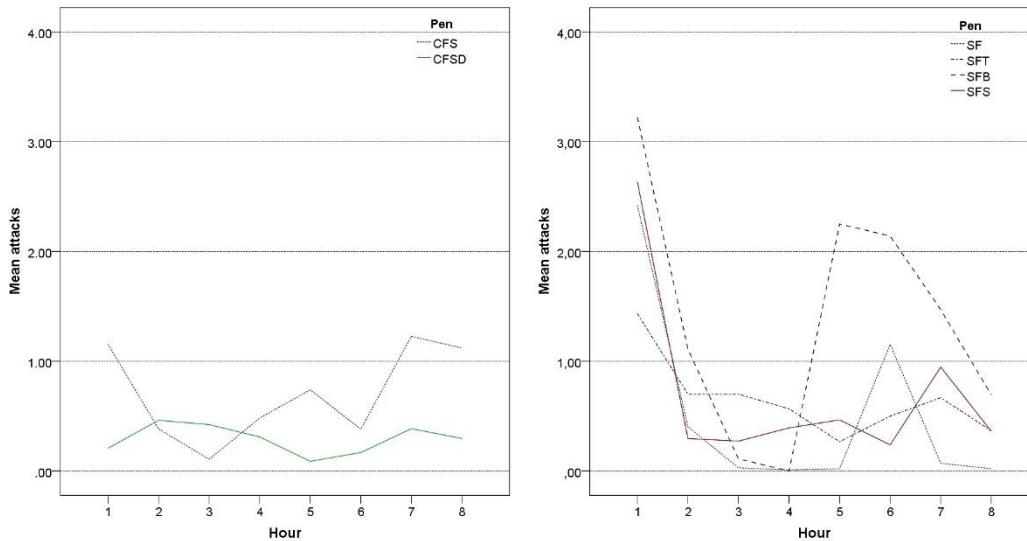
## Results and Discussion

In all tests and treatments, the highest number of attacks piglets shown during first hour after regrouping and mingling. Next peak of number of attacks is related to first feeding after weaning and shifting to new pen (*Figure 1*). Same behavior describes *Christison* (1996).

The effect of enrichment to decrease of aggressive behavior was recorded only in partitioning. The number of attacks was lower in CFS than in SF, probably because possibility to manipulate with straw. The partitioning decreased all evaluated trait for more than 60%. Difference in MA20 was significant ( $P < 0.001$ ), difference in NA1H and TNA was not significant probably for small number repeats (3). The sensory and occupation occupational enrichment in SF pen has no effect to decrease attacks. The SFB had increased all evaluated traits, SFT only MA20 and TNA. SFS has no effect. *Christison* (1996), *Amstutz et al.* (2005), *Stukenborg et al.* (2011,) Clark and D'Eath (2013) presented similar number of attacks after weaning and shifting to new pen. *Ishiwata, Uetake and Tanaka* (2002) reported decreasing number of attacks by enrichment with box for hiding, to less than 10 attacks in first day after weaning. The partitioning in presented paper decreased number of attacks to 7.01 in first 8 hours. The piglets in CFSD pen explored the new environment in group of sibs. *Table 2.* shows basic descriptive statistics of measured traits in all tested environments. During exploration decrease the excitation from loss of mother and shifting to new environment, so in moment of opening are piglets calmer. Piglets from one litter can join the group of unfamiliar piglets from second litter when they “desire”. The next advantage of partitioning is possibility of escape to other side of barrier after attack. During observation we have recorded that attacked piglet during escaped through gap to other side of barrier, to adjacent part of pen. Aggressor does not chase it to other side. This is similar behavior like in natural condition fight runs – loser must escape away from winner. *Olesen et al.* (1996) concluded partitioning has no effect to aggressive behavior. But she did partition in pen with slatted floor and barrier has two open gates from start of shifting piglets to pen. Piglets can move to other side and meet unfamiliar ones immediately after regrouping, without calming period of exploration. The effect of escape to other side when attack occurred was recorded described too. In our opinion the PET bottle in SFB pen triggers the highest number of attacks because the competition for movable toy. The plastic tube in SFT enrichment probably decreased number of attacks in first hour by means of novelty effect (*Trickett et al.*, 2009). Correlation analysis showed importance of area per pig effect to attacks for TNA and MA20 traits ( $\rho = -0.636$ ,  $P < 0.05$ ). Other traits (awerage weight, weight range) has no effect to number of

attacks. Number of piglets in pen negatively correlated with number of attacks ( $\rho = -0.423$ ) but tie is not significant.

**Figure 1: Mean number of attacks per piglet in first 8 hours after weaning shifting to new pen**



**Table 2: The basic descriptive statistics of measured traits in tested environments**

		CFS	CFSD	SF	SFS	SFB	SFT
	N	3	3	3	3	1	1
NA1H	Mean	3.46	1.53	7.26	7.91	9.67	4.30
	s.d.	3.13	1.27	0.43	3.13	-	-
TNA	Mean	16.78	7.01	12.38	16.82	32.99	15.6
	s.d.	12.55	2.82	1.82	4.4	-	-
MA20	Mean	0.70 <sup>a+++</sup>	0.29 <sup>b+++</sup>	0.51 <sup>c+</sup>	0.70 <sup>d+</sup>	1.37 <sup>e+</sup>	0.65
	s.d.	0.52	0.12	0.07	0.18	-	-

a+++, b+++ -  $P < 0.001$ , c+, d+, e+ -  $P < 0.05$

## Conclusion

Results show the role of environment enrichment in piglets aggressive behavior in period of weaning and shifting to new environment. The analysis of behavior points out importance of room area and its division. Partitioning as environmental enrichment influences the aggressive behavior and can decrease the number of attacks. Litters should be separated at moment of shifting to new environment and mingling should be voluntary after calming of excitation from environment change. Occupational enrichment influences behavior too. But if small movable objects are in use, more than one should be offered to distract attention and eliminate competition. Object should be changed after habituation piglets and disappearance novelty effect.

## Acknowledgement

The research was supported by KEGA 015SPU-4/2019.

## References

- Amstutz, M., Bennett-Wimbush, K., Meek, T., Courtney, S. (2005): Effects of Acclimate™ on the frequency and duration of aggressive sequence and growth performance in co-mingled, weaned pigs. *Livestock Production Science*, 95. 3. 243–246.
- Averós, X., Brossard, L., Dourmad, J., de Greef, Edge, H. L., Edwards, S. A., Meunier-Salaün M. (2010): A meta-analysis of the combined effect of housing and environmental enrichment characteristics on the behaviour and performance of pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 127. 3–4. 73-85.
- Ayo, J., O., Oladele, S. B., Fayomi, A. (1998): Stress and its adverse effects on modern swine production. *Pig news and information*, 19. 2. 51–56.
- Bolt, S. L., George, A. J. (2019): The use of environmental enrichment on farms benefits animal welfare and productivity. *Livestock*, 24. 4. 183–188.
- Buijs, S., Muns, R. (2019): A Review of the Effects of Non-Straw Enrichment on Tail Biting in Pigs. *Animals*, 9. 10. 824–827.
- Christinson, G.I. (1996): Dim light does not reduce fighting or wounding of newly mixed pigs at weaning. *Canadian Journal Animal Science*, 76, 141–143.
- Clark, C., C., A., D'Eath, R., B. (2013): Age over experience: Consistency of aggression and mounting behaviour in male and female pigs. *Applied Animal Behaviour Science*, 147. 1–2. 81-93.
- Dechamps, P., Nicks, B. (1989): Effets de la lumière en élevage porcin. *Annales de Médecine. Vétérinaire*, 133, 313–320.
- FASS (2010): Guide for the Care and Use of Agricultural Animals in Research and Teaching. 3<sup>rd</sup> edition. Available at [https://www.umass.edu/research/sites/default/files/documents/ag\\_guide\\_3rd\\_ed.pdf](https://www.umass.edu/research/sites/default/files/documents/ag_guide_3rd_ed.pdf) Accessed 13. 11. 2019
- Hessel, E., F., Reiners, K., Van den Weghe, H., F., A. (2006): Socializing piglets before weaning: Effects on behavior of lactating sows, pre- and postweaning behavior, and performance of piglets. *Journal of Animal Science*, 84. 10. 2847–2855.
- Ishiwata, T., Uetake, K., Tanaka, T. (2002): Factors affecting agonistic interactions of pigs after regrouping in pens with a box. *Animal Science Journal*, 73. 5. 409–415.
- Olesen L., S., Nygaard, Ch. M., Friend, T., H., Bushong, D., Knabe, D., A., Vestergaard, K., S., Vaughan, R. K. (1996): Effect of partitioning pens on aggressive behaviour of pigs regrouped at weaning. *Applied Animal Behaviour Science*, 46. 3-4. 167–174.
- Petheric, J., C., Blaskshaw, J., K. (1987): A review of the factors influencing the aggressive and agonistic behaviour of the domestic pig. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 27. 5. 605–611.
- Rhim, S, Son, S, Hwang, H., Lee, J., Hong, J. (2015): Effects of Mixing on the Aggressive Behavior of Commercially Housed Pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 28. 7. 1038–1043.
- Stukenborg, A., Traulsen, I., Puppe, B., Presuhn, U., Krieter, J. (2011): Agonistic behaviour after mixing in pigs under commercial farm conditions. *Applied Animal Behaviour Science*, 129. 1. 28–35.



- 
- Trickett, S. L., Guy, J. H., Edwards, S. A. (2009): The role of novelty in environmental enrichment for the weaned pig. Applied Animal Behaviour Science, 116. 1. 45–51.*
- Young, R. J. (2003): Environmental Enrichment for Captive Animals. UFAW Animal Welfare Series, Blackwell Publishers, UK.*

## THE USE OF SLOVAK SIMMENTAL BREED IN SUCKLER BEEF SYSTEM

*Klára Vavrišínová<sup>1</sup>, Katarína Hozáková<sup>1</sup>, Peter Juhás<sup>1</sup>, Martin Janiček<sup>1</sup>, Milan Margetín<sup>1</sup>, Peter Obtulovič<sup>2</sup>*

Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovakia

<sup>1</sup>Department of Animal Husbandry, Faculty of Agrobiological and Food Resources

<sup>2</sup>Department of Statistics and Operations Research, Faculty of Economics and Management

949 76 Nitra (SK), Tr. A. Hlinku 2

klara.vavrisinova@uniag.sk

Received – Érkezett: .10. 12. 2019.

Accepted – Elfogadva: 04. 04. 2020.

### Abstract

The aim of this study was to monitor productive characteristics of Slovak Simmental breed and crossbreeds of different proportion (>50% of Slovak Simmental breed) in the system of suckling beef in Slovakia. Study evaluated a total of 932 animals for growth parameters and 75 animals for carcass characteristics. Analysing of calving ease showed 4.95% proportion of calving with assistance (calving ease score 2 from 4 point scale). These were found in calving of one gender – heifers. All other recorded calving was without need of assistance. Analysis of variance confirmed highly significant influence of the sire on calving difficulty ( $P<0.001$ ) and significant impact of the sex and birth season as well ( $P<0.01$ ). Higher live weight at birth was determined in bulls (32.90 kg vs. 31.13 kg). Similarly, analysis of variance of the birth weight verified highly significant influence of the sire ( $P<0.001$ ). In monitored herds, cows calved throughout the year, with highest percentage of calving in winter season (from January to March) – 36.5%. On the other hand, fewer cows calved in the season between July and September (4.99%). The highest average live weight at 120 days according to the calving season was determined in calves born in February (216.78 kg). Within evaluation of impact of the calving season on growth characteristics, highly significant influence on the birth weight ( $P<0.001$ ) and significant influence on weaning weight ( $P<0.05$ ) were determined. Average dressing percentage of bulls was 54.97%; the highest number of slaughtered bulls (70%) was designated in commercial class E/2 and U/2.

**Keywords:** calving season, carcass class, growth parameters, Slovak Simmental breed, suckling beef

### Introduction

Breeding of specialized beef breeds, respectively crossbreeds of local breeds with imported beef breeds doesn't have a long tradition in our latitudes. The breeding of these utility types began to be systematically expanded only after 1990s, when actually began to write the history of the beef industry in the system of the non-milking cattle population. The diverse soil-climatic and landscape relief conditions of Slovakia provide a prerequisite for the application of a wide range of breeding different breed and utility types of cattle. Slovakia is a relatively rich source of permanent



grassland; unfortunately, compared to countries with similar production conditions are considerably untapped. The most appropriate use of these areas is the extension of beef breeding, both pure-bred and their crossbreeds. Currently there are 3097 pieces of pure-bred cows of Slovak Simmental breed and 376 pieces of crosses in the herd book of beef cattle. Breeding of beef cattle differs from milking cattle in terms of low input investment to the feed, labor and animal housing (Zahrádková et al., 2009). Nowadays, the expansion of beef cattle and suckling cows breeding causes not only the demand for quality meat, but also a societal purpose that promotes the sustainability of agriculture, the maintenance of the landscape in cultural character (Golda et al., 2000). In beef cattle breeding, all the properties that directly or indirectly affect the production and carcass value of the animal and thus the economy of the whole herd are important. The most important utility characteristics are summarized in the following categories: general; characteristics associated with production and rearing of calves; fattening characteristics; and carcass characteristics (Szabó, 1998).

The aim of this work was to monitor production indicators of Slovak Simmental cattle and its crosses kept in the system of beef cattle and suckling cows.

## Material and methods

A total of 1007 animals of Slovak Simmental breed and its crossbreeds in the system of beef cattle and nursing cows were observed during evaluation. The analyzed data of animals was provided from the background materials of The Beef Cattle Breeders Association in Slovakia as well as from registers of farms. The study evaluated data of the numbers and individual calving ease scores according to the designed methodology with 4 point scale as follows – unassisted calving (1), easy or normal pull (2), hard pull (3) or veterinarian assistance (4). To control the growth ability of calves up to the weaning, study evaluates the birth live weight (BLW), live weight at 120 days of age (LW120), live weight at 210 days – weaning weight (LW210), average daily gain from birth to 120 days (ADG–1) and average daily gain between birth and 210 days (ADG–2). The above mentioned growth parameters of calves were evaluated with its relation to the season of calving: winter (A) calved from January to March; spring (B) calves born from April to June; summer (C) calves born between July and September; and autumn (D) calves born from October to December. The influence of factor birth live weight (BLW) was tested according to four groups: group 1 represents animal with BLW under 30 kg; group 2 were animals with BLW between 30.1 and 35 kg; group 3 included animals with BLW between 35.1 and 40 kg; and group 4 included animals with BLW over 40.1 kg. Within the evaluation of slaughter characteristics, slaughter weight (SLW), age at slaughter (AS), carcass weight (CW), dressing percentage (DP), netto gain (NG), average carcass fleshiness grade (ACFHG) and average carcass fatness grade (ACFSG) were the analyzed characteristics. Moreover, carcasses of different slaughter categories (heifers, young bulls and bulls) were classified into SEUROP classification grading system with individual scores as following: S+E = 1; U = 2; R = 3; O = 4; P = 5. Scores for fatness were assigned to grades 1 – 5. The basic statistical and variability characteristics (least square means, standard deviations) were evaluated using the Statistical Analysis System (SAS) version 9.3 (TS1M2) Enterprise Guide 5.1. (SAS INSTITUTE Inc., 2011). For the impact of verification of selected factors on the growth and carcass characteristics analysis of variance (ANOVA) was used. Statistical evaluations of the differences between monitored characteristics were tested at the levels of statistical significance: \*\*\*  $P < 0.001$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*  $P < 0.05$ ; ns not significant.

## Results and discussion

The values given in *Table 1* describe proportions of calving and average live weight of calves in relation to the calving difficulty scores. Pull with need of assistance were detected in only 4.95% of female population; however these occurrences were not related to the increased live weight of calves. *Olšanská and Candrák* (2018) reported 86.54% spontaneous calving in Slovak Simmental breed. The highest live weight of calves was found in bulls – 32.90 kg. Since the only market product of the beef cattle is a reared calf for the meat production, reproduction is the decisive economic indicator in this breeding system. Reproduction is influenced by a number of factors; the decisive factors are the health of the cows, quality of feeding, breeding environment, quality of sires, calving ease, herd management and others (*Mackinnon et al.*, 1990, *Cushman et al.*, 2007).

**Table 1: Proportions of calving and average live weight of calves according to calving difficulty scores**

Sex	Calving difficulty score							
	1		2		3		4	
	n	%	n	%	n	%	n	%
heifer	659	95.05	33	4.95	-		-	
bull	273	100,00			-		-	
Live birth weight (kg)								
heifer	31.13		31.03		-		-	
bull	32.90				-		-	

The effect of sire, sex of calves, season of birth and birth weight on calving difficulty is described in *Table 2*. Factors sire, sex of calf and birth weight statistically significantly influenced calving difficulty at the level of significance  $P < 0.001$ . Sire is considered to be an important factor affecting the calving ease, while manifesting in the gestation length, birth weight of calf and its body measurements (*Gregory et al.*, 1991). *Strapák et al.* (2000) found in Slovak Simmental breed as a largest and high significant effect of breed and birth weight of calves.

**Table 2: Analysis of the influence of various factors on calving difficulty**

Dependent variable: Calving difficulty				
Source	df	Mean square	F	Sign.
Sire	18	1.51	47.51	***
Sex of calf	1	0.62	12.08	***
Season of birth	3	0.22	3.02	*
Live birth weight	3	0.72	7.92	***

Higher average score for calving difficulty (*Table 3*) was found in born heifers. For other monitored growth characteristics we found higher values in male population of calves. *Bujko et al.* (2019) reported for Slovak Simmental calves higher live birth weight (46.5 kg).

**Table 3: Basic statistical characteristics of growth in monitored group of calves**

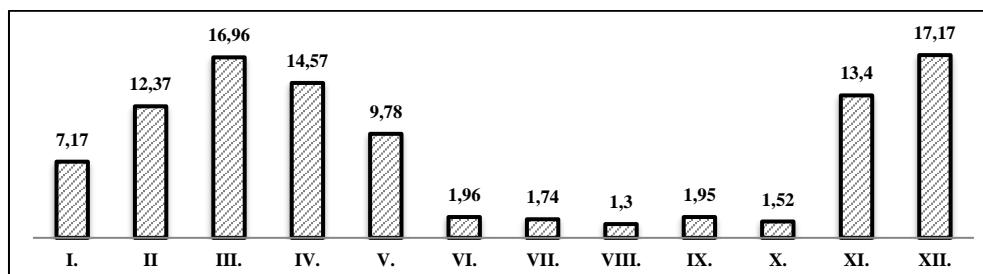
	Heifer (n = 692)	Bulls (n = 315)
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
Average SCD	1.05 ± 0.22	1.00 ± 0.00
BLW (kg)	31.13 ± 3.27	32.90 ± 3.76
LW120 (kg)	123.88 ± 26.06	136.42 ± 28.17
LW210 (kg)	202.25 ± 38.12	217.34 ± 43.33
ADG1 (kg)	0.89 ± 0.23	0.97 ± 0.23
ADG2 (kg)	0.86 ± 0.20	0.93 ± 0.24

SCD – score for calving difficulty

*Figure 1* describes distribution of calving throughout the year. The highest proportion of calving was determined in winter calving season (36.5%). Contrariwise, least calves were born in summer (4.99%), especially in July.

Significant differences in birth weight in relation to the month of calving (*Table 4*) were determined ( $P < 0.001$ ). Heaviest calves were born from July to October ( $> 33$  kg). In pre-weaning period average daily gains were different within individual months. The lightest gains were found in calves born in November (0.82 kg) and December (0.86). This is in accordance with statement of *Crosson* (2015) that grazing of calves with mothers on pasture increase effectiveness of beef production through more intensive growth rate on cheaper feeding sources. On the other hand, authors *Bjelka and Homola* (2006) noted excellent growth intensity of Simmental calves born in winter and pre-spring season (1.15 – 1.35 kg).

**Figure 1: Distribution of calving throughout the year (%)**



**Table 4: Growth characteristics of monitored calves in relation to the calving season**

Birth month	ASCD	LBW (kg)	LW120 (kg)	LW210 (kg)	ADG1 (kg)	ADG2 (kg)
I.	1.03	32.42	127.69	209.82	0.91	0.89
II.	1.00	31.80	131.25	216.78	0.94	0.93
III.	1.08	31.32	127.59	201.57	0.92	0.86
IV.	1.03	30.62	126.65	206.45	0.91	0.89
V.	1.02	31.72	126.37	207.90	0.92	0.89
VI.	1.00	32.12	120.12	196.48	0.84	0.83
VII.	1.05	33.11	132.11	210.00	0.93	0.87
VIII.	1.00	33.35	132.00	209.09	0.94	0.86
IX.	1.00	33.20	135.47	208.80	0.95	0.87
X.	1.00	33.29	123.71	187.43	0.88	0.76
XI.	1.08	31.22	117.75	193.44	0.82	0.81
XII.	1.00	30.70	122.15	211.60	0.86	0.88

ASCD – average score for calving difficulty

According to the season of born calves in Hungary, the highest weaning weight was determined in calves born in summer (Szabó et al., 2006). A multi-factor analysis (Table 5) shows highly significant relations of the season of calving with the live weight at birth. Factor sex of calves had the greatest influence on most of the monitored characteristics. Griffin (2011) reported not significant effect of the season of calving on birth weight; but significant effect on weaning weight of calves. According to Titterington et al. (2014) calving season did not influenced required slaughter weight in heifers.

**Table 5: Analysis of the influence of calving season and sex of calves on the monitored traits**

Source	Dependent Variable	Mean Square	F <sub>(3.1007)</sub>	Sig.
Calving season	Live birth weight	84.65	5.79	***
	Live weight at 210 days	1830.27	1.17	*
Source	Dependent Variable	Mean Square	F <sub>(1.1007)</sub>	Sig.
Sex of calves	Live birth weight	492.02	34.22	***
	Live weight at 210 days	15731.36	10.22	***

Higher values of slaughter characteristics were determined in the category of bulls (Table 6). Higher carcass fleshiness was found in slaughtered bulls (1.65) compare to heifers (2.50). Contrariwise, carcasses of heifers had higher scores for fatness. Our results of dressing percentage in the Slovak Simmental bulls showed a lower value (54.97%) compared to the results of Bartoň et al. (2003), who noted dressing percentage of 57.3% in the Czech Spotted Breed. The lower values of dressing percentage in the monitored group compared to the literature as well as our other findings could be explained by the fact that even we evaluated animals with proportion >50% of Slovak Simmental, in monitored group were also Slovak Simmental crossbreeds with milking breeds in different proportions.

**Table 6: Statistical characteristics of slaughter value of monitored animals**

Slaughter characteristics	Heifer (n = 55)	Bulls (n = 20)
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
SW (kg)	417.12 ± 86.29	560.74 ± 60.61
AS (months)	26.31 ± 5.53	24.10 ± 1.07
CW (kg)	215.35 ± 45.25	307.06 ± 32.78
DP (%)	51.61 ± 0.72	54.97 ± 0.05
NG (g)	285.64 ± 58.33	424.83 ± 52.60
ACFHG	2.50 ± 1.05	1.65 ± 0.46
ACFSG	2.32 ± 0.77	1.96 ± 0.24

Following the values given in Table 7, most of monitored slaughter characteristics were influenced statistically highly significant ( $P < 0.001$ ) by slaughter category. Live weight at birth did not influenced slaughter parameters ( $P > 0.05$ ).

**Table 7: Analysis of influence of various factors on selected slaughter characteristics**

Source	Dependent Variable	Mean Square	F <sub>(1,77)</sub>	Sig.
Slaughter category	Carcass weight	351265.46	154.10	***
	Dressing percentage	273.47	1696.52	***
	Netto gain	734438.46	113.24	***
	Average carcass fleshiness grade	8.88	13.24	***
	Average carcass fatness grade	1.01	2.88	ns
Source	Dependent Variable	Mean Square	F <sub>(3,77)</sub>	Sig.
Birth live weight	Carcass weight	25.01	0.50	ns
	Dressing percentage	14565.42	0.65	ns
	Netto gain	2.90	0.97	ns
	Average carcass fleshiness grade	14984.96	1.06	ns
	Average carcass fatness grade	0.88	1.15	ns
Source	Dependent Variable	Mean Square	F <sub>(35,77)</sub>	Sig.
Live weight at 210 days	Carcass weight	52.13	2.19	***
	Dressing percentage	27622.84	1.64	*
	Netto gain	3.29	1.91	*
	Average carcass fleshiness grade	0.87	1.30	ns
	Average carcass fatness grade	0.37	1.05	ns

According to SEUROPE classification grading system 35% of bulls were classified in grade of fleshiness E/2. The highest percentage of heifers was classified in the grade E/2 and R/2 (18.18%). Significant and positive correlations between age at slaughter and slaughter weight as well as between slaughter weight and dressing percentage were revealed. Contrariwise, negative highly significant correlation was found between age at slaughter and netto gain, since weight gain

decreases with age of animal. Different to our finding, Čirić et al. (2017) noted negative correlation between slaughter weight and dressing percentage.

## Conclusion

In monitored representative sample of animals, predominantly easy, unproblematic calving was found. Within the verification of the effect of live weight at birth on the calving difficult score was determined significant influence at the level  $P < 0.001$ . Within the evaluation of the organization of the calving season, any strict organization as winter, resp. spring calving were not revealed. In winter season calved 36.5% of monitored cows, contrariwise less calves were born in summer calving season (4.99%). Highest percentage of calving were noted in December (17.17%), March (16.96%) and April (14.57%). High growth intensity of calves was determined in calves under the age of 120 days, which can be related to the excellent milk yield of cows of monitored breed. Our results confirmed differences in growth characteristics between sexes of calves. Based on the analysis of variance, season of calving significantly influenced the live weight of calves at birth at the level of significance  $P < 0.001$ .

## Acknowledgement

The project was supported by the Grant KEGA No. 015SPU – 4/2019

## References

- Bartoň L., Teslík V., Zahrádková R., Bureš D. (2003): Growth, feed efficiency and carcass characteristics of Czech Pied and Holstein bulls. *Czech Journal of Animal Science*, 48. 11. 459–465.
- Bjelka M., Homola M. (2006): Low input systémy chovu skotu pro využití v LFA ČR, Šetrné čerpání přírodních zdrojů a údržba krajiny pomocí krav bez tržní produkce mléka, Rapotín, 104–120.
- Bujko J., Candrák J., Strapák P., Žitný J., Hrnčár C., Koristek J. (2019): Evaluation the Birth Weight of Calves in Selected Herds of Slovak Spotted Cattle. *Scientific Papers: Animal Science and Biotechnologies*, 52. 1. 48–51.
- Crosson P. (2015): How to economically achieve a 365-day calving interval for suckler cows. [online]. Available at: [www.agriland.ie/farming-news/how-to-economically-achieve-a-365-day-calving-interval-for-suckler-cows-teagasc/](http://www.agriland.ie/farming-news/how-to-economically-achieve-a-365-day-calving-interval-for-suckler-cows-teagasc/). [Accessed: 2019, November 10].
- Cushman R. A., Allan M. F., Thallman R. M., Cunduff L. V. (2007): Characterization of biological types of cattle (Cycle VII): Influence of postpartum interval and oestrus cycle length on fertility. *Animal growth, physiology, and reproduction, Journal of Animal Science*, 85, 2156–2162.
- Golda J., Říha J., Vrchlabský J., Vaněk D., Lehar R. (2000): Extensive cattle production and improvement, ACHMP and VÚCHS Rapotín, 119.
- Gregory K. E., Cunduff L. V., Koch R. M. (1991): Breed effects and heterosis in advanced generations of composite population for birth weight, birth date, dystocia and survival as traits of dam in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 69. 9. 3574–3589.

- Griffin W. (2011): The effect of calving season and wintering system on cow and calf performance and economics from conception through finishing and the effect of supplementing dried distillers grains to calves in forage based systems: Theses and Dissertations, University of Lincoln – Nebraska, 34-70.
- Ćirić J., Lukić M., Radulović S., Janjić J., Glamočlija N., Marković R., Baltić M.Ž. (2017): The relationship between the carcass characteristics and meat composition of young Simmental beef cattle. IOP Conference Series Earth and Environmental Science, 85. 1. 012061, 6.
- Mackinnon M.J., Taylor J. F., Hetze D.J.S. (1990): Genetic variation and covariation in beef cow and bull fertility. Journal of Animal Science, 68. 1208–1214.
- Olšanská B., Candrák J. (2018): The analysis of factors affecting the calving difficulty in Slovak Spotted cattle. Acta fytotechnica et zootechnica, 21. 3. 119–124.
- Szabó F. (1998): Húsmarhstenyésztés, Mezőgazda Kiadó, Budapest, 375.
- Szabó F., Nagy L., Dákay I., Márton D., Török M., Bene S.Z. (2006): Effects of breed age of dam birth year, birth season and sex on weaning weight of beef calves. Livestock Science, 103. 1-2. 181–185.
- Strapák P., Vavrišínová K., Candrák J., Bulla J. (2000): Calving ease and birth weight of calves of Slovak Simmental cows. Czech Journal of Animal Science, 45. 7. 293–299.
- Titterton F. M., Morisson S. J., Lively F. O., Wylie A. R. G., Gordon A. W., Browne M. R. (2015): An analysis of Northern Ireland farmers' experiences of using a target driven beef heifer growth management plan and development of an empirical model leading to the launch of a decision support tool to promote first calving of beef heifers at 24 months. Agricultural Systems, 132. 107–120.
- Zahrádková R., Bartoň L., Brychta J., Bureš D. (2009): Masný skot od A po Z, ČSCHMS Praha, 397.

## IVARI KROMOSZÓMÁK ARÁNYÁNAK VIZSGÁLATA INTERSZEX KECSKE KIMÉRA SZÖVETEIBEN

*Klecska Eszter<sup>1</sup>, Biró Bálint<sup>1,2</sup>, Egerszegi István<sup>1</sup>, Fábíán Renáta<sup>1,2</sup>,  
Hiripi László<sup>2</sup>, Oláh János<sup>3</sup>, Kovács András<sup>3</sup>, Bodó Szilárd<sup>1,4</sup>*

<sup>1</sup>Szent István Egyetem, 2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.

<sup>2</sup>NAIK-Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet, 2100Gödöllő, Szent-Györgyi Albert u.4.

<sup>3</sup>Debreceni Egyetem, 4032 Debrecen, Böszörményi út 138.

<sup>4</sup>NAIK-Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, 2053 Herceghalom,  
Gesztenyés út 1.

biro.balint@abc.naik.hu

Received – Érkezett: .19. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: .12. 04. 2020.

### Összefoglalás

Az emlősállatok kimérizmusának számos megjelenési formáját ismerjük. A kimérák genetikai állományukat tekintve eltérő származású sejtekből állnak. Az élettudományban a kiméra modellek óriási jelentőséggel bírnak (pl.: őssejtkutatás, xenotranszplantáció). A jelenség hátterében a *Bovidae* családnál, leggyakrabban az ellenkező nemű ikervemhesség esetén kialakuló freemartinizmus áll. Az embrionális fejlődés különböző szakaszaiban a magzatoknál a placenta véredény anasztomózisok révén az ikrek vére, hormonjai és egyes vérképző sejtjei keveredhetnek egymással. Ez a folyamat a nőivarú egyed meddőségéhez vezethet. A jelen tanulmányban vizsgált kecske kiméra eltérő nemű ikervemhességből született, és a véresejtek kromoszóma vizsgálata során XX-XY (52-48%) genotípust mutatott.

Célunk az volt, hogy 13 szövettípusban meghatározzuk a ivari kromoszómák arányát. Ennek kimutatása az AMEL génre tervezett, fluoreszcens jelölt primer segítségével, PCR-rel történt. A fragmentanalízist követően, AUC aránypárosítással megkaptuk a különböző szövetekben található ivari kromoszómák arányát. Az eredményekből egyértelműen látszott, hogy ez az arány szövettípusonként eltérő képet mutatott. Ezek után a szexdeterminációhoz használt AMEL gén ivari kromoszóma specifikus fragmentjeinek klónozása és szekvenálása történt. A szekvenciaillesztés során láthatóvá vált az Y kromoszóma specifikus AMEL gén deléciója.

**Kulcsszavak:** kiméra, freemartinizmus, kromoszóma, kecske

### Investigation of xy ratio in different tissues of an intersex goat chimera

#### Abstract

Many forms of chimerism in mammals are known. Chimeras are made up of cells of different origins. In life science, chimeric models are important (eg. stem cells, xenotransplantation). The most common background of chimerism in the *Bovidae* family is freemartinism, which develops during different sex gestations. At different stages of embryonic development, the fetal vasculatures form anastomoses in the placenta, allowing the twins' blood to mix, which results in



the exchange of hormones and some hematopoietic cells. This can lead to female infertility. The goat chimera of this study was born from twin gestation and showed genotype XX-XY (52-48%) in the blood cell assay.

Our goal was to determine the ratio of sex chromosomes in 13 tissue types. This was detected by PCR using a fluorescent labeled primer designed for AMEL gene. Fragment analysis followed by AUC ratio matching gives the ratio of sex chromosomes in various tissues. We found that this ratio is different in the studied tissues. Afterwards, AMEL fragments were cloned and sequenced. Sequence alignment revealed the deletion of AMEL-Y gene.

**Keywords:** chimera, freemartinism, chromosome, goat

## Irodalmi áttekintés

Szabályos embrionális ivari differenciálódáskor a kromoszómális, a gonadális, a genitális és a viselkedésben megnyilvánuló ivar összhangban van egymással. Az összhang megbomlásakor alakulhatnak ki az ivarszervek rendellenességei. Ezeknek hátterében az esetek nagy részében az interszexualitásnak valamelyik típusa áll (Bordán és mtsai, 2015). Interszexualitáson azt értjük, amikor az embrionális kori ivarfejlődés különböző belső vagy külső hatások miatt szabálytalan irányban halad. Kialakulása egyrészt lehet öröklött alapú. Monogénes öröklésmentnél beszélhetünk például Müller-cső-perzisztencia szindrómáról, tesztikuláris feminizációról, XX hím ivari átfordulásról és XY nőstény ivari átfordulásról is. Másik lehetséges ok a nem-örökletes fejlődési rendellenességek kialakulása, ide soroljuk például a kromoszóma kimérizmust és az ivari kromoszómák számbeli rendellenességeit. Interszexualitáson belül számos megjelenési formát ismerünk, amelyek pontos megállapítása nagy szakértelmet igényel a tünetek sokszínűsége miatt (Zöldág, 2003).

Kromoszóma kimérizmusról akkor beszélhetünk, amikor egy szervezetben belül különböző kromoszóma-garnitúrával rendelkező sejteket találunk. Ezek a sejtek kettő vagy több zigótából is származhatnak. Az elváltozás részletes citológiai vizsgálattal állapítható meg, mivel a kromoszóma-összetétel szövetenként változó képet mutathat (Hámori, 1974). A jelenség hátterében a *Bovidae* családnál, leggyakrabban az ellenkező nemű ikervemhesség esetén kialakuló freemartinizmus áll. Kiváltó oka, hogy a placentában keletkező véredény összeköttetések (anasztomózisok) révén a magzati sejtek és androgén hormonok átkerülhetnek az egyik magzathoz a másikba, mely kifejezett problémát különmemű képetéjű ikrek esetében okoz (Lillie, 1916, Padula, 2005, Kozubska-Sobocińska és mtsai, 2016). A nőivarú embrióban a hím nemi hormonok (tesztoszteron, anti-Müllerian hormon) hatására genitális fejlődési zavar alakul ki, a petefészkek fejletlenek lesznek, a női nemi hormonok termelésére képtelenek, ami meddőséghez vezet. Megfigyelhető herék vagy ovotestis (gonádtípus, melyben a petefészkekre és a herére jellemző szövetek is megtalálhatóak) kialakulása a petefészkek mellett, belső nemi szervek morfológiai képe mindkét nemre jellemző, méhük kicsi és fejletlen, a méhnyak gyakran hiányzik. Egyidejűleg van jelen a szervezetben Müller- és Wolff-cső is (Padula, 2005). Külső nemi szervek az esetek nagy részében nőivarra emlékeztetnek, de interszexuális átmenetet is képezhetnek (Rota és mtsai, 2002). Gyakori jelenség, hogy a freemartin egyedek vaginája rövidebb, mint az egészséges nőivarú egyedeké, ami alapján az ikerellésből született, látszólag nőstény nőivarú állatok elsődleges szelektálását lehetne végezni. Pontos eredményt azonban csak a genetikai vizsgálatok adhatnak (Eldridge és Blazak, 1977, Pourjafar és mtsai., 2012, Kozubska-Sobocińska és mtsai, 2016).

Amennyiben vérképző őssejtek is átjutnak a recipiens embrióba, azok be tudnak épülni a csontvelőjébe és más vérképző szerveibe, ott pedig a postnatális életszakaszban is működésre és osztódásra képesek (Hámori, 1974). Minden esetben megállapítható a vörösvérsejt-kimériszmus. A sejteikben megtalálható ivari kromoszómák aránya sejt- és szövettípusonként eltérő lehet, a vérben ez az arány 50-50% körül alakul (Zöldág, 2003). A különböző szövetekben mérhető arány nagymértékben függ attól, hogy a zigóták sejteinek keveredése az embrionális fejlődés mely szakaszában következett be. Az embriófejlődés korai szakaszában történik az ivari elkülönülés, majd a gonádok differenciálódása, így minél korábban képződnek anasztomózisok, annál súlyosabb formában alakulhat ki freemartinizmus (Kumar és Lakshman, 2019).

A freemartinizmus leggyakrabban szarvasmarháknál fordul elő, mivel az ikervemhességek több mint 90%-ánál kialakulnak anasztomózisok mind az egynemű, mind a különemű magzatok között (Padula, 2005). Kiskérődzők esetében a freemartinizmus kialakulásáról kevés információ áll rendelkezésünkre, mivel kevés tudományosan dokumentált eset van, de a néhány meglévő szakcikk alapján az ikervemhességek közel 5%-ából születnek freemartin egyedek (Szatkowska és mtsai, 2004). Az interszexuálitás valamelyik típusával született kecskegidák közül pedig 6% tartozik a freemartinok közé (Pourjafar és mtsai, 2012).

A freemartinizmusnak gazdaságilag és az élettudományban is nagy jelentősége van. A tejtermelő állományokban nemkívánatosnak számítanak ezek az állatok terméketlenségük miatt. A meddőség gyakran csak felnőttkorban derül ki, így ezeknek az állatoknak a felnevelése komoly gazdasági kiesést eredményezhet. Hústermelés szempontjából viszont a freemartin nőivarúak felülmúlják az egészséges nőivarúakat, így ezek hizlalásra alkalmas állatok lehetnek (Padula, 2005). A téma jelentőségét tovább növeli az a tény, hogy a tartástechnológiai újítások következtében az ikerellések száma növekvő tendenciát mutat. Ez a folyamat szarvasmarha és kiskérődzők esetén is megfigyelhető (Santolaria és mtsai, 2011; Gáspárdy és mtsai, 2018; Kozubská-Sobocinska és mtsai, 2019). Természetesen az ikervemhességek növekvő számának következtében a freemartinizmus előfordulási gyakorisága is jelentős növekedést fog mutatni, ami még fontosabbá teszi egy egyszerűen kivitelezhető, költséghatékony diagnosztikai módszer meglétét. Ezen kívül, gyakran alkalmaznak freemartin kimérákat őssejt kutatásban és immunológiai vizsgálatokban is (Niku és mtsai, 2004).

Kutatásunk célja az volt, hogy 13 szövettípusban meghatározzuk az ivari kromoszómák arányát egy olyan kecskében, amelynek az előzetes vérvizsgálata során megállapítottuk a kromoszóma kimériszmust. Munkánk ezen része (az ivari kromoszómák arányának szöveti alakulása) főként alapkutatási jelentőséggel bír. A kutatás gazdasági jelentőségét az adja, hogy az általunk alkalmazott módszerekkel már egészen fiatal korban minimálisan invazívan (szöveti minta nyerése fülporcból krotális behelyezése során) meg lehet állapítani a kimériszmus tényét. Ennek megfelelően jelen vizsgálattal az volt a célunk, hogy egy olyan egyszerűen kivitelezhető, megbízható módszert implementáljunk, ami lehetőséget ad a szakembereknek, hogy a gazdálkodást szakmailag megalapozott módon tervezhessék a tenyésztésbe nem vonható, steril egyedek időben történő kivonásával.

## Anyag és módszer

A vizsgálathoz szükséges szöveti mintákat egy olyan nőivarú kecskéből vettük, ami a tenyésztésbevitel után többszöri termékenyítés ellenére sem vemhesült. Ismert volt, hogy az állat eltérő nemű ikervemhességből született, így felmerült a freemartinizmus lehetősége. Az előzetes vizsgálat során a vérből egyértelműen kimutatható volt az Y kromoszóma jelenléte. A részletes

vér kromoszóma vizsgálat alapján megállapítottuk, hogy a genotípusa 52%-ban XX, 48%-ban pedig XY volt. Ezt követően az állat levágásra került és 13 különböző szövetből történt mintavétel. A mintázott szövetek a következők voltak: agy, bőr, szív, izom, tüdő, gyomor, máj, lép, vese, bél, húgyhólyag, csontvelő és here. A szöveteket PBS oldatban átmostuk, majd a felhasználásig  $-70^{\circ}\text{C}$ -on tároltuk.

A kutatás első részében az ivari kontroll minták vizsgálatát végeztük. Ezek krotáliával való jelölés során a fülből eltávolított porc szövetdarabok voltak, amelyekből fenol-kloroformos extrakcióval izoláltuk a genomi DNS-t, majd PCR-rel megállapítottuk, hogy valóban XX anyától és XY baktól származnak-e. Ezeket a mintákat használtuk később a PCR reakció optimalizálásához hőmérséklet, majd ciklus gradiens amplifikációkat folytatva. Az ismert genotípusú tényleges ivari kontrollok mintákból háromtagú hígítási sort készítettünk. Ezeknek a mintáknak a fluoreszcens értékeit használtuk a 13 szöveti minta eredményeinek validálására. A PCR-hez az AMEL génszekvenciára tervezett fluoreszcens jelölt primereket használtuk. A forward primer szekvenciája: 5'-ctccatgactccaaccaac-3'. A reverz primer szekvenciája: 5'-acttctcccgttggtt-3'.

Ezután következett a 13 minta vizsgálata. Lizis puffer és proteináz-K hozzáadásával egy éjszakán át  $37^{\circ}\text{C}$ -on ráztuk a szöveteket. A genomi DNS izolálását ebben az esetben is fenol-kloroformos módszerrel végeztük. A koncentráció vizsgálatot követően (NanoDrop)  $100\text{ ng}/\mu\text{l}$ -re hígítottuk a mintákat. A PCR programnál a már előzetesen megállapított ciklusszámot és primer tapadási hőmérsékletet alkalmaztuk (1. táblázat).

### 1. táblázat: A PCR program beállításai

1. fázis Kezdeti denaturáció	2. fázis x 27 ciklus			3. fázis Végző lánchosszabbítás
	Denaturáció	Kitapadás	Lánchosszabbítás	
98°C	98°C	55°C	72°C	70°C
5 perc	5 másodperc	5 másodperc	10 másodperc	1 perc

Table 1: The applied PCR settings

A fragmentanalízist a gödöllői székhelyű Biomi Kft. végezte. A visszakapott adatokat Peak Scanner programmal kiértékelve, AUC aránypárosítással megkaptuk a különböző szövetekben található ivari kromoszómák arányát.

Ezek után a szexdeterminációhoz használt AMEL gén ivari kromoszóma specifikus fragmentjeinek klónozása és szekvenálása történt. A klónozáshoz használt vektor a pJET 1.2 blunt plazmid volt, amelyen egy letális szelekciós marker található. Ebbe a plazmidba ligáltuk be az inszertet, amelyet PCR-rel sokszorosítottunk fel Phire Hot Start II DNS polimeráz enzim használatával, ami tompa véget eredményez. A ligált plazmiddal a *DH5a E. coli* törzset transzformáltuk, majd ampicillines ( $1\mu\text{l}/1\text{ml}$ ) szilárd LB táptalajon növesztettük  $37^{\circ}\text{C}$ -on egy éjszakán át. A letális markerre és ampicillinre alapozott szelekcióban, csak azokból a baktériumokból tudott telep fejlődni, amelyben az inszerttel rendelkező plazmid jelen volt. A felnőtt telepeket folyékony ampicillines ( $\mu\text{l}/\text{ml}$ ) LB tápoldatba átolítottuk és egy éjszakán át  $37^{\circ}\text{C}$ -on ráztuk. A következő napon ezekből a bakteriális sejtszuszpenziókból izoláltuk a plazmidokat Macherey Nagel™ NucleoSpin Plasmid EasyPure kittel. Az izolátumokból  $300\text{ ng}$ -nyit küldtünk el szekvenálni. A szekvenálást az Eurofins Genomics végezte.

A visszkapott AMEL-X és AMEL-Y szekvenciákat szekvencia illesztő program segítségével hasonlítottuk egymáshoz.

### Eredmények és értékelés

Az 1. ábrán bemutatott eredményekből egyértelműen látszik, hogy az ivari kromoszómák aránya szövettípusonként eltérő képet mutat. Az általunk vizsgált 13 szövettípus mindegyikében kimutatható volt az Y kromoszóma jelenléte is.

**1. ábra: A különböző szövetek ivari kromoszóma aránya**

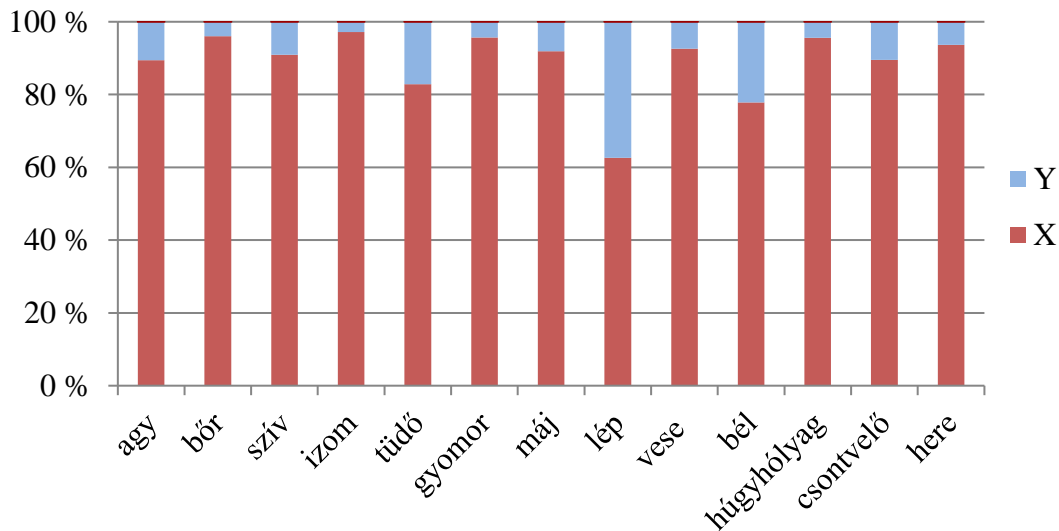


Figure 1: The sex chromosome ratio amongst different tissues

Valamennyi szövetben az X kromoszóma 80% feletti részesedéssel volt jelen. Kivételt képeznek a lépből és a bélből származó minták. A lépből vett minta esetén volt tapasztalható a legnagyobb negatív irányú eltérés az átlaghoz viszonyítva, míg a bőr, az izomszövet és a húgyhólyag mutatta a legmagasabb, 95% feletti X kromoszóma arányt.

A kromoszóma arányokból következtetni lehet a szöveteken belül megtalálható sejtek ivararányára is (2. táblázat). Ebben a tekintetben is az előzőleg említett bőr, izomszövet és húgyhólyag minták mutatták a legmagasabb XX ivarú sejt jelenlétet.

**2. táblázat: Sejtek ivararánya szövettípusonként (%)**

	XX	XY		XX	XY		XX	XY
<b>Agy</b>	79	21	<b>Gyomor</b>	91	9	<b>Húgyhólyag</b>	91	9
<b>Bőr</b>	92	8	<b>Máj</b>	84	16	<b>Csontvelő</b>	79	21
<b>Szív</b>	82	18	<b>Lép</b>	25	75	<b>Fejletlen here</b>	87	13
<b>Izom</b>	94	6	<b>Vese</b>	85	15			
<b>Tüdő</b>	66	34	<b>Bél</b>	56	44			

Table 2: The cellular sex ratio amongst different tissues

A szekvenciaillesztés (2. ábra) során láthatóvá vált az Y kromoszóma specifikus AMEL gén deléciója. A 2. ábrát szemlélve feltűnően sok a két összehasonlított szekvencia közötti nem egyező nukleotid, ún. mismatch. Ez az elszigetelten megjelenő egy nukleotid párt érintő egynukleotidos polimorfizmus (ún. SNP-k) esetekben teljes mértékben természetes. Ilyen SNP-k láthatók például a 70-80-as és a 110-120-as pozíciójú nukleotidok között. A kettő, három esetenként négy nukleotidos mismatch-ek (például 60-70-es, 160-as és 190-200-as pozícióban) egyértelműen szekvenálási hibáknak tudhatók be, amelyek a szekvenálási fájlok kromatogramjain jól láthatók (ezeket a kromatogramokat itt nem mutatjuk be).

A 170-es pozícióban látható ún. GAP a Multalin többszörös szekvenciaillesztéseket lehetővé tevő online program által használt Needleman-Wunsch algoritmus pontozási mátrixára vezethető vissza. Ez a négy nukleotidos GAP a szekvenciaillesztés eredményét nem befolyásolja.

2. ábra: AMEL-X és AMEL-Y szekvenciák páros illesztése

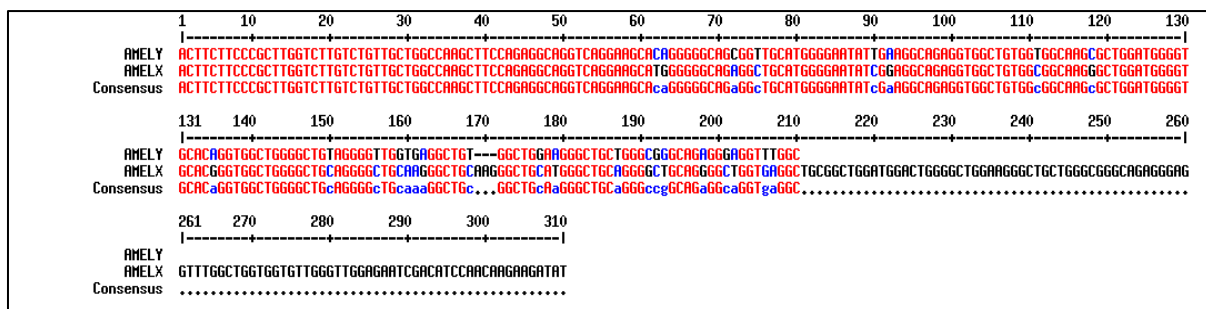


Figure 2: The pairwise alignment of AMEL-X and AMEL-Y

### Következtetések és javaslatok

Az eredmények bizonyítják, hogy a freemartinizmust nem csak vérvizsgálat alapján lehet szűrni, hanem egyéb szövettípusokból is. A freemartinizmus esetén kimutatható szövettípusonként eltérő ivari kromoszóma összetételről szóló közlemény a kézirat benyújtásakor nem volt fellelhető, így ezeknek az eredményeinknek az összevetése nem volt kivitelezhető. A szövettípusonként eltérő ivari kromoszóma arány kimutatása nem rendelkezik gazdasági jelentőséggel, pusztán az alap kutatás szempontjából fontos, azonban ígéretes további kutatási lehetőséggel kecsegtet. Egér modellállatban több évtizede léteznek megalapozott módszerek kiméra egyedek létrehozására (Eckardt és mtsai, 2011). Ilyen kiméra modellorganizmusok létrehozásával és tanulmányozásával betekintést nyerhetnénk, hogy a kimérizmusnak az általunk vizsgált típusa mi módon alakul ki és képet kaphatnánk, hogy mi a magyarázat a szövettípusonként eltérő ivari kromoszóma összetételre. A további kutatási lehetőségek ezen irányba a humán transzlációs medicina és embriológia számára is érdekes eredményekkel szolgálhat, hiszen bevett módja a humán betegségek jobb megértésének a modellorganizmusok felhasználása (Lampert és mtsai, 2018).

A kutatásunk gyakorlat során hasznosítható eredménye mindenképpen az, hogy sikerült kiskérődzők számára is kidolgozni egy olyan módszert, ami költséghatékony, minimálisan invazív mintavételt kíván és egyszerűen elvégezhető és alkalmas a kimérizmus kimutatására. Kozubská-Sobocinska és mtsai (2019) közleményükben a freemartinizmus korai diagnózisának lehetőségeit részletezték szarvasmarhában. Vizsgálataikban beszámolnak róla, hogy az általuk megvizsgált

főként molekuláris diagnosztikai eljárásoknak az az óriási előnye az addig alkalmazott hematológiai, kariotípus vizsgálatokkal szemben, hogy a mintavételhez nem kell szakértelem, ráadásul a minták tárolása és feldolgozása sem igényel különösebb körültekintést. Kiskérődzőkn kivitelezett hasonló kutatásokról jelen közleményünk számol be elsőként. Eredményeinknek állatjóléti vonatkozásai is lehetnek, mivel csökkenthető lenne az állatokon végzett beavatkozások száma. Például jó gyakorlat lehet, hogy az amúgy is kötelező krotália behelyezése során gidakorban a krotália által kivágott fülporcból történjen meg a vizsgálat. Így minimálisan invazív beavatkozással már néhány napos korban kiszűrhetők lennének a kétes egyedek. A mintavétel egyszerűségéből adódóan nagyobb állományok is mintázhatók akár rövid idő alatt.

A freemartinizmus gidakori szűrésével a gazdaságok mérsékelhetnék a felnőttkorban meddőség miatt selejtezésre kerülő egyedek számát, ami adott gazdaság genetikai anyagának beszűkülését és a genetikai előrehaladását tekintve korán sem elhanyagolható szempont. Ezen túl ezzel a módszerrel a steril egyedek felneveléséhez szükséges takarmányra és állatorvosi kezelésekre fordított kiadásokat is csökkenteni lehet.

Ahhoz, hogy részletesebben feltárhassuk a freemartinizmus hatásait, a jövőben szükség lehet az ivarspecifikus expressziót mutató gének RT-q-PCR analízisére és RNS minták vizsgálatára, illetve a fentebb részletezett kiméra modellszerkezet létrehozására. A továbbiakban szeretnénk minél több egyedben elvégezni hasonló vizsgálatokat, így lehetőségünk nyílna az adatok statisztikai feldolgozására.

## Köszönetnyilvánítás

A szerzők köszönik Fehér Éva kecsketenyésztő segítségét.

A kutatást az Emberi Erőforrás Támogatáskezelő Nemzeti Tehetség Program – Nemzet Fiatal Tehetségeiért Ösztöndíj támogatta (NTP-NFTÖ-18-B-0162).

## Irodalomjegyzék

- Bordán J., Kovács A., Bodó Sz.* (2015): A kecskék szarvatlanságához kapcsolódó interszexualitás vizsgálata. *Agrártudományi Közlemények*, 65. 11–15.
- Eckardt, S., McLaughlin, K. J., Willenbring, H.* (2011): Mouse chimeras as a system to investigate development, cell and tissue function, disease mechanisms and organ regeneration. *Cell Cycle*, 10(13), 2091–2099.
- Eldridge, F. E., Blazak, W. F.* (1977): Chromosomal analysis of fertile female heterosexual twins in cattle. *Journal of dairy science*, 60. 3. 458–463.
- Gáspárdy, A., Sheridan, J., Ari, M., Gulyás, L.* (2018): Twin calving and its connection to other economically important traits in dairy cattle. In *Ruminants-The Husbandry, Economic and Health Aspects*. IntechOpen.
- Hámori D.* (1974): Háziállatok öröklődő alkati hibái és betegségei. Akadémia Kiadó, Budapest
- Kozubská-Sobocińska, A., Danielak-Czech, B., Rejduch, B.* (2016): Cytogenetic and molecular diagnostics of XX/XY chimerism in cattle, sheep, and goats—a review. *Annals of Animal Science*, 16. 4. 989–1005.
- Kozubská-Sobocińska, A., Smolucha, G., Danielak-Czech, B.* (2019): Early diagnostics of freemartinism in polish Holstein-friesian female calves. *Animals*, 9. 11. 971.

- Kumar, Y. R., Lakshman, M.* (2019): Freemartin – A small review. *International Journal of Science and Research*, 8. 3. 108–109
- Lamprecht Tratar, U., Horvat, S., Cemazar, M.* (2018): Transgenic mouse models in cancer research. *Frontiers in oncology*, 8, 268.
- Lillie, F. R.* (1916): The theory of the free-martin. *Science*, 43. 1113. 611–613
- Niku, M., Ilmonen, L., Pessa-Morikawa, T., Iivanainen, A.* (2004): Limited contribution of circulating cells to the development and maintenance of nonhematopoietic bovine tissues. *Stem Cells*, 22. 1. 12–20.
- Padula, A. M.* (2005): The freemartin syndrome: an update. *Animal Reproduction Science*, 87. 1-2. 93–109.
- Pourjafar, M., Badiei, K., Sharifiyazdi, H., Naghib, S., Chalmeh, A., Divar, M.* (2012): Application of hormonal and single multiplex PCR assays for detection of freemartinism in a horned goat. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 38. 2. 175–181.
- Rota, A., Ballarin, C., Vigier, B., Cozzi, B., Rey, R.* (2002): Age dependent changes in plasma anti-Müllerian hormone concentrations in the bovine male, female, and freemartin from birth to puberty: relationship between testosterone production and influence on sex differentiation. *General and comparative endocrinology*, 129. 1. 39–44.
- Santolaria, P., Palacin, I., Yániz, J.* (2011): Management factors affecting fertility in sheep. In *Artificial Insemination in farm animals* (pp. 167-190). Intech Rijeka.
- Szatkowska, I., Zych, S., Udała, J., Dybus, A., Błaszczuk, P., Sysa, P., Dąbrowski, T.* (2004): Freemartinism: three cases in goats. *Acta Veterinaria Brno*, 73. 3. 375–378.
- Zöldág L.* (2003): *A háziállatok öröklődő betegségei*. Mezőgazda Kiadó, Budapest, 405 p



## SLOVAK DAIRY SHEEP – NEW COMPOSITE SHEEP BREED RAISED IN SLOVAKIA

<sup>1,2</sup>Margetín Milan, <sup>1</sup>Janiček Martin, <sup>1</sup>Vavrišinová Klára, <sup>2</sup>Pavlík Ivan, <sup>2</sup>Huba Ján, <sup>2</sup>Oravcová Marta, <sup>1</sup>Hozáková Katarína

<sup>1</sup>Slovak Agricultural University in Nitra, Faculty of Agrobiological Sciences and Food Resources, Department of animal husbandry, 94976 Nitra (SK), Tr. A. Hlinku 2, <sup>2</sup>NAFC–Research Institute for Animal Production Nitra, 95141 Lužianky (SK), Hlohovecká 2  
Milan.Margetin@uniag.sk

Received – Érkezett: 15. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 13. 05. 2020.

### Abstract

In the beginning of 1990–ies, the programme of formation of synthetic population of Slovak Dairy sheep (SD) was launched. The establishment of breed was divided into two periods: first, crosses of local breeds (Improved Valachian - IV, Tsigai - Ts and Merino) with improving breeds (Lacaune - LC, East Friesian - EF) of various proportions were formed; second, a close (inter se) breeding scheme within the crossbred population was applied. At present, five thousands SD ewes are included in performance testing. Milk and reproduction traits were analyzed using mixed model methodology during the period between 1995 and 2015. The standardized milk yield (SMY) and average daily milk yield (ADMY) increased more than twice:  $79.8 \pm 5.36$  l (1995) vs.  $164.0 \pm 2.04$  l (2015) and  $495.1 \pm 33.5$  ml (1995) vs.  $1035.3 \pm 12.8$  ml (2015), respectively. In ten percent of most productive ewes, SMY was equal to 257.6 l, ADMY was equal to 1604 ml and dry matter was equal to 26.6 kg. Ewes of SD have good udder traits. Litter size in top 50 % flocks is above 150 %. The population of SD was recognized as a new dairy breed in 2017. In 2017-2019 the best flocks achieved milk production higher than 220 liters. Based on a comprehensive analysis of the genetic structure of SD we found that the overall genetic proportion of improving breeds is in new breed 60%. The remaining 40% are domestic breeds, of which IV and Ts genes are represented in the SD breed at approximately the same level (18%).

**Key words:** dairy ewes, composite breed, milk traits, reproduction, genetic structure

### STATE OF THE ART

Following breeder's goals oriented towards high production, reproduction and functional traits of dairy sheep in Slovakia, the improving programme with an intention of forming improved sheep population fitting semi-extensive production system was launched in Slovakia in 1990-ies. This was programme of forming Slovak Dairy Sheep (SD). The breeding scheme was divided into two periods (Margetín and Čapistrák 1994; Margetín et al., 2000a,b,c). First, crosses of local breeds (Improved Valachian (IV), Tsigai (TS) and Merino (M)) with improving specialized breeds (Lacaune (LC), East Friesian (IF)) of various proportions were formed in some flocks involved in performance testing. Preliminary evaluations of crossbreds with proportion of LC and EF ranged from 12.5 to 87.5 % were aimed at analyses of milk traits and litter size that are considered as economically most important traits (Apolen et al., 2000; Čapistrák et al. 2000, 2002, 2005, Margetín et al., 1993, 1999a,b). Further analyses showed that population with good shape udder, of appropriate cistern size and





milkability was formed (Čapistrák et al., 2006a,b; Mačuhová et al., 2008; 2009; Margetín et al., 2005b,c; Margetín et al., 2011a,b; Milerski et al., 2005, 2006; Tančín et al., 2011). Crossbreds with various proportions of LC and IF were also confirmed to be of good growth traits both till and after weaning (Margetín et al. (2004a,b). In addition, genetic parameters and variance components of udder morphology and milkability traits were preliminary studied (Margetín et al. 2005a, 2008).

Second, a close (inter se) breeding scheme within the crossbred population was proposed (Margetín et al., 2010, 2011c, 2012b) and applied taking into account results of analyses during first period of programme. The aim was to stabilize composite population using inter se (i.e. purebred) mating scheme that included dam and sire animals used as parents of the next generation that were selected according to their breeding values for milk and litter size traits. During this period, a lot of analyses were also done. Performance testing data of flocks involved in the programme were used for evaluation. These included analyses of udder morphology and milkability traits since one goal was to form population of ewes that fit machine milking (Margetín et al., 2013b; Makovický et al., 2019a), have good udder morphology and functional traits (Margetín et al., 2012a; Makovický et al., 2013, 2014, 2015a, 2017a), are of appropriate cistern size (Margetín et al., 2011d; Makovický et al., 2015b,c; 2019b) and of minimal mastitis occurrence (Margetín et al. 2013a). Growth curves of lambs of various proportions of LC and EF within IV and TS genotypes were compared (Makovický et al., 2017b). Genetic parameters of milkability traits and somatic cell score were also studied (Makovický et al. 2018).

In 2016, a complex analysis of SD synthetic population involving period 1995 to 2015 was done. Mixed model methodology (SAS, ver. 9.2) was employed. When milk yield during milking period (MY), standardized (SMY) and daily milk yield (DMY) as well as fat % (F%), protein % (P%), dry matter % (DM%), free of fat dry matter (DM-F%) and usable dry matter (UDM; kg) were investigated, following fixed effects: flock (52 levels), year (21 levels), parity (3 levels: first, second and third+ parity), litter size (4 levels: one lamb, two, three + lambs born and missing information about number of lambs born), covariates: milking period (in days) and interval between lambing and first test-day measurement (days) and random effect of ewe were considered. A total, 20511 records that belonged to 11026 ewes (1.86 records per ewe) entered the model for analyses of MY, SMY, DMY and 18081 records entered the model for analyses of F%, P%, DM-F% and UDM. When litter size was investigated, the following fixed effects: flock (26 levels), year (19 levels) and age of dam (8 levels, one year old up to eight+ years old) and random effect of ewe were considered. A total, 30034 litter size records that belonged to 9671 ewes entered the model.

Study of Margetín (2016) confirmed that improving programme that resulted in acknowledgement of SD sheep with more favourable traits than those of local breeds was fulfilled. During period of 21 years (from 1995 to 2015), SMY increased about twice (from 79.8 l in 1995 to 167.0 l in 2015). Similarly, DMY and production of usable dry matter increased by 109 and 79 %. Most productive flocks reached MY ranging from 170 to 190 l. Top 10 % ewes reached SMY above 250 l, DMY reached more than 1600 ml and production of usable dry matter was above 26 kg. Average F% and P% slightly decreased (7 and 2.4 %, respectively). Also, ewes of SD population were of good udder morphology and functional udder traits. Prolificacy did not fulfill expectations and was equal to 141.1 %. Nevertheless, it was about 160 % in top flocks. Average daily gain till weaning was about 300 g in male lambs and about 260 g in female lambs. The frequency of ARR allele of the prion gene ranged from 0.711 to 0.789 (Margetín et al., 2016).

Results of SD sheep flocks resulted in fact that this population was recognized as a native breed on May 26, 2017. Detailed information about history of breeding this population can be found in study of Margetín et al. (2017). Moreover, the importance of development of



this population from social and breeder's point of view is described in study of *Margetín* (2017a,b). In 2017-2019 the best flocks achieved milk production higher than 220 liters. The average fat content of ewes in the performance control (15 flocks) was 7.01 resp. 7.03 % and protein content of 5.60 resp. 5.43% in 2017 and 2018. Based on a comprehensive analysis of the genetic structure of SD we found that the overall genetic proportion of improving breeds (LC, EF) is in new breed 60%. The remaining 40% are domestic breeds, of which IV and Ts genes are represented in the SD breed at approximately the same level (18%; *Margetín et al.* (2018b). Based on the analysis of SD breed, we can conclude that the genes of LC breed are more prevalent (54 %) in the SD breed than the EF genes (6 %), although the chances of both improving breeds at the beginning of the breeding process were equal (breeding programs recommended use both breeds).

## CONCLUSION

Population of SD breed is accordingly large (more than 5 ths. females in performance testing, 35 % yearling females enter mating schemes), so it can be successfully bred in Slovakia in the future. Breeders are satisfied with level of production and reproduction traits reached (*Pavlík et al.*, 2017; *Chreněk et al.*, 2018; *Margetín et al.*, 2018a, 2019). With respect to appropriate effective population size, it is important that more than 300 sires of Slovak Dairy sheep are produced each year. In the next years, not only numbers of SD population, its production and reproduction traits, but also its exterior traits including wool characteristics need to be continuously stabilized (*Margetín*, 2017c).

## ACKNOWLEDGEMENTS

The study was supported by the projects VEGA 1/0364/15 and KEGA 015SPU-4/2019.

## REFERENCES

- Apolen, D., Čapistrák, A., Margetín, M.* (2000): Mlieková úžitkovosť a plodnosť kríženiak plemena merino s dojnými plemenami. *Acta fytotechnica et zootechnica*. Nitra : XIX. Dni genetiky, 3. 121.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Apolen, D., Špánik, J.* (2000): Produkcia mlieka a plodnosť oviec plemena zošľachtená valaška, kríženiak s plemenami lacaune a východofrízskym plemenom. *Acta fytotechnica et zootechnica*. Nitra : XIX. Dni genetiky, 3. 120.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Apolen, D., Špánik, J.* (2002): Produkcia a obsah základných zložiek mlieka oviec plemena zošľachtená valaška, lacaune a ich kríženiak. *Vedecké práce VÚŽV Nitra*, 35. 89–96.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Apolen, D., Špánik, J.* (2005): Produkcia a zloženie mlieka bahníc rôznych plemien a ich kríženiak počas dojenej periódy. *Vedecké práce VÚŽV Nitra*, 38. 181–189.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Apolen, D., Špánik, J.* (2006a): Porovnanie morfológických ukazovateľov vemena rôznych genotypov oviec. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 9. mimoriadne vydanie. 179–181.
- Čapistrák, A., Margetín, M., Špánik, J., Apolen, D.* (2006b): Lineárne hodnotenie, miery vemena a produkcia mlieka rôznych genotypov oviec. In: *Zb. přednášek „Ovce , Kozy Seč 2006“*, 10.-11.11.2006. 106-113. ISSN 1213-600X.
- Chreněk, P., Margetín, M., Bulla, J., Kubovičová, E., Kulikova, B., Makarevich, A.* (2018): New Slovak animal breeds. In *Danubian Animal Genetic Resources*. *Proceedings of 29<sup>th</sup> Annual Meeting of Dagene*. 24.-27.6.2018. Hungary, 62-64. ISSN 2498-5910.

- Mačuhová, L., Uhrinčať, M., Mačuhová, J., Margetín, M., Tančín, V. (2008): The first observation of milkability of the sheep breeds Tsigai, Improved Valachian and their crosses with Lacaune. *Czech Journal of Animal Science*, 53. 12. 528–536.
- Mačuhová, L., Uhrinčať, M., Mačuhová, J., Tančín, V. (2009): Milkability of Tsigai, Improved Valachian, and their crosses with Lacaune. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 12. spec. iss. 385–394.
- Makovický, P., Nagy, M., Makovický, P. (2013): Comparison of external udder measurements of the sheep breeds Improved Valachian, Tsigai, Lacaune and their crosses. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 73. 4. 366–371.
- Makovický, P., Nagy, M., Makovický, P. (2014): The comparison of ewe udder morphology traits of Improved Valachian, Tsigai, Lacaune breeds and their crosses. *Mljekarstvo*, 64. 2. 86–93.
- Makovický, P., Margetín, M., Makovický, P. (2015a): Genetic parameters for the linear udder traits of nine dairy ewes , short communication. *Veterinarski Arhiv*, 85. 5. 577–582.
- Makovický, P., Margetín, M., Milerski, M. (2015b): Estimation of udder cistern size in dairy ewes by ultrasonography. *Mljekarstvo*, 65. 3. 210–218.
- Makovický, P., Milerski, M., Margetín, M., Makovický, P., Nagy, M. (2015c): Genetic parameters for the size of udder cisterns in ewes diagnosed by ultrasonography among breeds: Improved Valachian, Tsigai, Lacaune and their crosses. *Archivos de zootecnia*, 64. 248. 403–408.
- Makovický, P., Margetín, M., Makovický, P. (2017a): Estimation of genetic and phenotypic parameters for udder morphology traits in different dairy sheep genotypes. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65. 1. 105–110.
- Makovický, P., Margetín, M., Nagy, M., Makovický, P. (2017b): Growth curves in lambs of various genotypes created on the basis of Improved Valachian and Tsigai breeds. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 65. 1. 111–118.
- Makovický, P., Margetín, M., Nagy, M., Makovický, P. (2018): Genetic parameters for milkability and somatic cell score in Slovak dairy sheep. *Indian Journal of Animal Sciences*, 88. 7. 860–862.
- Makovický, P., Margetín, M., Makovický, P., Nagy, M. (2019a): Machine milkability of East Friesian and Lacaune dairy sheep. *Indian Journal of Animal Sciences*, 89. 6. 686–691.
- Makovický, P., Nagy, M., Margetín, M., Poráčová, J., Milerski, M., Makovický, P. (2019b): Measurement of the mammary gland cistern of dairy ewes. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, 67. 4. 957–961.
- Margetín, M. (2016): Aktuálny stav šľachtenia slovenskej dojenej ovce. *Chov oviec a kôz*, 36. 4. 27–37.
- Margetín, M. (2017a): Nové národné plemeno oviec - slovenská dojná ovca. *Poľnohospodár*, 61. 10. 2.
- Margetín, M. (2017b): Slovenská dojná ovca , praktický výsledok inovačného procesu. *Agromagazín*, 19. 7. 36–37.
- Margetín, M. (2017c): Slovenská dojná ovca , ako ďalej v šľachtení. *Chov oviec a kôz*, 37. 2. 3–4.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Kališ, M. (1993): Produkcia mlieka cigájskych bahníc a kríženiak s východofrízskym plemenom vo vzťahu k hmotnosti jahniat v odchovej fáze. *Journal of Farm Animal Science*, 26. 181–188.
- Margetín, M., Čapistrák, A. (1994): Zámery v šľachtiteľskom programe chovu oviec, kontrole úžitkovosti a dedičnosti. In: *Predpoklady efektívneho chovu oviec v súčasnosti*. Trenčín : Výskumný ústav živočíšnej výroby, Stanica chovu a šľachtenia oviec a kôz, 8–19.
- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A. (1999a): Zošľacht'ovanie merinských oviec v smere mäsovo , mliekovom. *Náš chov*, 59. 5. 17–19.

- Margetín, M., Čapistrák, A., Špánik, J., Apolen, D., Hyžová, A. (1999b): Produkcia, zloženie mlieka a laktáčné krivky bahníc plemena zošľachtená valaška, lacaune a ich kríženíek v období cicania jahniat. *Journal of Farm Animal Science*, 32. 111–119.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D. (2000a): Program zošľachtovania merinských oviec s použitím plemena lacaune a východofrízkeho plemena v šľachtiteľsko - experimentálnych chovoch. *Chov oviec a kôz*, 21. 1,2. 24–27.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D. (2000b): Program zošľachtovania cigájskych oviec s použitím plemena lacaune a východofrízkeho plemena v šľachtiteľsko - experimentálnych chovoch. *Chov oviec a kôz*, 21. 1,2. 27–30.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D. (2000c): Program zošľachtovania valašských oviec s použitím plemena lacaune a východofrízkeho plemena v šľachtiteľsko - experimentálnych chovoch. *Chov oviec a kôz*, 21. 3. 4–7.
- Margetín, M., Bullová, M., Čapistrák, A. (2004a): Rastové krivky jahniat rôznych genotypov vytvorených na báze plemena zošľachtená valaška a cigája. In: *Aktuálne problémy riešené v agrokomplexe [CD]*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 456-461. ISBN 80-8069-488-6.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Špánik, J., Apolen, D., Bullová, M. (2004b): Rastová intenzita jahniat pri tvorbe rôznych genotypov plemena cigája. In: *Chov hospodárskych zvierat v podmienkach EÚ [CD]*. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, 331–337.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D., Oravcová, M., Špánik, J. (2005a): Doterajšie výsledky programu zošľachtovania dojných oviec na Slovensku. In: *Zborník z medzinárodnej vedeckej konferencie „Ekologické a ekonomické aspekty využitia poľnohospodársky znevýhodnených plôch chovom malých preživavcov“*. Žilina : VÚM, 115-122.
- Margetín, M., Milerski, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Oravcová, M. (2005b): Morphology of udder and milkability of ewes of Tsigai, Improved Valachian, Lacaune breeds and their crosses. In: *Conference on „Physiological and technical aspects of machine milking*. Nitra : Slovak Republic, 26. - 28. april 2005, ICAR Technical series no. 10. 259-263. ISSN 1563-2504, ISBN 92-95014-07-3
- Margetín, M., Špánik, J., Milerski, M., Čapistrák, A., Apolen, D. (2005c): Relationships between morphological and functional udder traits and somatic cell count in milk of ewes. In: *Conference on „Physiological and technical aspects of machine milking*. Nitra : Slovak Republic, 26. - 28. april 2005, ICAR Technical series no. 10. 255-258. ISSN 1563-2504, ISBN 92-95014-07-3
- Margetín, M., Makovický, P., Čapistrák, A., Apolen, D., Oravcová, M., Tančin, V. (2008): Odhad genetických parametrov vybraných ukazovateľov charakterizujúcich morfológiu vemena a dojiteľnosť bahníc. In: *CD , zb. z medz. ved. konferencie „Aktuálne problémy riešené v Agrokomplexe“*, 5.12.2008, Nitra : SPU. 234-240. ISBN 978-80-552-0151-1
- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Špánik, J., Margetínová, J. (2010): Postup šľachtenia syntetickej populácie oviec vytvorenej s použitím plemena lacaune a východofrízke. In *Rozvoj metód zlepšovania a efektívnejšieho využívania genofondu zvierat z hľadiska konkurencieschopnosti, kvality produktov a ich zdravotnej bezpečnosti*. Nitra : Centrum výskumu živočíšnej výroby Nitra, Ústav chovu a šľachtenia oviec a kôz Trenčianska Teplá, 57 p.
- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Kulinová, K. (2011a): Results of improvement program in dairy sheep raised in Slovakia with using of Lacaune and East Friesian breed. In *Możliwości poprawy efektywności chowu owiec i kóz w Polsce w ujęciu regionalnym*. Kraków : Instytut Zootechniki.. 59. ISBN 978-83-7607-188-6.

- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Milerski, M., Oravcová, M., Debrecéni, O. (2011b): Vplyv špecializovaných dojných plemien na veľkosť cisterien vemena kríženiak valašských oviec. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 13. 4. 85–92.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D., Reľovský, S., Šutý, J., Rafajová, M. (2011c): Tvorba syntetickej populácie slovenskej dojnej ovce, druhá etapa programu zošľachtovania. *Chov oviec a kôz*, 21. 4. 6–8.
- Margetín, M., Makovický, P., Milerski, M., Apolen, D., Debrecéni, O., Oravcová, M. (2011d): The effect of specialized dairy breeds on udder cistern size in Tsigai crossbreeds. *Slovak Journal of Animal Science*, 44. 4. 146–153.
- Margetín, M., Oravcová, M., Apolen, D., Milerski, M. (2012a): Genetic parameters for udder traits in Slovak dairy sheep and their crosses with specialized breeds. *Journal of Life Sciences*. 6. 454–459.
- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A. (2012b): Šľachtenie slovenskej dojnej ovce, druhá etapa zošľachtovacieho programu. *Slovenský chov*, 17. 1. 25–27.
- Margetín, M., Milerski, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Oravcová, M., Debrecéni, O. (2013a): Relationships between production, quality of milk and udder health status of ewes during machine milking. *Journal of Central European Agriculture*. 14. 1. 328–340.
- Margetín, M., Oravcová, M., Makovický, P., Apolen, D., Debrecéni, O. (2013b): Milkability of Improved Valachian, Tsigai and Lacaune purebred and crossbred ewes. *Slovak Journal of Animal Science*, 46. 3. 100–109.
- Margetín, M., Bireš, J., Reľovský, S., Oravcová, M., Mojžiš, M., Rajská, Z. (2016): Changes in allele and genotype frequencies of *PrP* gene in breeds of sheep in Slovakia between 2004 and 2015. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 19. 3. 119–122.
- Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A. (2017): História procesu šľachtenia slovenskej dojnej ovce. *Slovenský chov*, 22. 5. 14–17.
- Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D., Huba, J., Janiček, M. (2018a): Proces tvorby a užitkové parametre nového národného plemena oviec – slovenská dojná ovca. In *Zborník abstraktov „Genetická konferencia GSGM“*. 12.-14.9.2018, Bratislava, 71. ISBN 978-80-229-4545-3.
- Margetín, M., Šulko, K., Reľovský, S., Oravcová, M., Janiček, M. (2018b): Zmeny genetickej štruktúry syntetickej populácie oviec v procese tvorby plemena slovenská dojná ovca. *Chov oviec a kôz*, 37. 4. 4–7.
- Margetín, M., Šutý, J., Šulko, K., Oravcová, M., Janiček, M. (2019): Výsledky šľachtenia dojných oviec na mliekovú užitkovosť za posledné štvrtstoročie. *Slovenský chov*, 24. 1-2. 14–17.
- Milerski, M., Margetín, M., Apolen, D., Čapistrák, A., Špánik, J. (2005): Udder cistern size and milkability of ewes of various genotypes. In: Conference on „Physiological and technical aspects of machine milking. Nitra : Slovak Republic, 26.-28. apríl 2005, ICAR Technical series No. 10. 63–69.
- Milerski, M., Margetín, M., Čapistrák, A., Apolen, D., Špánik, J., Oravcová, M. (2006): Relationships between external udder measurements and the linear scores for udder morphology traits in dairy sheep. *Czech Journal of Animal Science*, 51. 9. 383–390.
- Pavlík, I., Margetín, M., Janiček, M. (2017): Slovenská dojná ovca , výsledky u popredných chovateľov sú príslubom budúcnosti. *Chov oviec a kôz*, 37. 2. 17–18.
- Tančín, V., Mačuhová, L., Oravcová, M., Uhrinčať, M., Kulinová, K., Roychoudhury, S., Marnet, P. G. (2011): Milkability assessment of Tsigai, Improved Valachian, Lacaune and F1Crossbred ewes (Tsigai x Lacaune, Improved Valachian x Lacaune) throughout lactation. *Small Ruminant Research*, 97. 28–34.

# THE RELATION OF THE NUTRITIONAL COMPOSITION OF TMR AND THE UREA CONCENTRATION IN MILK FOR EVALUATION NUTRITION AND EFFICIENCY OF PROTEIN UTILIZATION IN LACTATING DAIRY COWS

*Maskal'ová Iveta, Vajda Vladimír, Timkovičová Lacková Petra*

University of Veterinary Medicine and Pharmacy,  
Department of Nutrition, Dietetics and Animal Breeding,  
Komenského 73, 041 81, Košice, Slovak Republic  
iveta.maskalova@uvlf.sk

Received – Érkezett: .18. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 13. 05. 2020.

## Abstract

In order to diagnose of protein nutrition of dairy cows in the first lactation phase, were used the analysis milk urea nitrogen (MUN) as the average per production group and individual cows in the group. The aim of this study was to evaluate the nutritional and production factors that affect the MUN and the relationships between MUN, the efficiency of nitrogen utilisation from feed into milk, and the ecological burden via excretion of urea nitrogen in urine. The evaluation of the production parameters of dairy cows together on 30 farms in total in 3 150 dairy cows was carried out according to the individual evaluations of the production carried out by the Plemenárska služba SR š.p. The analysed relations evaluated by linear, or by multiple stepwise regression confirmed the crude protein (CP) as the best single marker for the estimation of MUN and included the proportion of the total tolerance of 0.693 expressed regression equation [MUN (mg/dl) = -13.2 + 0.16 x CP (g/kg dry matter)]. For mixed models, the rate of variation expressed by this relationship increased to 0.720 (P<0.0001) for nutrient concentration and 0.783 for nutrient intake (P<0.0001). The relationship between MUN and the evaluated nutrients was closer when nutrient concentration in TMR was used, rather than daily intake of nutrients. MUN had a positive relationship to CP and neutral detergent fibre (NDF) and the negative relationship was confirmed with NEL and non-fibrous carbohydrates (NFC) and NFC/CP, NEL/CP and NDF/CP in TMR.

**Keywords:** protein nutrition, milk urea nitrogen, efficiency of N utilisation

## Introduction

Increasing of milk production on farms in today's places great emphasis on the nutritional requirements and mainly on the level of protein nutrition in high-yielding dairy cows through the supply of protein and amino acids without environmental burden. Effective utilization of nitrogen (EUN) is the ratio between the content of nitrogen in milk and the amount of nitrogen received from TMR. Efficiency of protein utilization is often in the range of 25 to 35% (Sinclair et al., 2014), but a study (Higgs et al., 2012) shows an increase in utilization efficiency of nitrogen of herds in the range of 30-31% with proper formulation of feed ration. The efficiency utilization of nitrogen from TMR is most limited by the proportion and degradability of proteins and the amino

acid composition of digestible proteins at the level of small intestine (*Misciatelli et al.*, 2003). An important aspect of the metabolic transformation of proteins is the synthesis of microbial proteins and the utilization of ammoniacal nitrogen in the rumen. The amount of ammonia in the rumen is dependent by the intake of crude protein (CP) in daily ration, rate of rumen degradation of proteins and synthesis of microbial proteins (*McDonald et al.*, 2011). Rumen protein degradability is a complex influenced by several factors and is related to the content of CP, protein solubility, protein structure as well as microbial proteolytic activity, composition of structural and non-structural carbohydrates (*Bach et al.*, 2005). Synchronizing supply of carbohydrates and protein in TMR for rumen metabolism increases microbial protein yield and reduces excess N at the rumen level, thereby reducing serum urea as well as reduced N excretion (*Burgos et al.*, 2007). Concentration of serum urea is affected by intake of rumen degradable and undegradable protein, intake of fermentable carbohydrates, liver function and urinary excretion (*Guliński et al.*, 2016). Analysis of levels of protein and urea in milk are important indicators for evaluation of the intake and efficiency transformation of CP. Level of milk urea is a suitable indicator for assessing phase nutrition in terms of monitoring the protein-energy ratio of nutrients in feed rations. Given the highly significant relationship between levels of rumen ammonia, levels of blood urea and levels of milk urea, as well as the unassuming method of determining and obtaining samples, such a method for evaluation of the level of phase nutrition in a herd is very advantageous.

The aim of the study was to analyse the nutritional factors (nutrients content of TMR), which influence the milk production in relation to the MUN content per production group. Analysed values of studies in field condition of farms after statistical processing was used to formulate the regression relationships applicable to the control level of protein nutrition based on the analysed values of MUN to evaluate the content of CP in the TMR, and to evaluate the efficiency of N transformation for milk production.

## Materials and methods

The evaluations were carried out on feed trials within 30 herds with a controlled nutritional level system and with an average annual production of between 8,500 and 9,500 kg per cow. In dairy cows ( $n = 3,150$ ) at the peak of lactation intensively monitored the daily intake of feed in the group, the nutritional composition of TMR and evaluated the level of protein intake, the efficiency of utilizing N for milk protein. Daily rations of dairy cows were predominantly based on corn and alfalfa silage, supplemented with concentrated feed (dry ground corn or higher moisture corn, cereal grain by-products) and protein supplements (soybean meal and rapeseed meal) were fed as TMR *ad libitum* system. The cows were regularly monitored and evaluated for TMR intake, which was obtained from the difference of delivered and refusal feed weight after 24 hours of the feeding program for the production group. Samples of prepared TMR in the monitored farms were taken from the feed manger on the control day and were analyzed for dry matter (DM), crude protein (CP), acid and neutral detergent fibre (ADF, NDF), starch and ether extract (EE) contents according to conventional methods according to the Commission Regulation (EC) no. 691/2013. Non-fibrous carbohydrates (NFC) was calculated by difference ( $100 - (CP + (NDF - NDF \text{ bound protein}) + \text{ash} + \text{ether extract})$ ) and netto energy of lactation (NEL) by regression equations (NRC 2001).

Analysis of production parameters on the control day on individually collected milk samples was evaluated for milk production levels in dairy cows, milk components and milk urea. Milk samples were analysed the total protein content, fat, lactose and urea concentration by near infrared spectrophotometric assay using MilkoScan FT+ and BENTLEY FTS at the Central

Analytical Laboratory of Milk with accreditation under registration number 096/5878/2015/2. The analysed urea in milk (MU) was converted to urea nitrogen in milk (MUN) using the equation by Oudah (2009).

*Statistical processing of results.* The average values, descriptive statistics, and variability of the examined markers, as well as the influence of factors on these properties, were studied through XLSTAT2018. Statistical analysis of the relationships between MUN and nutritional and production measurements were evaluated by linear regression analysis. A simple regression analysis of relationships was done to identify those factors that explain the change in concentration of MUN at the herd level. Factors explaining more than 50% of the variability of MUN were combined into multiple regression analysis. For the evaluation of the dependencies between MUN and nutritional and production variables in multiple stepwise regression models a level of statistical significance was determined ( $P < 0.05$ ). Based on the criteria  $R^2$ , the root mean square error (RMSE) and the Akaike Information Criterion (AIC), it was decided which factors contribute to the clarification of the analysed relationship.

## Results and discussion

### *Dietary nutrients of daily rations, intake of feed and milk production in dairy cows*

The average concentration of nutrients in TMR, daily intake of nutrients and the production characteristics of dairy cows at the evaluated farms are presented in *Table 1*. The parameters of milk production and composition of TMR showed significant differences in chemical dietary composition against actual production and composition of milk on evaluated farms. With comparable nutritional and production parameters from meta-analysis, *Spek et al.* (2013) it was confirmed that the MUN content was at  $13.1 \pm 3.6$  mg/dl for North America. For Northwestern Europe, the MUN content averaged  $12.5 \pm 5.1$  mg/dl, with lower production ( $25.5 \pm 4.5$  kg) and the half content of starch ( $13.2 \pm 8.4$  %) in TMR. The levels of urea N in milk between 8 and 12 mg/dl indicate optimal intake efficiency of nitrogen from the feed ration (*Nousiainen et al.*, 2004, *Spek et al.*, 2013). For high-producing dairy cows with an annual milk yield of 12,000 kg, the recommended MUN is an average of over 14.5 mg/dl (*Kohn*, 2007) or 10 - 16 mg/dl (*Wattiaux and Ranathunga*, 2016).



**Table 1: Nutritional composition of TMR and composition of milk in evaluated farms**

	Average	SD	Minimum	Maximum	
<i>Nutrients in TMR (% of Dry Matter)</i>					
Crude protein	16.20	0.8	14.42	17.85	
RDP* % CP	10.55	0.5	9.31	10.92	
RUP* % CP	5.78	0.6	5.05	6.63	
NEL MJ/kg DM	6.76	0.2	6.38	7.13	
NDF	34.44	2.6	28.04	38.75	
ADF	20.69	1.6	16.07	24.68	
Starch	25.01	3.3	16.93	29.78	
NFC	37.99	3.4	31.65	48.95	
NEL/CP	0.42	0.03	0.37	0.48	
Starch/CP	1.55	0.3	1.02	2.07	
NFC/CP	2.35	0.3	1.89	3.17	
<i>Daily intake of nutrients (kg/day)</i>					
Dry matter	22.35	1.3	20.76	24.90	
CP intake	3.62	0.2	3.20	4.02	
NEL intake (MJ/day)	150.89	10.6	134.09	171.83	
NDF intake	7.68	0.7	6.07	8.69	
ADF intake	4.62	0.5	3.42	5.40	
Starch intake	5.60	0.9	3.66	7.03	
<i>Production and composition of milk</i>					
Milk yield	kg/d	35.40	6.5	23.20	47.90
Milk protein	%	3.15	0.2	2.77	3.46
Milk fat	%	3.62	0.4	2.95	4.55
Yield of milk protein	kg/d	1.11	0.2	0.77	1.46
Yield of milk fat	kg/d	1.26	0.20	1.00	1.67
Milk urea	mg/dl	27.40	3.58	19.74	35.66
Milk urea nitrogen	mg/dl	12.79	1.67	9.21	16.64

\* RDP were analysed by in situ methods (Ørskov a McDonald 1979), analysed TMR n=15

*MUN in relation to nutritional effects in the simple regression model*

Summary statistical data describing the relationship of linear regression analyses between MUN concentration and concentration of nutrients in TMR are summarized in *Table 2*. The evaluation of relation between the nutrient content in TMR and MUN in milk by single linear regression analysis confirmed the most statistically significant positive relationship ( $P < 0.0001$ ) between average MUN values and content of CP for the production group ( $R^2 = 0.693$ ). The analyzed protein degradability of TMR confirmed the same a positive relation of MUN to RDP with less statistical significance ( $R^2 = 0.510$ ,  $P = 0.03$ ). These results are comparative respectively with the same tendency has been confirmed by several authors (*Godden et al.*, 2001; *Broderick and Huhtanen*, 2013). In this evaluation, the more significant relation CP to MUN than RDP and useful is more practical in breeding conditions for controlling the level of CP in feed rations and rapid identification of protein overfeeding on farms according to the analysis of MUN. In contrast, the

negative correlation was confirmed between the MUN values and the analyzed content of starch, NFC and NEL at the statistical significance ( $P < 0.05$ ). The higher level of regression dependence was confirmed in experimental conditions with the coefficient of determination in range of  $R^2 = 0.78$  (Nousiainen et al., 2004) and 0.84 (Broderick and Clayton 1997). These observations confirm that concentration of CP in TMR is the most important nutritional factor affecting the concentration of MUN, which is closely associated with excretion of nitrogen in urine and can be applied in commercial herds as a biomarker of the protein nutrition in dairy cows (Nousiainen et al., 2004). The most significant influence of CP in TMR on the concentration of MUN ( $R^2 = 0.93$ ) was confirmed by Broderick and Huhtanen (2013) with a less pronounced impact of energy concentration and protein degradability in TMR. From the nutritional effects within the evaluated set, we confirmed the weaker relationship between MUN and the proportional ratio CP/NEL ( $R^2 = 0.642$ ), where the decrease of the coefficient of determination at the CP/NEL ratio in TMR compared to content of CP ( $R^2 = 0.693$ ) was caused by low negative regression ( $R^2 = 0.174$ ) at content of NEL in relation to MUN. Similarly, Broderick and Clayton (1997) have reported closer relations between MUNs with dietary CP content as ratio CP to NEL.

**Table 2: Linear regression between MUN in milk and nutrients content of TMR**

<i>Concentration of nutrients in TMR (% dry matter)</i>				
<b>Items</b>	<b>Slope</b>	<b>SE</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>P</b>
CP	1.600	0.201	0.693	<0.0001
RDP*	0.1031	0.037	0.510	0.030
NEL	-3.223	1.329	0.174	0.022
NDF	0.181	0.105	0.096	0.096
ADF	0.136	0.182	0.019	0.462
Starch	-0.247	0.072	0.294	0.002
NFC	-0.233	0.072	0.273	0.003
Starch/CP	-4.208	0.816	0.487	<0.0001
NFC/CP	-3.895	0.698	0.527	<0.0001
NEL/CP	-44.05	6.119	0.649	<0.0001

The evaluation of ratio of NEL/CP, NFC/CP, starch/CP in TMR in relation to MUN confirmed the negative statistical significance ( $P < 0.0001$ ) with coefficient of determination ( $R^2 = 0.649$ ;  $R^2 = 0.527$  resp.  $R^2 = 0.487$ ). About 70% of typical diets for lactating dairy cows consist of carbohydrates, up to 37% are structural carbohydrates (NDF), 30% starch, and 3% simple sugars (Eastridge 2019), which provide the optimal supply of energy for the synthesis of microbial protein. Concentrations of MUN were most closely related to dietary CP content, but were less affected by dietary content of carbohydrates and ruminal protein degradability. The content of CP in TMR was the best single analysed marker for the MUN estimation in average for the production group, and represented 69.3 % of the total variance determined by the regression relationship [MUN (mg/dl) =  $-13.2 + 0.16 \times \text{content CP (g/kg DM)}$ ]. With a high correlation of MUN values with the content of CP in TMR, an increase of the content of CP by 1 percent in TMR resulted in an increase in MUN of 1.6 mg/dl in the evaluation of the average level of the group. This tendency was very close to the 1.6 or 1.7 mg/dl MUN, confirmed by Powell et al. (2014) and Nousiainen et al. (2004) resp. under experimental conditions. The same was confirmed by Spek et al. (2013) in the meta-analytical evaluation of relation MUN and concentration of CP in experiments on

concentrated types of feed ration in North America and bulk types of feed ration in Northern Europe which showed that a 1 % increase of CP increased the concentration of MUN by 1.36 mg/dl or 1.73 mg/dl. On the other hand, *Aquilar et al.* (2012) identified an increase of MUN by 1.04 or 1.24 mg/dl per percentage increase of CP in the production of 40 or 30 kg of milk.

*MUN in relation to nutritional effects in the model of multiple regression*

In the statistical evaluation in the model of multiple regression the evaluated set was added by the stepwise method with independent variables at the significance level  $P < 0.05$  and eliminated with variables at the significance level  $P > 0.1$ . The evaluation of data according to the analyzed average of MUN values in the production groups (*Table 3*) in relation to the nutrient concentration in TMR confirmed high correlation ( $P < 0.0001$ ) to CP and NDF with 72.0 % level of variability on the concentration of MUN. The same tendencies with comparable results in experimental conditions were confirmed by *Nosiainen* (2004), where the expressed CP/ME ratio on fluctuations of MUN was most affected by different CP contents ( $R^2 = 0.876$ ) in the feed ration. The ranges of fluctuation of energy (NEL  $6.7 \pm 0.2$  MJ / kg DM) and starch ( $25.0 \pm 3.3\%$  DM) in TMR at the monitored farms were small and their inclusion in the models of multiple regressions together with CP had a minimal effect on the fluctuation of MUN. Concentration of energy in our analyses were comparable to *Nousiainen* (2004), *Broderick and Clayton* (1997), and the findings confirm that content of CP in TMR has a major effect on MUN concentration. In a practical application for the interpretation of the analysed MUNs the confirmed lower impact of the concentration of energy on the fluctuation of MUN is important, if it is included in the models of multiple regressions together with the content of CP in the TMR.

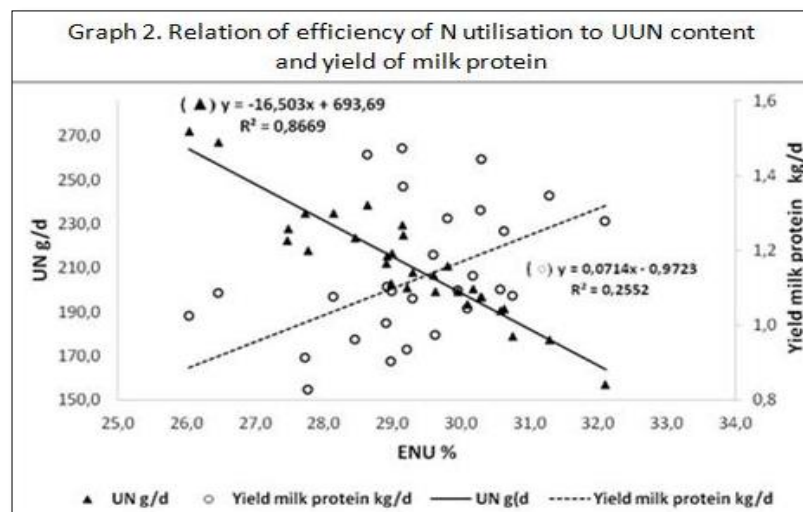
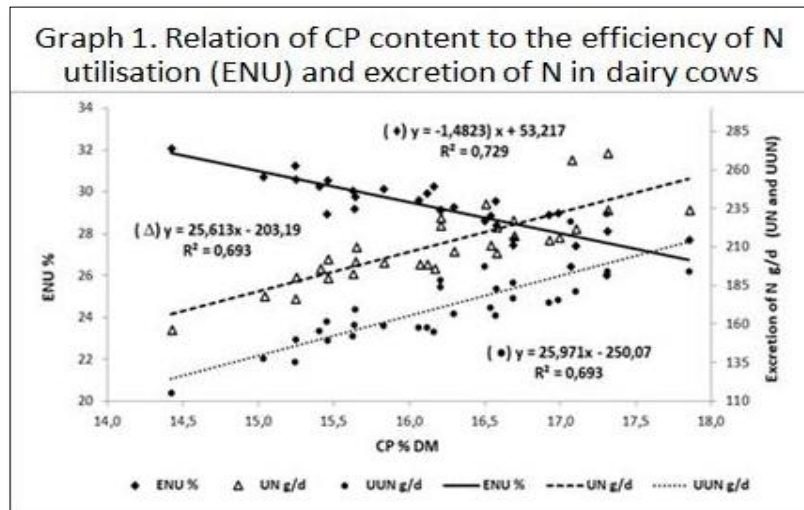
**Table 3: Multiple regression of nutritional effect on MUN concentration**

<i>Concentration of nutrients in TMR (% DM)</i>			
Items	Coefficient	SE	P
Intercept	-16.799	3.473	<0.0001
CP	1.552	0.190	<0.0001
NDF	0.216	0.099	0.038
<i>Precision of model</i>			
Adjusted R <sup>2</sup>			0.720
RMSE			0.803
AIC			-10.302
P			<0.0001

*The evaluation of the N efficiency of feed into milk*

The efficiency of N use was defined as the percentage of N-admitted, which is transformed into milk protein and calculated according to the production of milk protein and intake of CP in ration (*DePeters and Ferguson* 1992; *NRC* 2001) in the monitored farms was determined in average level of  $30.1 \pm 5.0$  % with significant variations of values of farms from 21.1 % to 39.5 % and in relation to the analyzed content of CP in fed TMR is expressed by the regression dependence  $ENU \% = 90.5 - 3.73 \times CP \%$  ( $R^2 = 0.350$ ;  $P = 0.001$ ). The equally calculated ENU % in the relationship with the analysed content of MUN gives a weaker negative regression dependence (*Graph 1*) expressed by the equation  $ENU \% = 48.25 - 1.43 \times MUN \text{ mg/dl}$ , ( $R^2 = 0.19$ ;  $P = 0.016$ ).

On the basis of the evaluated set, the reduction of MUN content by 1 mg/dl in the range of 9-16 mg/dl is associated with an increase in the conversion of nitrogen to milk at 1.43 %.



The efficiency of N utilisation (ENU) was determined according to analyzed MUN by calculation according to regression equations by *Nousiainen et al.* (2004), *Wattiaux and Ranathunga* (2016) and *Huhtanen et al.* (2015). The dynamics of the ENU changes, calculated on the analyzed MUN content expressed as the mean value of the regression equations of selected authors in the monitored farms (*Graph 1*) shows a negative correlation relation ( $P < 0.0001$ ,  $R^2 = 0.729$ ) with respect to the analyzed CP content in TMR, where 1% increase of CP in the range of 14 to 18 % in TMR reduces the efficiency of the use of nitrogen from feed to milk by 1.48 %. The dynamics of ENU in relation to the production of protein milk (*Graph 2*) shows a positive correlation ( $P=0.004$ ,  $R^2=0.26$ ) where according to regression dependence, the increase of ENU by 1% corresponds to an increase in milk protein production by 70 g/day at the calculated ENU range from 26 to 32%.

The observed ENU in the studied farms according to the way of evaluation showed different values: - in the calculation of the metabolic transformation (N milk / N intake) the average was  $30.1 \pm 5.0$  with a range of 21.1 - 39.5 %, and according to analysed content of MUN averaged  $29.2 \pm 1.4$  % with lower fluctuation (26.0 - 32.1). The authors *Jonker et al.* (2002) and *Gourley et al.* (2012) found that the efficiency of utilisation in commercial conditions was 28%, with variations between 18 % and 35 %. *Pacheco* (2016) reports the average value of efficiency of N utilization at the level of 29 % with a range of fluctuations from 19 to 40 % among different farms, which are comparable to our results obtained from calculation according to the metabolic conversion.

## Conclusion

Based on the obtained results of farm trials we can conclude that MUN concentrations are simple and non-invasive approaches to examine the protein status of rations fed to dairy cattle. Monitoring and evaluation of milk urea on farms provides an opportunity to formulate rations and adjust levels of protein to optimize effective utilisation of nitrogen in order to increase milk and milk protein production and to avoid the negative effects of urea excretion in urine. In summary, milk is a useful indicator of the animal nutritional (protein and energy specific) status.

## Funding

This work was supported by the Ministry of Education of the Slovak under Grant KEGA No. 011UVLF-4/2020

## References

- Aguilar, M., Hanigan M.D., Tucker H.A., Jones B.L., Garbade S.K., McGilliard M.L.* (2012): Cow and herd variation in milk urea nitrogen concentrations in lactating dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 95. 7261–7268.
- Bach, A., Calsamiglia, S., Stern, M.D.* (2005): Nitrogen metabolism in the rumen. *Journal of Dairy Science*, 88. E9-E21.
- Broderick, G.A., Clayton M.K.* (1997): A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. *Journal of Dairy Science*, 80. 2964–2971.
- Broderick, G., Huhtanen, P.* (2013): Application of milk urea nitrogen values. <https://www.researchgate.net/publication/43267630>. Accessed 19.10.2013
- Burgos, S.A., Fadel J.G., DePeters, E.J.* (2007): Prediction of Ammonia Emission from Dairy Cattle Manure Based on Milk Urea Nitrogen: Relation of Milk Urea Nitrogen to Urine Urea Nitrogen Excretion. *Journal of Dairy Science*, 90. 12. 5499–5508.
- Commission Regulation* (EC) No 691/2013 amending Regulation (EC) No 152/2009 as regards methods of sampling and analysis. *Official Journal of the European Union* 2013, L 197/1–L197/12.
- DePeters, E.J., Ferguson, J.D.* (1992): Nonprotein nitrogen and protein distribution in the milk of cows. *Journal of Dairy Science*, 75. 3192–3209.
- Eastridge, M.L.* (2019): Sugar in Diets for Lactating Dairy Cows, available on site: <https://dairy-cattle.extension.org/sugar-in-diets-for-lactating-dairy-cows/>, New Technologies for

- Agriculture Extension, 2015-41595-24254, USDA National Institute of Food and Agriculture
- Godden, S.M., Lissemore, K.D., Kelton, D.F., Leslie, K.E., Walton, J.S., Lumsden, J.H. 2001: Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 84. 1128–1139.
- Gourley C.J.P., Aarons S.R., Powell J.M. (2012): Nitrogen use efficiency and manure management practices in contrasting dairy production systems. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 14. 7. 73–81.
- Guliński P., Salamończyk E., Mlynek K. (2016): Improving nitrogen use efficiency of dairy cows in relation to urea in milk – a review. *Anim Science Papers and Reports*, 34. 1. 5–24.
- Higgs J., Chase L.E., van Amburgh M.E. (2012): Development and evaluation of equations in the Cornell Net Carbohydrate and Protein System to predict nitrogen excretion in lactating dairy cows *Journal of Dairy Science*, 95. 2004–2014.
- Huhtanen P., Cabezas-Garcia E.H., Krizsan S.J., Shingfield K.J. (2015): Evaluation of between cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. *Journal of Dairy Science*, 98. 3182–3196.
- Jonker, J.S., Kohn, R.A., High, J. (2002): Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. *Journal of Dairy Science*, 85. 1218–1226.
- Kohn, R.A. (2007): Use of milk or blood urea nitrogen to identify feed management inefficiencies and estimate nitrogen excretion by dairy cattle and other animals. *Florida Ruminant Nutrition Symposium*, Gainesville, 30–31 Jan. 2007
- McDonald, P., Edwards, R.A., Greenhalgh, J.F.D., Morgan, C.A., Sinclair, L.A., Wilkinson, R.G. (2011). *Animal Nutrition* (7th ed.). Harlow, New York: Prentice Hall/Pearson
- Misciattelli, L., Kristensen, V.F., Vestergaard, M., Weisbjerg, M.R., Sejrsen, K., Hvelplund, T. (2003): Milk production, nutrient utilization, and endocrine responses to increased post-ruminal lysine and methionine supply in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 86. 275–286.
- Nousiainen, J., Shingfield, K.J., Huhtanen, P. (2004): Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *Journal of Dairy Science*, 87. 386–398.
- Nousiainen J. (2004): Development of tools for the nutritional management of dairy cows on silage-based diets. Academic dissertation, Faculty of Agriculture and Forestry of the University of Helsinki, ISBN 952-10-0865-2
- NRC 2001: *Nutrient Requirements of Dairy Cattle*. 7<sup>th</sup> rev.ed. Natl. Acad. Sci, Washington, DC
- Ørskov, E.R., McDonald, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *The Journal of Agricultural Science*, 92. 499–503.
- Oudah, E.Z.M. (2009): Non genetic factors affecting somatic cell count, milk urea content, test day milk yield and milk protein percent in dairy cattle of Czech Republic using individual test day records. *Livestock Research for Rural Development*, 21. 5. 1–25.
- Pacheco, L.F. (2016): Relations entre la composition du lait et les facteurs alimentaires dans les troupeaux laitiers québécois, Available from <https://corpus.ulaval.ca/jspui/handle/20.500.11794/27160?locale=fr>
- Powell, J.M., Rotz, C.A., Wattiaux, M.A. (2014): Abatement of ammonia and nitrous oxide emissions from dairy farms using milk urea N (MUN) as a management tool. *Journal of Environmental Quality*, 43. 4. 1169–1175.

- Sinclair, K.D., Garnsworthy, P.C., Mann, G.E., Sinclair, L.A. (2014): Reducing dietary protein in dairy cow diets: implications for nitrogen utilization, milk production, welfare and fertility. Animal, 8. 262–274.*
- Spek, J.W., Dijkstra, J., van Duinkerken, G., Hendriks, W.H., Bannink, A. (2013): Prediction of urinary nitrogen and urinary urea nitrogen excretion by lactating dairy cattle in northwestern Europe and North America: A meta-analysis. Journal of Dairy Science, 96. 4310–4322.*
- Wattiaux, M.A., Ranathunga S. (2016): Milk urea Nitrogen as a tool to assess efficiency of Nitrogen utilization in dairy cows, pp 79-88 in Proceedings of Four-State Dairy Nutrition and Management Conference (Dubuque Iowa, June 15-16, 2016)*

## A LIMOUSIN FAJTA EREDMÉNYEI 2018-BAN

*Szűcs Márton<sup>1</sup>, Tőzsér János<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Limousin és Blonde d' aquitaine Tenyésztők Egyesülte, 1134 Budapest, Lőportár utca 16.

<sup>2</sup>Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattenyésztés-tudományi Intézet  
2103 Gödöllő, Páter K. út 1.  
info@limousin.hu

Received – Érkezett: .17. 12. 2020.  
Accepted – Elfogadva: 04. 04. 2020.

### Összefoglalás

A tanulmány célja limousin fajta 2018 évi eredményeinek a bemutatása. A tenyésztő egyesületet 10 magánszemély és 10 jogi személy alapította 1989 évben. A tehénlétszám 2008 és 2018 évek között emelkedett. Ugyanebben az időszakban az egyesület taglétszáma is nőtt. A törzskönyvezett egyedek tekintetében a 67% (12.999 egyed) egy jó értéknek számít. A fajtatiszta tenyészetekben a törzskönyvezett tehenek (6.702 egyed) és az üszők (2.481 egyed) létszáma a meghatározó. A könnyű ellés fajtatiszta állományokban 94 %, és a keresztezettekben 97 % volt. A borjak 205 napra korrigált választási súlya ivaronként az alábbi volt: bika (262 kg), üsző (228 kg). A tehenek küllemi bírálati összpontszáma 77, az első ellési életkora 33 hónap és a két ellés közötti ideje 418 napnak alakult. Figyelembe véve ezeket az adatokat, megállapíthatjuk, hogy a limousin fajtának hazánkban továbbra is jó perspektívája van.

**Kulcsszavak:** limousin tehén, jó küllem, könnyű ellés, választási súly

### Results of Limousin breed in 2018

#### Abstract

The aim of this study was to give information to Hungarian breeders on characteristics of Limousin breed in 2018. This breeders' association was established in 1989 by 10 persons and 10 companies. The increasing trend of the cattle number was observed in association of breeders between 2008 and 2018 years. Changing of membership was also positive in this period. The rate of the registered herd it seems to be good: 67 % (12.999 animals). In the purebred registered herds the number of cows (6.702 animals), and heifers (2.481 animals). were dominant. Very good easy calvings were observed in purebred (94%) and crossbred (97%) herds too. The weaning weights adjusted to 205th day of calves by sex were respectively: bulls (262 kg) and heifers (228 kg). The following characteristics of cows were also very important for breeders: total type score (77 scores), age at first calving (33 months) and calving interval 418 days). According to precedent information a good perspective can be concluded on Limousin breed in Hungary.

**Key words:** Limousin cow, good conformation, easy calving, weaning weight



## Bevezetés

Magyarország egyik legrégebben alapított húsmarha tenyésztő egyesülete a *Limousin és Blonde d' aquitaine Tenyésztők Egyesülete (LBTE)*, amelyet 1989-ben alapította 10 magánszemély és 10 jogi személy. Az egyesület tagjai, az elnökség szervező munkájának segítségével, kidolgozták a limousin fajta első tenyésztési programját (*Balika és Bíró, 1990*). Ennél fogva, 2020-ban a tenyésztő szervezet a 30. születésnapját ünnepli majd. Ez a jeles szakmai esemény alkalmat ad arra, hogy röviden bemutassuk a limousin húsmarha fajta legfontosabb hazai 2018-évi eredményeit.

### *A limousin fajta jellemzői*

Közismert, hogy ez a fajta a franciaországi „*délnyugati szőke marhák*” nagy családjából ered (*Szabó, 1998*) és a *Massif Central* hegyvidékének nyugati részének esős, de kevésbé termékeny gránit talaján alakult ki. A fajta önálló fejlődését a XIX. század közepe óta tartják nyilván. Kezdetben ígás marhaként használták, de már ekkor is fontos szempont volt a vágóra küldött ökrök kedvező hústermelése. Ebben a munkában a *Lyon-i* és a *St. Étienne-i* piacok jelentős szerepet játszottak. A törzskönyvét 1886-ban alapították. A XIX és a XX. században már elsősorban izomtömeg növelésre végeztek szelekciót, ügyelve a könnyű ellésre és a csekély mértékű faggyúrétegekre (bőr alatti, izomrostok közötti stb.). Franciaországban a limousin tehénállomány 1984 és 1992 között jelentősen emelkedett 38 ezerről, 75 ezerre (*Anonim, 1992*). *Journaux (1995)* közlése szerint, a szelekciós tehénbázis a fajtában 90 ezer egyed. A fajtatorzskönyvét 1886-ban alapították, ugyanakkor az „elit törzskönyvet” 1935-ben hozták létre (*Felius, 1985*). A fajtát középkorai tenyészettségűnek tartják, tehát az optimális ellési életkor 30-32 hónap közé esik. Jól ismert a fajta időjárással szembeni ellenálló képessége, az átlagnál élénkebb vérmérséklete, valamint az is, hogy három hónapos kortól kezdve minden életkorban piacképes portékát ad.

A fajta néhány jellemzőjét az alábbiakban foglaljuk össze (*LBTE, 2018*):

- *Kifejlettkori élősúly*: bika 1100-1250 kg, tehén 650-750 kg
- *Születési súly*: hímivar 40-45 kg, nőivar 35-40 kg
- *Könnyű ellés*: 94-96 %
- *205 napos súly*: hímivar 260-310 kg, nőivar 220-250 kg
- *365 napos élősúly*: hímivar 450-470 kg, nőivar 330-350 kg
- *Választásig elért súlygyarapodás*: 1100-1200 g/nap
- *Hízalás alatti súlygyarapodás*: 1400-1500 g/nap.

*Felius, (1985)* szerint a XIX. század fordulóján a tehének átlagos élősúlya 425 kg volt, míg manapság ez 600 kg körül mozog. A bikák élősúlya 1200 kg-nál nem súlyosabbak. A tehének átlagban 137 cm, a bikák 140 cm magasak.

Fontos kiemelni, hogy a fajta húsát 1988 óta a *hízalt limousin marha*, a *vágóborjú* és a *fiatal hízott bika* kategóriák szerint márkázottan hozzák forgalomba étkezés céljából.

### *A hazai elterjedése*

A limousin fajta hazai tenyésztése 1970-ben kezdődött, amikor a *Gödöllői Agrártudományi Egyetem* 25 vemhes üszöt és három bikát importált a fajta bölcsőjéből. A 80-s években a *bikali Állami Gazdaság*, a *püspökhatvani Galgavölgye MgTsz*, a *Tordas-Gyúrói MgTsz*, a *Zirci Bakony MgTsz* és a *hajdúszoboszlói Állami Gazdaság* közel 300 állatot hozott be. A kedvező kezdeti eredmények hatására – a hazai szarvasmarha program kertében – számos üzem kezdett a limousin

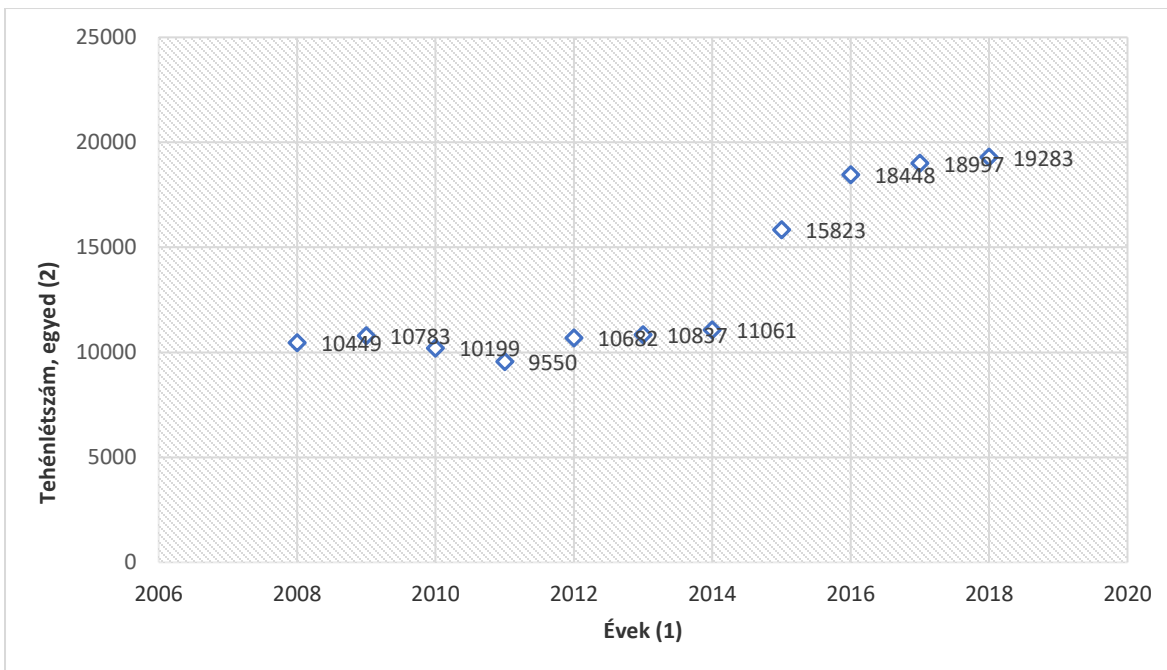
keresztelésbe. Az 1980-as évek végére már 10-15 ezer keresztezett tehenet tartottak számon. A rendszerváltozás után az állományokat eladták és a tenyészetek megszűntek. Az ezredfordulón a fajtatiszta tehenlétszám csak mintegy 300 egyed volt. Az elmúlt 20 év eredményes szakmai munkájának következtében a fajta létszáma nő (LBTE, 2018).

#### *Egyesületi adatok 2008 és 2018 között*

Az egyesület tehenlétszámának (két fajta együtt) alakulását az *1. ábra* mutatja. Mint ahogy az ábrán látható, a tehenlétszám 2008 és 2014 között 10-11 ezer egyed között alakult, azonban 2015-től folyamatos emelkedés tapasztalható. Ez arra utal, hogy az egyesület szakmai munkája eredményes, mert növekszik a populáció. Megjegyezzük, hogy hazánk agroöko-potenciálja, az ágazatot segítő pénzügyi támogatások, az elérhető jövedelem nagysága, valamint a kedvező piaci helyzet miatt a húsmarhaágazat fellendülőben van. Ez a helyzet kedvező a legeltetéses haszonállat tartás további hazai fejlesztése szempontjából. Figyelembe véve a legelőink közepes vagy gyenge minőségét, egyértelmű, hogy ezeket a területeket a húsmarhák jól hasznosíthatják, szemben a tejelő állományokkal (Szabó és mtsai., 1997).

Az egyesület taglétszámának tekintetében a tendenciát a *2. ábra* összegzi. Az egyesület taglétszáma 2008 és 2012 közötti időszakban hasonló volt, 92 és 104 fő között változott. A taglétszám 2013-ban megnőtt 172-re, majd ezt követően emelkedni kezdett például 2015-ben elérte a 224 főt, majd tovább emelkedett és 2018-ban a tenyésztők száma már 295 volt. A számok alapján, a pozitív tendencia megállapítható ebben az esetben is. Az előbb bemutatott változás – más húsmarha fajtaához képest – különleges helyzetnek ítélnélhető!

#### **1. ábra: Az egyesületi tehenlétszám trendje**



*Figure 1: Trend of the cattle number in association of breeders years (1), cattle number (2)*

## 2. ábra: Taglétszám változása

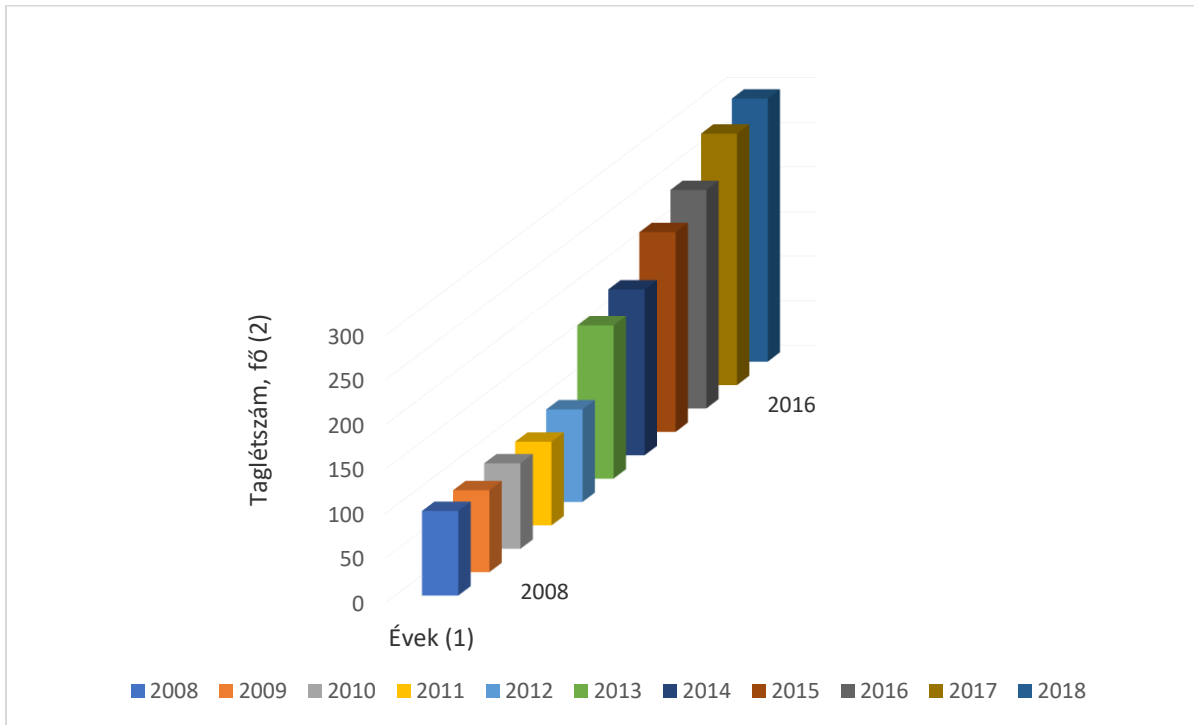


Figure 2: Changing of membership  
years (1), membersip (2)

Minden tenyésztő szervezetnek fontos az, hogy a nőivarú állomány létszáma hogyan alakul, tenyészetre vetítve. Ezeket az adatokat mutatja a 3. ábra, amely egyértelműen csökkenést jelez, mert még 2008-ban 110 tehén volt egy telepen, addig ez 2018-ra 65 egyedre csökkent. Látható, hogy jelentős csökkenés 2012 és 2013 között történt (103-ról, 63-ra) a telepi tehénlétszámban. Ha megvizsgáljuk az egy farmra jutó tehének számát tulajdon formák (magán tenyészet: MTE, jogi személy: JSZ) szerint, akkor azt látjuk, hogy a magán tenyészetekben 2008-tól 2018-ig minden évben, abszolút értékben kevesebb számú tehén volt, mint a jogi személyként működő vállalkozásoknál: Pl: 2008-ban, MTE (72 egyed), JSZ (155 gyed), 2013-ban, MTE (41 egyed), JSZ (97 egyed), 2018-ban (MTE (47 egyed), JSZ (105 egyed).

### 3. ábra: Az egy farmra eső tehénlétszám változása

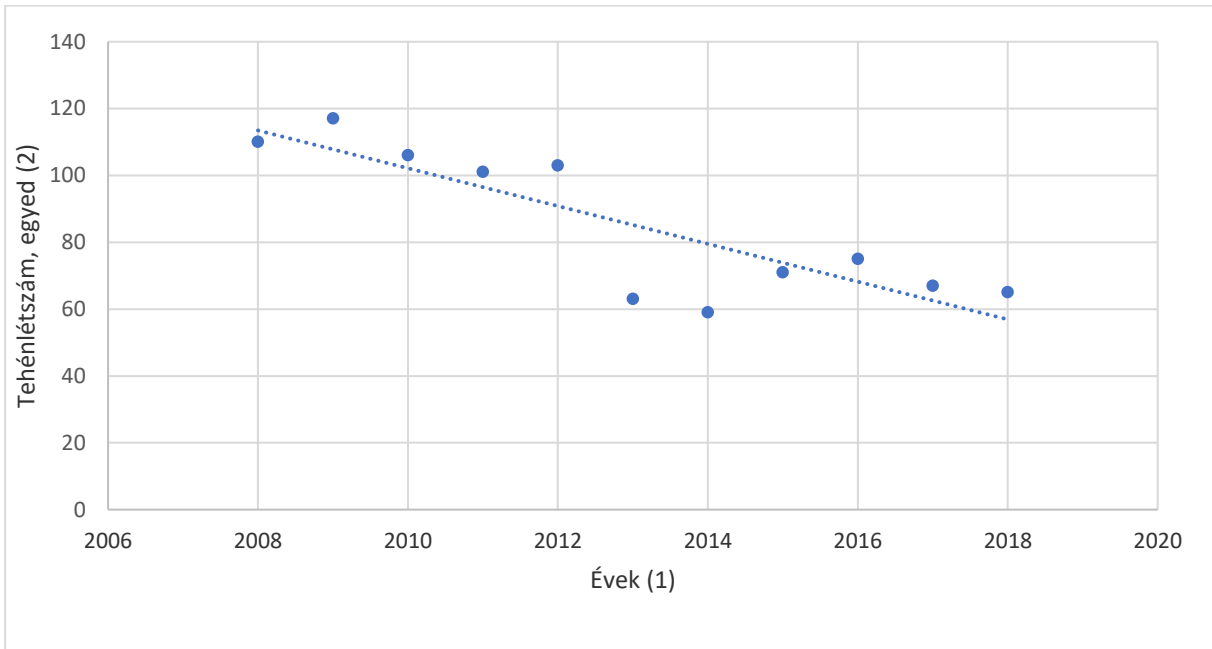


Figure 3: Number of cow per herd years (1), number of cow (2)

A kisebb átlagos telepi tehénlétszám háttérében több tényező szerepelhet: a vállalkozás kisebb tőkéje, az átgondoltabb takarmányozás, a legelő állattartó képességét jobban figyelembe vevő legeltetési mód és gazdálkodás, az egyedre való jobb odafigyelés igénye stb.

#### Tenyésztési szempontból fontos adatok és jellemzők

A tenyésztő szervezetek egyik fontos adata, a termelésellenőrzés alatt álló tehénállomány nagysága. Az egyesület esetében ez a szám 67 % (12.999 egyed), tehát jónak értékelhető, amelyből limousin fajtájú tehén létszáma 11.571 egyed, tehát 89 %. A tenyészetek 65 %-án (165 farm) történik ellenőrzés, ebből 132 tenyészetet (80 %) a limousin fajta adja.

A termelésellenőrzés alatt álló limousin állományok összetételét a 4. ábra mutatja, fajtatiszta és keresztezett egyedek szerinti bontásban. A fajtatiszta tenyészetekben a tehénlétszám a meghatározó (6702 egyed), majd ez követi a növendék üsző állomány (2481 egyed). A szopós borjú, a növendék bika, a vemhes üsző és a tenyészbika létszáma kevesebb, mint az előző számadatok: 1741, 807, 866 és 405 egyed. A keresztezett állományok esetében szintén a tehének létszáma a legnagyobb (4869 egyed), ezt követi a szopós borjú létszám (1107 egyed), majd a növendék üsző (1003 egyed) és a növendék bika (546 egyed) létszám következik. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a tenyésztő számára fontos, hogy ismerje a termelő teheneinek a teljesítményét, valamint, hogy minőségi növendéknevelés valósuljon meg a tenyészetében. A minőséget képviselő tenyészbikák használata, elősegíti a hazai genetika további terjedését az állományokban.

#### 4. ábra: Termelésellenőrzött állományok összetétele

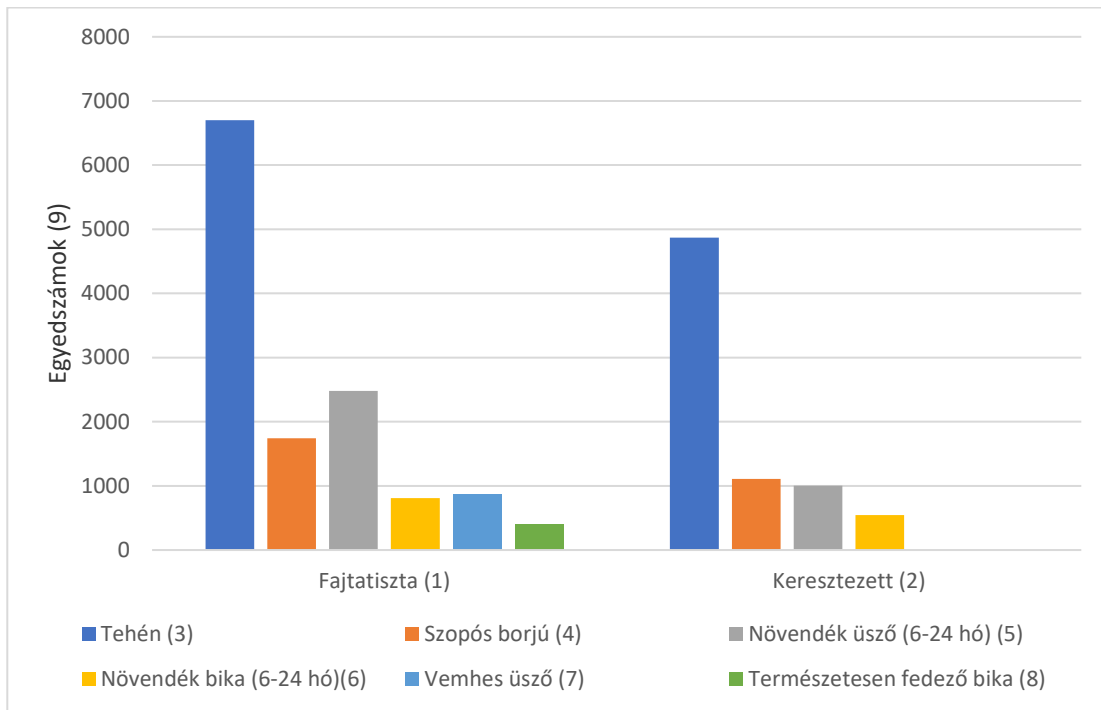


Figure 4: Composition of production in registered herds

purebred (1), crossbred (2), cow (3), suckling calf (4), growing female calf (6-26 month)(5), growing male calf (6-24 moth)(6), pregnant heifer (7), breeding bull (8), number of animals (9)

A húsmarha tenyésztők mindegyikének fontos értékmérő tulajdonság, az ellés lefolyása. A fajtatiszta és a keresztezett állományok esetében mutatja az 5. ábra ennek a tulajdonságnak az alakulását. A fajtatiszta és keresztezett állományokban egyaránt a könnyű ellés volt a meghatározó: fajtatiszta (94 %, 5021 egyed), keresztezett (97 %, 3703 egyed). A segítséggel történt ellések arány fajtatiszta állományban 3% (155 egyed), a keresztezettekénél pedig 1% (56 egyed) volt. A vetélések és a holt ellések előfordulása – mindkét csoportban – 1-2 % között változott. A termelésellenőrzött tehénállományra számított ellési arány a fajtatiszta állományokban 80 %-os, a keresztezettekénél 79 % os volt 2018-ban.

A hazai limousin populációban 2018-ban, 5176 fajtatiszta borjú született meg, amelyből a választásig 8 % (422 egyed) esett ki. A választott borjak (4754 egyed) 8 %-a (371 egyed) került sajtáteljesítmény vizsgálatba (STV), amelyből 79 % (292 egyed) vált minősített tenyészbikává. A keresztezett állományban a választásig kiesett borjak aránya 7,7 % (290 egyed) volt.

### 5. ábra: Termelésellenőrzött állományok ellési jellemzői

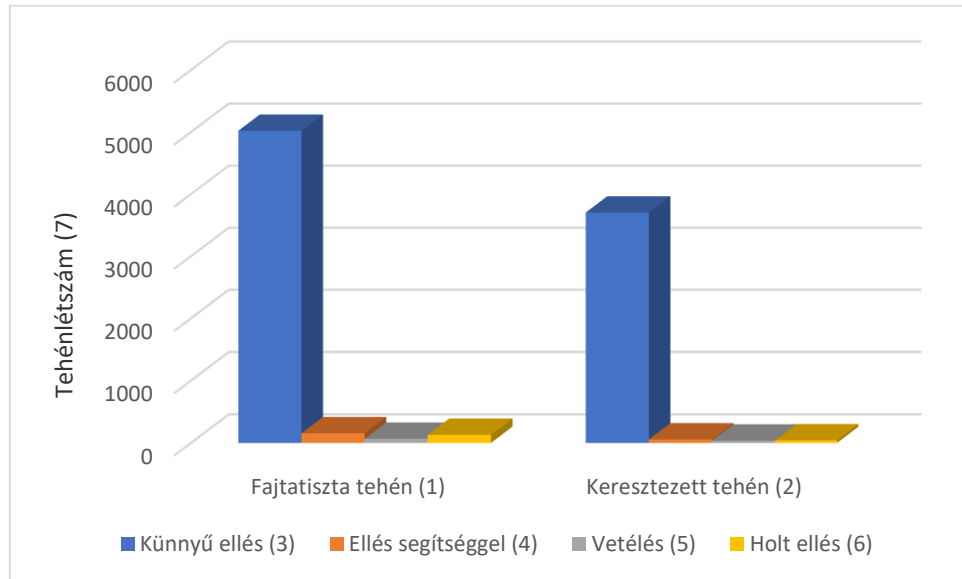


Figure 5: Characteristics of calving in registered herds

purebred cow (1), crossbred cow (2), easy calving (3), calving with small assistance (4), abortion (5), stillbirths (6), number of cows (7)

Az állattartó- és tenyésztő gazda a piacon kívánja – megfelelő áron – értékesíteni az előállított „portékáit”. Az állatértékesítési átlagsúlyokat, a termelésellenőrzött tenyészetek tekintetében, a 6. ábra szemlélteti. Ez az ábra is igazolja azt, hogy a limousin fajta minden életkorban piacképes terméket jelent az élelmiszergazdaságban: selejt tehén (561 kg), választott üsző borjú (225 kg), választott bika borjú (279 kg), növendék tenyészüsző (346 kg), vemhes üsző (467 kg), hizott bika (566 kg), tenyészbika (716 kg).

Közismert, hogy nem minden termelésellenőrzés alatt álló állomány törzstenyészet. 2018-ban, a termelésellenőrzött tehenek száma 6702 egyed volt. Ennek 68 %-a képezi a törzstenyészetek tehénlétszámát (4620 egyed). Ez az arány egy jó kiindulási alapot jelent a hazai állomány további genetikai fejlesztéséhez. A törzstenyészetek tehenei, 51 tenyészetben található, az-az a farmok 39 %-ban.

A választott borjak 205 napra korrigált súlya az alábbi volt: bikák (262 kg), üszők (228 kg). Az STV-ben minősített bikák esetében ez az érték 313 kg-nak mutatkozott. Franciaországban, a bikák 210 napra korrigált súlya 268 kg (n=27.373) volt (Anonim, 1992). Különböző elemzésekben Nagy (1986) 246 kg-os (n=187), Kovács és Szűcs (1993) 245 kg-os (n=1336) értékeket közöltek bikák korrigált elősúlyára. Kovács és Szűcs (1993) az üszőborjak élősúlyát 233 kg-nak (n=1339) állapította meg. Hasonló eredményeket kaptak Bene (2007) és Födrös (2008) is. A fajta bölcsőjében, 210 napra korrigált érték (n=355.713), 255 kg (Journaux és Laloe, 2000) volt.

A limousin tehenek néhány jellemző 2018-as adatát az alábbiakban összegezzük:

- Küllemi bírálati összpontszám: 77 pont
- Első ellési életkor: 33 hónap
- Két ellés közötti idő: 418 nap

## 6. ábra: Átlagos élősúlyok az értékesítéskor

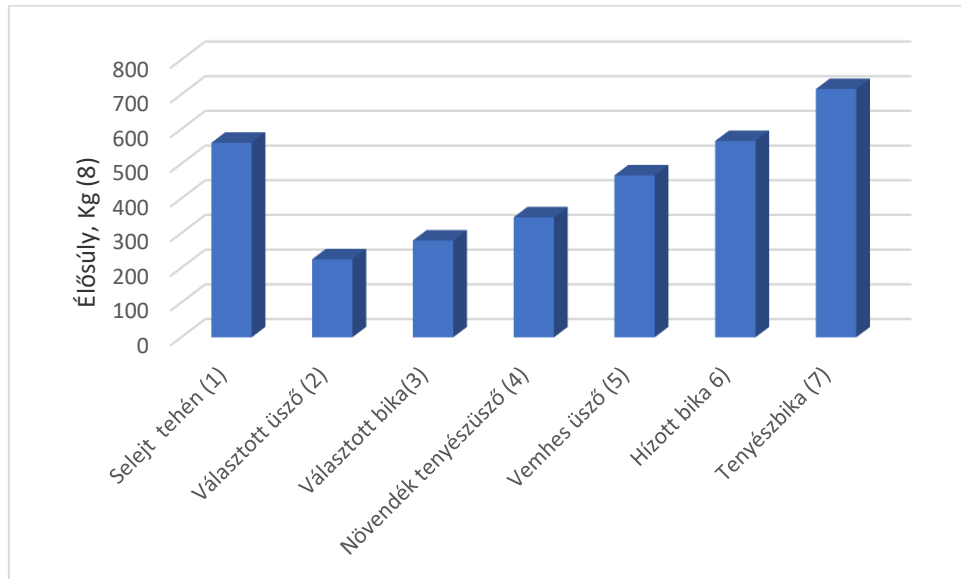


Figure 6: Average body weight for selling

bad cow (1), heifer weaned (2), male calf weaned (3), growing heifer for breeding (4), pregnant heifer (5), fattening bull (6), breeding bull (7), body weight (8)

Öröndetes tény, hogy az egyesület tagjai – a hagyományos teljesítményvizsgálat mellett – támaszkodhatnak a munkájuk során a genomvizsgálatok eredményeire. Az átlagos pontszámérték a könnyű ellésre 7,9; a növekedési erélyre, 3,7; az izmoltságra 5,3; a rámára 3; csontfinomságra 8; az utósok könnyűellésre 4,1; a tejtermelésre 5,7 és a belső medence méretére 5,5 volt.

Összegezve az eddigieket megállapíthatjuk, hogy az egyesület jó helyzetben, fejlődési állapotban van. A tenyésztő szervezet munkájával és a szakmai információival érdemben segíti a hazai limousin tenyésztőket és ezzel szolgálja a fajta további eredményes fejlődését.

## Irodalomjegyzék

- Anonim (1992). Réultats du Contrôle des Performances des Bovins Allaitants. Institut de l'Élevage, Paris, 125.
- Balika S. Bíró I. (1990): Tenyésztési program. Limousin Tenyésztők Egyesülete, Budapest, 1–16.
- Bene Sz. (2007): Különböző fajtájú húshasznú tehenek néhány értékmérője azonos környezetben. Doktori (PhD) értekezés, Keszthely, 1–140.
- Felius, M. (1985): Genus Bos: Cattle Breeds of the World. MSDAGVET, Division of Merck and Co. Inc. Rahway, NJ., USA. 231.
- Fördös A., Balika S., Keller K., Bene Sz., Szabó F. (2008): Limousin borjak választási eredménye 3. Közlemény: genotípus x környezet kölcsönhatás Állattenyésztés és Takarmányozás, 57. 3. 193–200.
- Journaux, L. (1995): Les programme de sélection des race a viande spécialisée française. Revue technique destinée aux inseminateurs. Institut de l'Élevage, Paris, 1–6.

- Journaux, L., Laloe, D. (2000): Répertoire des résultats de l' évaluation IBOVAL2000 pour les races bovines à viande. (Crn2916), Institut de l' Élevage, INRA*
- Kovács A., Szűcs E. (1993): A tenyészkörzet, az évszak és az ivar szerepe a limousin borjak választási teljesítményére. Állattenyésztés és Takarmányozás, 42. 2. 117–130.*
- Limousin és Blonde d'aquitaine Tenyésztők Egyesülte (2018): Kiadvány a limousin fajtáról. Budapest, 1–6.*
- Nagy N. (1996): Adatok a húshasznú tenyészbika jelöltek STV-inek értékeléséhez. Állattenyésztés és Takarmányozás, 35. 4. 305–311.*
- Szabó F., Szűcs E., Tőzsér J. (1997): Stratégia kutatási programok: az agrárgazdaság minőségi dimenziói. „Agro-21 Füzetek, Kompolt, 57.*
- Szabó F. (1998): Húsmarhatenyésztés. Mezőgazda Kiadó Budapest, 66.*



## A MÉHANYA ÉLETKORÁNAK HATÁSA A MÉHCSALÁDOK (*APIS MELLIFERA* L.) 2018. ÉVI TAVASZI FEJLŐDÉSÉRE ÉS MÉZTERMELÉSÉRE

Takács Marianna, Oláh János

Debreceni Egyetem, Agrár Kutatóintézetek és Tangazdaság, Debreceni Tangazdaság és Tájkutató Intézet

4032 Debrecen, Böszörményi út 138.  
takacsmarianna@agr.unideb.hu

Received – Érkezett: .19. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 04. 04. 2020.

### Összefoglalás

Magyarországon a méhanyák ára jelentősen megemelkedett az elmúlt években, azonban azok elfogadtatási aránya csökkenő tendenciát mutat, melyet elsősorban az olasz méhfajta (*Apis mellifera ligustica*) hazai megjelenésével hoznak összefüggésbe a méhészek. További problémát okoz a méhanyák esetében, hogy a hazai méhészeti gyakorlatban a méhészek a kétéves kort elérő méhanyákat lecserélik, melyet azzal magyaráznak, hogy életkoruk előrehaladtával csökkenő petézési teljesítményt nyújtanak, mely a gyengébb népesség révén a méztermelésben is érvényre juthat. Jelen tanulmányban arra keressük a választ, hogy a fent említett tényezők (tavaszi fejlődés, méztermelés) hogyan alakulnak az eltérő életkorú méhanyával rendelkező méhcsaládokban. A vizsgálat során 1, 2 –illetve 3 éves méhanyás családokban vizsgáltuk meg a fiasítási terület kiterjedését, melyet  $\text{cm}^2$ -ben határoztunk meg; akác méhlegelőről történő hordás idején az elvehető méz mennyiségét mértük. A méhcsaládok tavaszi fejlődésének vizsgálatára 2018. április 8. és május 22. között négy alkalommal került sor, melyet ún. fiasításmérő lappal végeztünk el. Az elvehető méz mennyiségének meghatározása során pedig a méztéri fiókok pergetés előtti és utáni súlyából nyertünk adatokat. A méz mennyiségére vonatkozó méréseket 2018 májusában, akácvirágzás idején végeztük el. Azt tapasztaltuk, hogy a fiatalabb (egyéves) méhanyás családokban az elvehető méz mennyisége 26,5 %-kal magasabb, mint az idős (hároméves) méhanyával rendelkező családok esetében, míg a fiasítási terület kiterjedésben mindhárom korcsoport eltérő képet mutatott.

**Kulcsszavak:** méhanya, méztermelés, fiasítás

**The effect of the queen bee's age on the spring development and honey production of honey bee colonies (*Apis mellifera* l.)**

### Abstract

In Hungary the price of queen bees have risen significantly in recent years. Presently, the rate of acceptance of queens has declined, due mainly to the appearance of the italian honey bee (*Apis mellifera ligustica*) in our country. A further problem with queen bees is that in hungarian beekeeping practice, beekeepers replace the two-year-old queens, which is explained by the fact

that, as the queen's age adversely affects the egg production, it also manifests in honey production in the honey bee colonies.

The aim of the current study was to determine the effects of age of queen bees on the quantity of brood area and honey production of honeybee colonies. The performance of experimental colonies, which had 1, 2 and 3 year-old queens, were compared. Their brood areas (cm<sup>2</sup>) and acacia honey yield (kg/colony) were measured. During the examination of spring development of honeybee colonies the data were recorded four times between 8<sup>th</sup> April and 22<sup>nd</sup> May in 2018 (with a transparent plastic grid), and the honey supers were weighted before and after the honey harvest to ascertain the acacia honey yield for each colony.

According to our results colonies which headed by one-year old queen bees had 26.5 % higher honey production than colonies in which the queen bees were older. In practical aspects of our results in the brood area we found that there was a significant difference among all three groups.

**Keywords:** queen bee, honey production, bee brood

### Szakirodalmi áttekintés

A hazai méhészeti gyakorlatban sok esetben tapasztalják a méhészek, hogy az anyásítás során, az anyásított méhcsalád fogadattási ösztöne gyenge, azaz az új méhanya elfogadásának mértéke csökken, melyet a méhésztársadalom az *Apis mellifera ligustica* magyarországi jelenlétével indokol. Azokban a régiókban, ahol a mézélő méheknek már kialakult helyi alfaja, ökotípusa volt, az olasz méh megjelenése a genetikai tisztaság csökkenéséhez vezetett (*De La Rua és mtsai*, 1998; *Garnery és mtsai*, 1998 a, b). A helyi, államilag jóváhagyott alfajok védelme és eredeti genetikai struktúrájuk fenntartása számos országban aggodalomra ad okot (*Garnery és mtsai*, 1998 a, b). Továbbá a méhészeti termékek kereskedelme mellett már a méhanya exportjával és importjával, így az esetleges hibridizálódással is számolnunk kell. Ennek következtében a Kárpát-medence ökológiai feltételeihez kiválóan alkalmazkodott, az évszázadok alatt meghonosodott, illetve az anyanevelők által kitenyészített *Apis mellifera carnica pannonica* méh génállományának megváltozására is számítani lehet (*Szalai és Molnár*, 2000).

A méhanya sajátos szaporodási tulajdonsága révén (nászrepülés), a természetes körülmények között lezajlott párzás során csupán a méhanya ismert, ugyanis a méhanya a nászrepülés során idegen méhészetekből származó herékkel párosodik, melyek genetikai állománya nem ismert. A hazai méhészeti gyakorlatban számos méhész saját nevelésű méhanyával méhészkedik, mely nem biztosítja a pannon méh genetikai tisztaságát, a méhanya különleges szaporodási folyamata következtében.

A vásárolt méhanyak esetében gyakran felmerülő probléma azok leváltása a termelő méhcsaládban, a párzott petéző méhanya behelyezését követően nagyon fontos szempont a fogadó méhcsalád állapota, korösszetétele is. Ha a család eddigi méhanyjával meg volt elégedve, abban az esetben az új méhanyát szinte biztosan le fogja váltani. Az új méhanyak petézési üteme lassú, vontatott, feromonja, család összetartó képessége még gyenge, melyek néhány hét elteltével állnak csak helyre. Ennek következtében a méhcsalád nem tartja megfelelőnek a népesség fenntartásához a méhanya teljesítményét, így a leváltás kerül előtérbe a méhcsaládban. Ebben az időszakban kezdenek váltóbölcsőket húzni, továbbá a méhanyát készítetik azok bepetezésére. A méhész is hozzájárulhat a méhanyak elfogadattási arányának növeléséhez a váltóbölcsők lerombolásával. Az új méhanya petézési lendülete a hetek előrehaladtával javul, mely az elfogadattást jelentősen megkönnyíti a méhcsaládokban. Az új méhanya által lerakott petékből kikelő első generáció megjelentését követően megnyugszik a méhcsalád (*Jó*, 2013).

A méhanyak által lerakott fiasítás mennyisége határozza meg a méhcsaládok teljesítményét. A méhanyak teljesítményének vizsgálatára, megítélésére számos módszer ismert a méhészeti gyakorlatban (Roberts és Stanger, 1969; Johansson és Johansson, 1973): a megtermelt méz mennyiségének meghatározása, a dolgozó méhek száma, a méhcsalád népessége, a rajzás intenzitása (Delaplane és mtsai, 2013), az áttelelő képesség és a túlélési arány (betelelt és kitelelt méhcsaládok aránya állomány szinten) (Akyol és mtsai, 2011). A családveszteségek legfőbb időszaka a tél, amikor nagymértékű elhullás következhet be, melynek leggyakoribb oka, hogy az idős méhanyak családok gyengék, nem megfelelő korösszetételű állományok kerültek betelelésre (Tarpay és mtsai, 2000). Kaftanoglu és mtsai (1988) szerint a méhanyak 4 -5 évig is élhetnek, azonban petézési teljesítményük évről évre csökkenő tendenciát mutat. Egy általánosan elfogadott ismérv a méhészek körében, hogy a méhanya életkora befolyásolja azok teljesítményét (Kostarelou-Damianidou és mtsai, 1995).

A méhanya petézési tevékenységét februárban kezdi meg (Örösi, 1957), azonban ekkor, elsősorban az alacsony hőmérséklet gátló hatása miatt, a legkiválóbb méhanyak is csak kevés petét raknak. A méhanya petézési teljesítmény-vizsgálat megkezdésére a méhcsaládok tavaszi fejlődésének kezdeti időszaka a legalkalmasabb, azonban e téren jelentősen eltérő véleményekkel találkozhatunk, hogy mikor indokolt először kaptárt bontani, mely általában a tisztuló repüléseket követő napokra tehető (Zimmer, 2018).

A méhcsaládok első tavaszi átvizsgálására március második felében kerüljön sor, amikor a külső hőmérséklet eléri a 15-18 °C-ot (Zsidei, 1990). Azonban az elmúlt években a hazai időjárási viszonyok sok esetben nem tették lehetővé, hogy március közepén megkezdjük a méhcsaládok tavaszi átvizsgálását, hiszen az alacsony külső hőmérsékleten történő kaptárbontás következtében a fiasítás megfázhat, mellyel visszavetjük a méhcsaládok fejlődését.

Az idős méhanya teljesítmény csökkenése számszerűsíthető terméskiesést okoz (Zimmer, 2018). Ezt a terméskiesést a méhanya életkorának függvényében mért, elvehető méz mennyiségével tudjuk meghatározni (Akyol és mtsai, 2011).

Vizsgálataink során arra kerestük a választ, hogy az eltérő korú (egy, kettő,-illetve hároméves) méhanyával rendelkező méhcsaládokban a tavaszi demografiai felfutás során hogyan alakul a fiasítási terület valamint a kipergethető akácméz mennyisége.

## Anyag és módszertan

A kísérleti állomány Szabolcs-Szatmár-Bereg megyében, Nyírmadán található. A kísérletben eltérő életkorú méhanyával rendelkező méhcsaládok vettek részt, melyek egy 160 méhcsaládból álló méhészet részét képezik. A kísérletbe állított méhcsaládok kiválasztása véletlenszerűen történt (az azonos korú méhanyával rendelkező méhcsaládok közül). A vizsgált méhcsaládok Közép-Boczonádi fészki rakodókaptárban kerültek elhelyezésre, anyarács használata nélkül. A Közép-Boczonádi fészkekben a keretek mérete 42x29 cm (a fa kerettel együtt), azonban a méhanya számára rendelkezésre álló felület 40x27 cm. A mérethez történő igazodás érdekében a vizsgálatok során az alkalmazott mérőlap 5x3 cm-es beosztású egységekkel rendelkezett (mely lehetővé teszi azt, hogy a keret szélességében és hosszúságában is azonos nagyságú beosztásokat hozzunk létre a mérőlapon), így a rácshálózat egyes elemeinek mérete 15 cm<sup>2</sup>.

Az összehasonlítás során az 1, 2 illetve 3 éves méhanyak által lerakott, fedett fiasítási területet cm<sup>2</sup>-ben határoztuk meg. A mérések elvégzéséhez egy átlátszó, egységes méretű rácshálóval ellátott, ún. fiasításmérő lapot alkalmaztunk. A munkafolyamat elvégzéséhez két fő szükséges. A mérőlap alkalmazása során az adatok feljegyzésére a helyszínen került sor. Minden

keret, illetve méhcsalád esetében összegeztük a mérőlapon megszámlált 15 cm<sup>2</sup>-es területű egységeket, melyek fedett fiasítást tartalmaztak.

A méhek számára biztosított téli takarás a tavaszi fejlődés kezdeti időszakában is nagy jeletőséggel bír. A méhcsaládokban a téli időszakban többrétegű takarást alkalmaztunk, mely az alábbiak szerint került kialakításra: egy réteg fóliatakarás, melyet 2 cm-re hátrahúszva helyeztünk be a fészkek kereteire a páraelvezetés érdekében, a fóliatakarásra 4 rétegben hullámpapírt illesztettünk, a legfelső réteget pedig 2 cm vastagságú filc képezte. A telelési időszakra a méhcsaládokban szűkítést nem végeztünk. A Közép-Boczonádi fészkekben a méhcsaládok átlagosan 6-8 kereten kerültek betelelésre. A téli időszakban a fészkek alatt egy-egy méztéri fiók kerül elhelyezésre. A tavaszi időszakban, áprilisban (meggyvirágzás kezdetén) a téli hónapokban a fészkek alatt található méztéri fiókot felülre forgatjuk, a fészkek fölé, bővítés céljából. Minden kísérletben résztvevő méhcsalád azonos tavaszi serkentő etetésben részesült A tavaszi fejlődés kezdeti időszakában (február – március) két alkalommal cukorlepény (0,5 kg/méhcsalád) és három alkalommal 1:1 arányú cukorszirupot (0,5 l/méhcsalád) juttattunk be a méhcsaládok számára.

A tavaszi fejlődés nyomkövetésére irányuló vizsgálatainkra 2018. április 8. és május 22. között négy alkalommal került sor. A vizsgálatok megkezdésének tervezett időszaka március második dekádja volt, azonban az alacsony külső hőmérséklet következtében csak április 8-án volt lehetőségünk a mérések megkezdésére. A márciusi hőmérséklet országsszerte átlag alatti értékekkel volt jellemezhető (-15 °C alatti értékek) (OMSZ, 2018).

Az elvehető akácméz mennyiségének meghatározása során az egyes vizsgált méhcsaládokhoz tartozó méztéri fiókok pergetés előtti és utáni mérlegelésével nyertünk adatot. A pergetési munkálatokra két alkalommal került sor: 2018. május 5-6-án, illetve 2018. május 12-13-án. A méztéri fiókok mérését tizedes (d=0,1 kg) pontosságú digitális mérleggel végeztük (Salter Unit, max. teherbírás: 180 kg).

### **Az eredmények statisztikai értékelése**

Az eredmények statisztikai értékelésére az IBM SPSS (verzió: 22.) statisztikai programot választottuk. A méhanya életkorának méztermelésre, családérösszegrő gyakorolt hatásának vizsgálata során varianciaanalízist alkalmaztunk, illetve Tukey-tesztet használtunk az összefüggések elemzésére. A vizsgálatban résztvevő méhcsaládok számáról és az egyes csoportokhoz tartozó méhanya-életkoráról az 1.táblázat nyújt tájékoztatást.

#### **1. táblázat: A kísérletben résztvevő méhcsaládok megoszlása a méhanyak életkora alapján**

<sup>1</sup> A méhanyak életkora a vizsgálat évében (2018)	<sup>2</sup> Méhanya kikelési éve és a vizsgált méhcsaládok száma (n)
1 éves	2017 n=14
2 éves	2016 n=19
3 éves	2015 n=17

Table 1: Distribution of honey bee colonies in the experiment by age of queen bee

1: Age of queen bees in the year of study, 2: The birth year of queen bee and the number of examined honey bee colonies (n)

Forrás: saját szerkesztés, 2018.

## Eredmények és azok értékelése

Eredményeink értékelése során azt tapasztaltuk, hogy április 8. és május 7. között mind a három csoport szignifikánsan eltér egymástól a fiasításos terület kiterjedésében. Az utolsó időpontban azonban a legidősebb méhanyával rendelkező csoportban volt szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) alacsonyabb ez az érték. Az utolsó mérés időpontjában a pergetési munkálatok már lezajlottak. A nemzedékváltás kezdetére utaló jeleket a május 7-i átvizsgálás alkalmával észleltük a méhcsaládokban.

A statisztikai értékelés elvégzését követően azt tapasztaltuk, hogy a méhanya életkorának előrehaladtával a fiasításos terület kiterjedése szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) alacsonyabb értékekkel jellemezhető (2. táblázat).

### 2. táblázat: A fiasításos terület kiterjedése a vizsgált méhcsaládokban 2018. évben

2018.	<sup>2</sup> Április 8.	<sup>2</sup> Április 25.	<sup>2</sup> Május 7.	<sup>2</sup> Május 22.	<sup>4</sup> Összesen
<sup>1</sup> A méhanyák kelési éve	<sup>3</sup> Átlag $\pm$ SD (cm <sup>2</sup> )				
2015 n=17	605.8 <sup>a</sup> $\pm$ 137.2	1162.5 <sup>a</sup> $\pm$ 427.8	1317.7 <sup>a</sup> $\pm$ 225.7	1540.0 <sup>a</sup> $\pm$ 314.5	4680.0 <sup>a</sup> $\pm$ 958.8
2016 n=19	848.2 <sup>b</sup> $\pm$ 176.9	1390.3 <sup>b</sup> $\pm$ 306.7	1790.3 <sup>b</sup> $\pm$ 386.6	2141.8 <sup>b</sup> $\pm$ 438.4	6170.5 <sup>b</sup> $\pm$ 1061.1
2017 n=14	1108.2 <sup>c</sup> $\pm$ 264.8	1909.4 <sup>c</sup> $\pm$ 539.6	2319.3 <sup>c</sup> $\pm$ 744.8	2744.6 <sup>b</sup> $\pm$ 931.8	8081.6 <sup>c</sup> $\pm$ 2091.0

Table 2: The brood areas expressed in cm<sup>2</sup>

1: The birth year of queen bees, 2: Date of examinations: 8<sup>th</sup> April, 25<sup>th</sup> April, 7<sup>th</sup> May, 22<sup>nd</sup> May

3: Mean  $\pm$  SD, 4: Total

<sup>a-c</sup>: az azonos betűvel jelzett értékek között szignifikáns eltérés nem tapasztalható (Tukey-teszt alapján)

<sup>a-c</sup>: group means with similar letters are not significantly different at 0.05 level (According to Tukey's-test).

Az elvehető méz mennyiségének mérése során nyert adatok statisztikai elemzését követően azt tapasztaltuk, hogy szignifikáns eltérés mutatkozik az egyes csoportok között. A méhanya életkora és a méztermelés közötti összefüggések vizsgálatát követően megállapítottuk, hogy az idősebb (hároméves) méhanya által fenntartott méhcsaládokban a méztermelés csökkenő értékeket mutat. Az összesített méztermelési adatok során azt láttuk, hogy az egyéves méhanyával rendelkező családok által megtermelt méz mennyiségéhez képest több mint 10 kg-mal kevesebb a kipergethető méz mennyisége a 2015. évi (hároméves) méhanyás családokban. Az egy, illetve két éves méhanyás csoport között ez az eltérés 5,2 kg volt (3. táblázat).

### 3. táblázat: Az elvehető akácméz mennyiségének alakulása a vizsgált méhcsaládokban

	<sup>2</sup> Első pergetés (kg)	<sup>3</sup> Második pergetés (kg)	<sup>4</sup> Összesen (kg)
<sup>1</sup> A méhanyák kelési éve	<sup>5</sup> Átlag±SD		
2015 n=17	7.8 <sup>a</sup> ±1.9	6.5 <sup>a</sup> ±1.6	14.4 <sup>a</sup> ±2.5
2016 n=19	9.7 <sup>b</sup> ±1.2	9.8 <sup>b</sup> ±1.5	19.6 <sup>a</sup> ±1.9
2017 n=14	12.7 <sup>c</sup> ±1.7	12.1 <sup>c</sup> ±1.7	24.8 <sup>c</sup> ±2.2

Table 3.: The quantity of black locust honey

1: The birth year of queen bees, 2: First honey harvest (kg), 3: Second honey harvest (kg), 4: Total (kg)  
5: Mean ± SD

<sup>a-c</sup>: az azonos betűvel jelzett értékek között szignifikáns eltérés nem tapasztalható (Tukey-teszt alapján)

Source: IBM SPSS Statistic Program (Version 22.)

<sup>a-c</sup>: group means with similar letters are not significantly different at 0.05 level (According to Tukey's-test).

### Követztetések és javaslatok

Az alkalmazott kaptártípus esetében a fészkek és a méztéri fiók elkülönül. A méztéri fiókokban található méz mennyiségén túlmenően a fészkek kereteiben is halmozódik fel méz, azonban a fészkek kereteinek pergetése nem jellemző, hiszen a pergetési munkálatok időszakában jelentős mennyiségű a fiasítás a keretekben. A pergetés során a fiasítás sérül, mely a méhcsalád fejlődését hátráltatja. A hordás intenzitásának csökkenését követően a fészekből a méhcsalád feltermeli a begyűjtött mézkészletet a pergetett, üres méztéri fiókok kereteibe (Takács és Oláh, 2015). 2018-ban a fiasításos területek mérésének utolsó időpontjában azt tapasztaltuk, hogy az egy, illetve két éves méhanyák családjai között statisztikailag igazolható különbség nincs a fiasításos területet illetően, míg a 2015. évi (három éves) méhanyás családokban ez az érték szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) alacsonyabb volt. Ez a különbség az előzőekben ismertetett folyamattal magyarázható. Ennek következtében a fészkekben nagyobb terület áll a méhanya rendelkezésére a petezéséhez. Ez az időszak a fiatalabb méhanyás családokban hamarabb megvalósult, így ezekben a méhcsaládokban a lendületes petezés folyamatosabb, hiszen itt a nagyobb népesség a sejtek tisztítását, építését gyorsabb ütemben végzi

Akyol és mtsai (2008) azt tapasztalták, hogy a fiatalabb, egy, illetve két éves méhanyák által fenntartott méhcsaládokban a fiasításos terület kiterjedése  $3078 \pm 372,5 \text{ cm}^2$ ,  $3668 \pm 460,3 \text{ cm}^2$ , míg a három éves méhanyás családokban mindössze  $1665,38 \pm 241,8 \text{ cm}^2$  volt a mért terület. Szintén Akyol és mtsai (2007) munkájukban alacsonyabb értékekről számolnak be (idei méhanya esetében  $2673,58 \pm 39,69 \text{ cm}^2$ , egy éves méhanya esetében  $2711,75 \pm 39,68 \text{ cm}^2$ , két éves méhanya esetében  $1815,08 \pm 39,70 \text{ cm}^2$ ). Azonban az eredményekből látható, hogy az egy éves méhanyák teljesítménye volt a legkiemelkedőbb egy-egy adott időpontban mért fiasításos terület esetében. Vizsgálataink során az utolsó időpontban mért értékek az egyes méhanyás csoportok esetében a 2015. évi méhanyás csoportban  $1540,0 \pm 314,5 \text{ cm}^2$ , a 2016. évi méhanyával rendelkező csoportban  $2141,8 \pm 438,4 \text{ cm}^2$ , míg az általunk vizsgált méhcsaládokban a legfiatalabb, 2017. évi csoportban ez az érték  $2744,6 \pm 931,8 \text{ cm}^2$  értékre adódott. Deák (2018) szerint az egy éves méhanyák petezési képességük 70 %-át képesek produkálni, addig a két éves méhanyák elérhetik genetikai képességük

100 %-át, azonban ez az érték évről évre mintegy 15 %-os csökkenést mutat. *Akyol és mtsai* (2007) munkájuk során kapott értékekkel megközelítőleg azonos értékeket tapasztaltunk munkánk eredményeiben, az egyéves méhanyás családokat illetően ( $2744.6 \pm 931.8 \text{ cm}^2$ ).

Az Országos Magyar Méhészeti Egyesület jelentése alapján az országos átlag akácról történő hordás idején 15-16 kg/méhcsalád volt hazánkban (*Bross, 2018b*). A legfiatalabb méhanyával rendelkező méhcsaládokban a megtermelt méz mennyisége másfélszerese az országos átlagnak (155 %), míg az idős (hároméves méhanyás családokban) a kipergetett méz mennyisége az országos átlag alatt maradt (annak 90 %-a), melyre a kedvezőtlen időjárás is jelentős hatást gyakorolt. A márciusi (téli) időjárás következtében a méhcsaládok tavaszi populációnövekedése vontatottá vált, megközelítőleg két hét lemaradásban voltak a méhek, márciusban leálltak a méhanyák a petézéssel, egy teljes generáció kimaradt (*Bross, 2018a*). Tehát később kezdődött meg az intenzív fiasításos időszak, mely a gyűjtő népesség létszámát is jelentősen befolyásolta. Eredményeink gyakorlati vonatkozásában tehát elmondható, hogy az idős méhanyával rendelkező méhcsaládok számára - a gyengébb petézési tevékenységen túlmenően- a kedvezőtlen időjárás okozta populáció – kiesés a méztermelésben jut érvényre, szignifikánsan ( $p < 0,05$ ) alacsonyabb az általuk megtermelt méz mennyisége.

*Kaftanog lu és mtsai* (1988) szerint az idős méhanyák fiatallal történő cseréje a sikeres méztermelés egyik alappillére. Korábbi kutatási eredmények szerint az egyéves méhanyával rendelkező méhcsaládokban az elvehető méz mennyisége 27-30 %-kal több, mint az idős méhanyás családokban (*Simeunovic és mtsai, 2014*). Eredményeink értékelése során hasonló értékeket kaptunk. Az általunk vizsgált méhcsaládok esetében a megtermelt méz mennyisége 26,5 %-kal több az egyéves méhanyás családokban, mint a kísérletben résztvevő kétéves méhanyával rendelkező csoportban. Továbbá a kétéves méhanyák családjaiban 36,1 %-kal magasabb a kipergetett akácméz mennyisége, mint a kísérletben résztvevő, legidősebb (hároméves) méhanyával rendelkező méhcsaládokban.

*Simeunovic és mtsai* (2014) által vizsgált méhcsaládokban hasonló eredményeket, következtetéseket fogalmazott meg a méhanya életkorának családérösszegré, tavaszi populációnövekedésre és méztermelésre gyakorolt hatásának vizsgálata során (idős méhanya esetében szignifikánsan alacsonyabb a kijáró, gyűjtő népesség; a méhanya életkorának előrehaladtával csökkenő méztermelés mutatkozik). *Akyol és mtsai* (2007) munkájában hasonló méztermelési eredményeket ért el az egyéves (a vizsgálatok során a legfiatalabb méhanyakorcsoport) méhanyás családokban,  $26.3 \pm 2.89 \text{ kg/méhcsalád}$ . Az általunk vizsgált legfiatalabb (2017. évi) méhanyás családokban az átlagos megtermelt méz mennyisége  $24.8 \pm 2.2 \text{ kg/méhcsalád}$  volt, míg *Genersch és mtsai* (2010)  $39,5 \text{ kg/méhcsalád}$  méztermelési átlagokról számol be egyéves méhanyával rendelkező méhcsaládok esetében. A különbségek fő oka az egyes tanulmányok között, hogy ezek eltérő éghajlati viszonyok között, más-más földrajzi adottságokkal rendelkező régióban, illetve eltérő kísérleti körülmények között (eltérő növényvilág, méhlegelő, genotípusok, méhészeti technológia, kaptártípus) születtek (*Pankiw és Page, 2001*).

Eredményeink gyakorlati vonatkozásában elmondható, hogy az idősebb méhanya életkorának előrehaladtával csökkenő petézési teljesítményt nyújt. Ez a csökkent fiasítás a méhcsaládok gyűjtőnépességében is megmutatkozik, mely alacsonyabb méztermelést eredményezett akác méhlegelőről történő hordás időszakában.

A gyakorlatban ez úgy értelmezhető, hogy a fiatalabb (egy-és kétéves) méhanyák petezésének mértéke egységnyi időben intenzívebb a fiasítás kezdeti időpontjától, mint a hároméves méhanyáké. Így a tavaszi, hordási időszakra már nagyobb gyűjtőnépességgel is rendelkeznek a fiatalabb méhanyával rendelkező méhcsaládok. A nagyobb népesség nagyobb

kiterjedésű fiasítás gondozására képes, ez pedig lehetővé teszi a méhanyak számára azt, hogy akár kedvezőtlenebb időjárás esetén is megfelelően tudjanak petézni. Ezzel szemben a hároméves méhanyak által lerakott fiasítás mérsékelt kiterjedésű, mely kevesebb munkásméhet is eredményez, ezáltal csökken a dajkaméhek száma is. Ez pedig korlátozza a méhanyát, mely nem tud képességeinek megfelelően petézni. Továbbá az intenzív tavaszi fejlődés időszakában, a fészekben a méhcsaládok 34-35 °C-ot biztosítanak a méhanya számára (*Seeley és Heinrich, 1981*), azonban az alacsony külső hőmérséklet jelenősen csökkenti a méhcsaládoknak ezt a képességét, azaz a fiasítási terület optimális hőmérsékleten tartását (*Medryczki és mtsai, 2015*). Ez a képesség az idősebb (hároméves) méhanyával rendelkező méhcsaládokban az alacsonyabb népesség (munkásméhek) révén fokozottban hátráltatja a méhanya petézését, ezáltal a tavaszi fejlődés mértékét és a méztermelést.

### Köszönetnyilvánítás

A publikáció elkészítését az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 számú projekt támogatta. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

### Irodalomjegyzék

- Akyol, E., Yeninar, H., Karatepe, M., Karatepe, B., Özkök, D. (2007): Effects of queen age on Varroa (*Varroa destructor*) infestation level in honey bee (*Apis mellifera caucasica*) colonies and colony performance. Italian Journal of Animal Science, 6. 143–149.
- Akyol, E., Yeninar, H., Korkmaz, A., Çakmak, I. (2008): An observation study on the effects of queen age on some characteristics of honeybee colonies. Italian Journal of Animal Science, 7. 19–25.
- Akyol, E., Yeninar, H. (2011): The effects of Varroa (*Varroa destructor*) infestation level on wintering ability and survival rates of honeybee (*Apis mellifera*) colonies. Kafkas Üniveritisi Veteriner Fakültesi Dergisi. 17. 3. 507–509.
- Bross P. (2018/a): Minden jó, ha a vége jó! Méhészet, 66. 6. 10–13.
- Bross P. (2018/b): Akác után, napraforgó előtt. Méhészet. 66. 7. 12–13.
- Deák G. (2018): Minőségi anyanevelés Tamásiban. Méhészet. 66. 1. 6–7.
- Delaplane, K.S., van der Steen, J., Guzman-Novoa, E. (2013): Standard methods for estimating strength parameters of *Apis mellifera* colonies. Journal of Apicultural Research, 52. 1. 1–12.
- De la Rúa, P., Serrano, J., Galián, J. (1998): Mitochondrial DNA variability in the Canary Islands honeybees (*Apis mellifera* L.). Molecular Ecology, 7. 1543–1547.
- Garnery, L., Franck, P., Baudry, E. (1998a): Genetic biodiversity of the West European honeybee (*Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera iberica*) I. Mitochondrial DNA. Genetics, Selection and Evolution, 30. 34–47.
- Garnery, L., Franck, P., Baudry, E. (1998b): Genetic biodiversity of the West European honeybee (*Apis mellifera mellifera* and *Apis mellifera iberica*) II. Microsatellite loci. Genetics, Selection and Evolution, 30. 49–74.
- Genersch, E., von der Ohe, W., Kaatz, H., Schroeder, A., Otten, C., Büchler, R., Berg, S., Ritter, W., Mühlen, W., Gisder, S., Meixner, M., Liebig, G., Rosenkranz, P. (2010): The German



- bee monitoring project: a long term study to understand periodically high winter losses of honey bee colonies. *Apidologie*, 41. 332–352.
- Johansson, T.S.K., Johansson, M.P. (1973): Methods for queen rearing. *Bee World*, 54. 149–175.
- Jó I. (2013): Az anyaváltás lehetséges okai. *Méhészet*, 61. 3. 31.
- Kaftanoglu, O., Düzenli, A., Kumova, U. (1988): A study on determination the effects of queen rearing season on queen quality under Cukurova region conditions. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 16. 567–577.
- Kostarelou-Damianidou, M., Thrasyvoulou, A., Tselios, D., Bladenopoulos, K. (1995): Brood and honey production of honey bee colonies requeened at various frequencies. *Journal of Apicultural Research*, 34. 1. 9–14.
- Medryczki, P., Sgolastra, F., Bortolotti, L., Bogo, G., Tosi, S., Padovani, E., Porrini, C., Sabatini, A.G. (2015): Influence of brood rearing temperature on honey bee development and susceptibility to poisoning by pesticides. *Journal of Apicultural Research*. 49. 1. 52–59.
- Országos Meteorológiai Szolgálat (2018): Éghajlati visszatekintő. Elérhető: [https://www.met.hu/omsz/OMSZ\\_hirek/index.php?id=2265&hir=Eghajlati visszatekinto\\_%E2%80%932018\\_tavaszanak\\_idojarasa](https://www.met.hu/omsz/OMSZ_hirek/index.php?id=2265&hir=Eghajlati_visszatekinto_%E2%80%932018_tavaszanak_idojarasa) (Utolsó hozzáférés: 2019. 11. 12).
- Örösi P. Z. (1957): Méhek között. *Mezőgazdasági Kiadó*, Budapest, 105–143.
- Pankiw, T., Page, R.E.Jr. (2001): Genotype and colony environment affect honeybee (*Apis mellifera* L.) development and foraging behavior. *Behavioural Ecology Sociobiology*, 51. 87–94.
- Roberts, C.W., Stanger, W. (1969): Survey of the Package Bee and Queen Industry. *American Bee Journal*, 109. 1. 8–11.
- Seeley, T.D., Heinrich, B. (1981): *Insect thermoregulation*. (Heinrich Edit.). John Wiley and Sons. New York, USA, 350.
- Simeunovic, P., Stevanovic, J., Cirkovic, D., Radojicic, S., Lakic, N., Stanisic, L., Stanimirovic, Z. (2014): *Nosema ceranae* and queen age influence the reproduction of honeybee colony. *Journal of Apicultural Research*, 53. 5. 545–554.
- Szalai M. E., Molnár J. (2000): A mézelő méh tenyésztése, a méhanya nevelése. KÁTKI Méhtenyésztési és Méhbiológiai osztály. Gödöllő. Tisza Nyomda Kft. Szolnok.
- Takács M., Oláh J. (2015): A 2015. évi napraforgóméz mennyiségének alakulása különböző kaptártípus és a méhanya életkorának függvényében. *Animal welfare, etológia és tartástechnológia*, 11. 2. 185–192.
- Tarpy, D.R., Hatch, S., Fletcher, D.J.C. (2000): The influence of queen age and quality during queen replacement in honey bee colonies. *Animal Behaviour*, 59. 1. 97–101.
- Zimmer Z. (2018): A méhcsaládok gyors tavaszi fejlesztése. *Bocz Nyomdaipari Kft. Pécs*, 15–31.
- Zsidei B. (1990): A méhészkedés 12 hónapja. *Mezőgazdasági Kiadó*. Budapest, 46.

## A TŐGYGYULLADÁSSAL KAPCSOLATOS SELEJTEZÉSEK VIZSGÁLATA EGY DÉL-ALFÖLDI TEJELŐ TEHENÉSZETBEN

*Tóth Violetta<sup>1</sup>, Nagypál Virág<sup>1</sup>, Gulyás László<sup>2</sup>, Mikó Edit<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Szegedi Tudományegyetem Mezőgazdasági Kar, Állattudományi és Vadgazdálkodási Intézet  
6800 Hódmezővásárhely, Andrásy út 15.

<sup>2</sup>Széchenyi István Egyetem Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar, Állattudományi Tanszék  
9200 Mosonmagyaróvár, Vár tér 2.  
toth.violetta@mgk.u-szeged.hu

Received – Érkezett: .20. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 20. 04. 2020.

### Összefoglalás

A tejelő tehenészetek többsége a legkorszerűbb, legmodernebb takarmányozási, tartási, fejési, állategészségügyi technológiákat alkalmazza a gazdaságos termelés érdekében. A kiemelkedően magas tejtermelés mellett azonban számtalan problémával is szembe kell nézniük a tenyésztőknek. Általánosan lecsökkent a hasznos élettartam, és a tehenek korai selejtezése is gyakori probléma. 2018-ban Magyarországon az éves átlag laktáció 2,1 volt a Holstein-fríz állományban. A legfontosabb cél, hogy a nagy termelésű teheneket, minél tovább termelésben tartsuk, így növelve a hasznos élettartam hosszát. Kétféle selejtezésről beszélhetünk az egyik a stratégiaileg irányított selejtezés, a másik pedig a kényszer selejtezés. Az általunk vizsgált tejelő tehenészetben 5 év adatai alapján megállapításra került, hogy melyek voltak a fő selejtezési okok, melyik laktációban volt a legnagyobb mértékű a selejtezés és miért, valamint a megbetegedések száma hogyan alakult a különböző laktációkban. A selejtezés 30%-a tőgy egészségügyi okok és 22%-a reprodukciós zavarok miatt történt. A nem megfelelő termelés, sántaság és anyagforgalmi betegségek miatti selejtezés aránya összesen 12% volt. Egyéb betegségek és vezetői döntés miatt összesen 35%-ban selejtezett a telep. A selejtezés aránya laktációnként a következőképpen alakult: 1. laktációban 23%, 2. laktációban 32%, 3. laktációban 25%, 4. laktációban 12%, >4 laktációban 8%. Az első laktációban a selejtezési okok alakulása a következő volt: szaporodásbiológiai zavarok 7,74%, tőgyegészségügy 4,94%, nem megfelelő termelés 4,5%.

**Kulcsszavak:** Holstein-fríz, selejtezés, hasznos élettartam, tőgygyulladás

### Investigation of mastitis-related culling in a dairy farm in south Great Hungarian Plain

#### Abstract

Most dairy farms apply the most up to date and modern feeding, keeping, milking, and animal health technologies in order to achieve cost efficient production. However, besides extremely high milk production, farmers face many other problems. Useful life is generally shortened and early culling of cows is a common problem too. In 2018, the average annual lactation was 2.1 in a Hungarian Holstein-Friesian herd. The most important goal is to keep cattle with high-yielding in production as long as possible. Thus useful life can be increased. There are two types of culling.

One is strategically managed culling and the other is forced culling. Based on the data of 5 years from the examined dairy cattle farm, main reasons of culling and lactation with highest culling rate were determined. The number of diseases in different lactations was revealed as well. 30% of the culling was caused due to udder health reasons and 22% due to reproductive disorders. The overall rate of culling was caused by inadequate production, lameness and metabolic diseases was 12%. Other diseases and managerial decisions resulted in a total of 35% culling. The culling rate per lactations was: 23% in lactation 1th, 32% in lactation 2nd, 25% in lactation 3th, 12% in 4th lactation, 8% in 4< lactations. During the first lactation, the causes of culling were: reproductive disorders 7.74%, udder health 4.94% and inadequate production 4.5%.

**Keywords:** Holstein-Friesian, culling, productive life, mastitis

## Bevezetés és irodalmi áttekintés

A tehenek az első laktációjuk során 70-80%-ban, második laktáció idején 80-90%-ban, harmadik laktációban pedig 90-100%-ban képesek kihasználni genetikai adottságukat. Az 5-6. laktációban ezt a szintet megtartják, majd a 7. laktáció után a termelés csökkenő tendenciát mutat (Ózsvári, 2007). Ez úgy mutatkozik meg, hogy az első laktációban körülbelül 15%-kal alacsonyabb a tejtermelés, mint az azt követő laktációban. Az 5-6. laktációban akár már 25% is lehet az eltérés az 1. laktációs tejtermeléshez képest (Bíró és Ózsvári, 2006). A selejtezésnek költsége van, mégpedig azért, mert egy tenyésztő felnevelési vagy beszerzési ára nagyobb, mint a selejt tehen értéke (Magda, 2003). A szarvasmarha selejtezése két csoportra osztható: az idő előtti és a gazdasági selejtezésre. Az idő előtti selejtezés olyan selejtezés, melynek során nem a vezető hozza meg a döntést. Ilyen selejtezés például az idült masztitisz miatti, vagy a gyógyíthatatlan lábvégbetegség miatti selejtezés. A selejtezési döntések zöme gazdasági alapon nyugszik. Például a gyenge termelésű tehenek állományban tartásának költsége magasabb, mint a selejtezésének költsége (Bíró és Ózsvári, 2006). A selejtezés elsődleges okai a reprodukciós zavarok, a tőgygyulladás, a csökkent termelés és a lábvég betegségek (Bascom és Young, 1998; Chiumia és mtsai, 2013). Kerslake és mtsai, (2018) szerint a tejtermelő tehenészeteknek több figyelmet kellene fordítania az állategészségügyre, genetikára, termelésirányításra és a gazdasági tényezőkre. Megfigyelhető, hogy napjainkban a menedzsment a kezelések helyett a megelőzést állítja a központba (Derks, 2014). Korai selejtezések esetén az állományunkban megnő a fiatal, a maximum genetikai termelőképességét el nem érő egyedek száma. Széles (1996) szerint ennek eredményeképpen kisebb lesz az állomány átlagos évi tejhozama. A szarvasmarha tenyésztés gazdaságosságát nagyban befolyásolják a különböző eredetű tőgygyulladások. A masztitisz az állat egészségére és termelékenységére is veszélyes hatással van (Müller és Sauerwein, 2010). A masztitisz gazdasági kártételei a következők: a tejmenyiség csökkenése, a tejminőség romlása, a tőgygyulladásos tehen tejét nem lehet értékesíteni, azt meg kell semmisíteni. Jelentősek a kezelés során fellépő gyógyszer és gyógykezelési költségek, állatorvosi díjak, többlet munkaidő, valamint a gyógyszerek várakozási idejének köszönhető kár. A tőgygyulladásos tehenek hasznos élettartama rendszerint csökken. A beteg állatoknak elkülönített betegistállót kell fenntartani, mely újabb többletköltségekkel jár. A tőgygyulladás gyakran vezet selejtezéshez, kényszervágáshoz vagy elhulláshoz (Bíró és Ózsvári, 2006). Berta és Béri (2011) szerint a tejelő jelleg és a testkapacitás meghatározó szerepet tölt be a hasznos élettartam szempontjából. Zavadilová és mtsai, (2012) megállapították, hogy a tőgy tulajdonságai és a hasznos élettartam között pozitív összefüggés van. Ducrocq (1991) kihangsúlyozta, hogy a tőgyminőség (tőgyfüggesztés, tőgybimbók helyeződése) nagy-mértékben befolyásolja a hasznos élettartamot. A tőgymorfológiai tulajdonságairól tudunk

kell, hogy jól öröklődnek ( $h^2=0,5-0,7$ ), és már egy-két nemzedék alatt eredményesen javíthatóak (Gulyás, 2002). Thomas és mtsai, (1984) megállapították, hogy a mély hátulsó tőgyfél, a szélesen helyezkedő bimbók vagy a rövid, széles bimbók hajlamosíthatnak tőgygyulladásra. Lojda és mtsai, (1980) vizsgálatai alapján a tölcséres bimbóvég és a kráteres alak szignifikáns összefüggésben van a tőgygyulladás gyakoriságával. Ezek alapján megállapítható, hogy a tőgy egészségi állapota a minőségi tejtermelés egyik alappillére.

## Anyag és módszer

Vizsgálatainkat egy hódmezővásárhelyi tejelő tehenészetben végeztük. A telepen 520 holstein-fríz tehenet fejnek napi három alkalommal. Pihenőbox nélküli kötetlen tartást alkalmaznak. A tehenek termelési szint, valamint laktációs szakaszok szerint vannak 5 csoportba sorolva. Az istállók padozata beton, az almozás szalmával történik két-három naponta, esős időszakban naponta. Minden istállóhoz tartozik kifutó féltetővel és etető úttal. Ezen kívül van még fenntartva ellető istálló, vemhes üszőnevelő és beteg istálló is. A telepen egy 2x20 állásos paralel fejőház működik, melyben kialakították az automata tőgybimbó fürösztő és fejógumi fertőtlenítő rendszert.

Kutatásaink során vizsgáltuk az adott állományban a fő selejtezési okokat. Értékeljük, hogy az első három laktációban hogyan alakul a tőgygyulladás aránya. Kimutatásra került a selejtezett tehenek szomatikus sejtszámának megoszlása. A szomatikus sejtszám mennyisége szerint négy csoportot alakítottunk ki a következőképpen: <250 ezer, 250–500 ezer, 500-1 millió és >1 millió sejt/ml. A tőgygyulladás kimutatása minden esetben a Californiai Mastitis Test segítségével történt. Az első megbetegedés napjának vizsgálatakor a következőképpen 6 szakaszra osztottuk az adott laktációt: 1-25., 26-50., 51-100., 101-150., 151-200., és >201. nap. A vizsgálat során alkalmazott statisztikai módszereket az 1. táblázatban mutatjuk be. Az adatokat a RISKÁ telepirányítási rendszerből nyertük ki. Az elemzéshez SPSS for Windows 18.0 programot használtunk. A vizsgálatok során kapott eredményeket táblázatos, vagy grafikus formában szemléltettük.

### 1. táblázat: A vizsgálatban alkalmazott statisztikai módszerek bemutatása

Alkalmazott statisztikai módszerek	Vizsgált terület
Chi <sup>2</sup> próba	A selejtezési okok %-os megoszlásának alakulása laktációnként. A termékenyítések sorszáma alakulása a laktáció függvényében.
Keresztábrás elemzés	

Table 1: Statistical methods applied for investigation

## Eredmények és értékelésük

Vizsgálatainkat 2013 és 2017 közötti adatokkal végeztük. Az állomány selejtezési okainak arányát az 1. ábra mutatja be.

**1. ábra: Selejtezési okok általános vizsgálata az állományban**

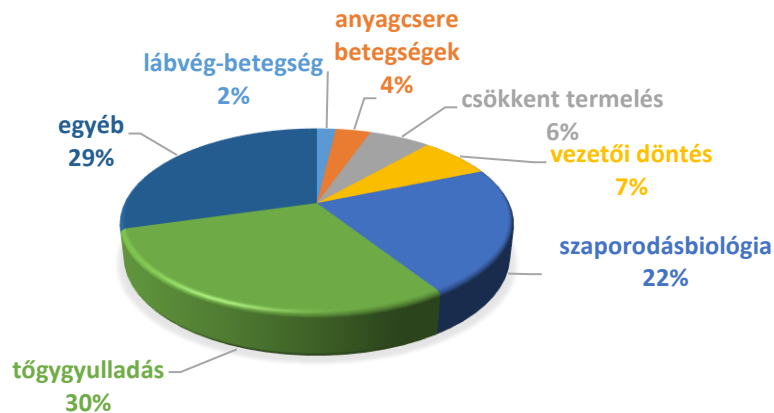


Figure 1: General investigation of culling reasons in the herd

A telepen az évi átlagos selejtezési arány 40,88% volt, míg az országos érték 39,35% a vizsgált időszakban (Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. 2014, 2015, 2016, 2017). Ahlman és mtsai, (2011) a következő selejtezési okokat állapította meg: tőgyegészségügyi problémák, meddőség, csökkent tejtermelés, láb problémák, anyagcsere betegségek, egyéb betegségek. Vizsgálataink során mindegyik ok felmerült, de eltérő sorrendben. Első helyen a tőgygyulladás miatti selejtezés van, mely az összes selejtezés 30%-át adja, ami 348 egyedtel jelent. 29%-kal az egyéb selejtezési okok (szívmegállás, hóguta, tüdőgyulladás) követik a sort, 346 egyeddel. 22%-kal a szaporodásbiológiai okok a selejtezések harmadik legjelentősebb oka. Ebből az okból 261 tehen került selejtezésre. Csökkent termelés miatt kiemelkedően kevés tehenet selejtezt le a telep, 5 év alatt összesen 72 egyedtel, mely az összes selejtezés 6%-át teszi ki. Sántaság és anyagcserezavarok miatt nagyon kis százalékban került selejtezésre tehen, összesen 22 és 41 egyed.

**2. ábra: Selejtezési okok alakulása az egyes laktációkban**

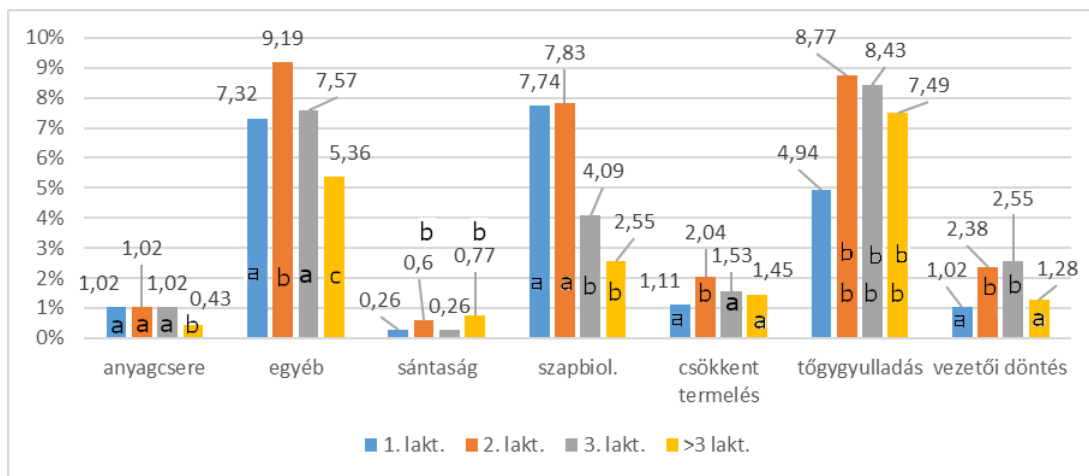


Figure 2: Trends of culling reasons in the first three lactations

A 2. ábra szemlélteti, hogy az egyes laktációkban, hogyan alakultak a selejtezési okok. Az első laktációban összesen 23,4% a selejtezés mértéke. Ebből a 23,4%-ból közel 8%-ot a szaporodásbiológiai zavarok tesznek ki. Második helyen 7%-kal az egyéb állategészségügyi okok állnak, majd a harmadik legfőbb ok a tőgygyulladás közel 5%-kal. A második laktációban összesen 31,8% a selejtezés mértéke. Itt már az egyéb okok állnak az élen 9%-kal, ezt követi a tőgygyulladások miatti selejtezés 8,7%-kal. A szaporodásbiológiai zavarok miatti selejtezés mértéke ebben a laktációban 8% alá csökkent. A harmadik laktációban már látható különbséggel a tőgygyulladás veszi át a vezető okot 8,4%-kal. A második leggyakoribb ok az egyéb okok, mely 7,5%-ot tesz ki. A statisztikai próba elvégzése után szignifikáns eltérést tapasztaltunk a vizsgált mutatók között ( $\text{Chi}^2=33,740$ ,  $\text{df}=12$ ,  $p=0,001$ ).

### 3. ábra: A selejtezett tehenek szomatikus sejtszám megoszlása az 1-3. laktációban

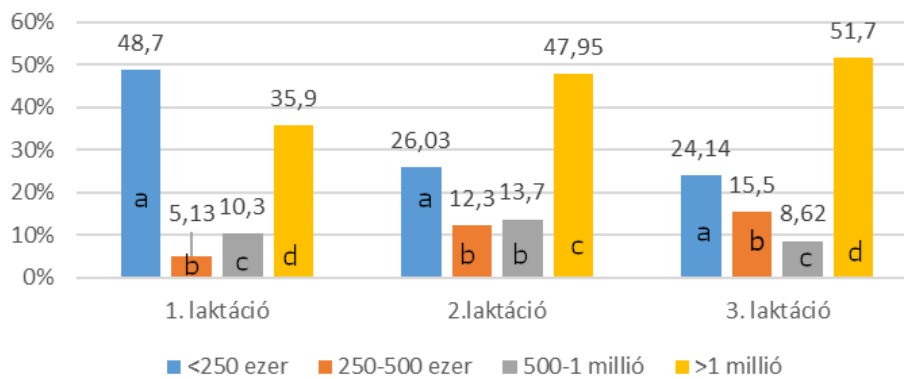


Figure 3: Distribution of somatic cell count of cull cows in the first three lactation

A tejelő teheneknél a laktáció során is történhet selejtezés, valamint a masztitisz a laktáció bármelyik szakaszában előfordulhat (Gröhn és mtsai, 1998). A 3. ábrán mutatjuk be a telepen selejtezett tehenek szomatikus sejtszámának megoszlását az első három laktációban. Az első laktációban a szomatikus sejtszám aránya jellemzően 250 ezer sejt/ml alatti volt. A második legnagyobb arány az 1 millió feletti sejt/ml érték volt, majdnem 36%-kal. A második laktációban döntő többséggel az 1 millió feletti sejtszám volt a jellemző. Ez az érték majdnem elérte az 50%-ot. A harmadik laktációban a selejtezett tehenek tejének szomatikus sejtszáma majdnem 52%-ban meghaladta az 1 millió feletti sejtszámot. A selejtezett tehenek szomatikus sejtszámának aránya a második és harmadik laktációban közel 50%-ban 1 millió sejt/ml feletti volt, mely arra enged következtetni, hogy a selejtezéseket nagy számban klinikai masztitisz okozhatta. Ezt igazolja Haraszti (1996) állítása, aki szerint több mint, 1 millió sejt/ml esetén klinikai masztitiszről beszélhetünk. Az ország összes fejt tehenének szomatikus sejtszám alakulása laktációtól függetlenül átlagosan a következőképpen alakult a vizsgált időszak decemberében: 400 ezer sejt/ $\text{cm}^3$ : 48,79%, 401-500 ezer: 18,57%, 501-700 ezer: 21,90%, 701- 1 millió: 9,51%, 1 millió felett: 1,21%. (Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. 2014, 2015, 2016, 2017). A tőgygyulladás a tejtermelés leggyakoribb és legköltésesebb betegsége (Halasa és mtsai, 2007; Hogeveen és mtsai, 2011). A statisztikai próba eredménye szignifikáns eltérést bizonyított a vizsgált mutatók között ( $\text{Chi}^2=20,903$ ,  $\text{df}=6$ ,  $p=0,002$ ).

## 2. táblázat: Első megbetegedés napja az adott laktációban %-os megoszlásban

Ellés száma	Első betegség bekövetkezésének napja a laktációban						Össz:
	1-25	26 - 50	51 - 100	101 - 150	151 - 200	201+	
1	13,4	0,4	3,2	2,5	2,1	4,2	25,7
2	16,5	2,5	7,0	3,5	1,8	3,5	34,9
3	11,6	2,5	2,8	1,4	2,1	2,8	23,2
4	3,9	0,7	2,5	0,4	0,4	1,8	9,5
>4	5,6			0,4	0,4	0,4	6,7
Összesen	51,1	6,0	15,5	8,1	6,7	12,7	100,0

Table 2: Day of the first disease is signed by calving number in % in the given lactation

A 2. táblázatban százalékos formában tüntettük fel az ellés sorszáman belül az első betegség megjelenésének időpontját az adott laktációban. A táblázat adatai alapján megállapítottuk, hogy a legtöbb megbetegedés a második ellés után történt, melynek aránya 34,9%. Az első és harmadik ellés után közel azonos mértékben fordult elő megbetegedés, 25,7% és 23,2%-ban. A laktáció első 25 napjában történt a legtöbb megbetegedés, melynek aránya 51,1% volt. 13,4% a az egyedeknek az első ellés után betegedett meg a laktáció első 25 napjában. Az 51-100. nap közötti időben növekedett a megbetegedések aránya, melynek mértéke 15,5% volt. A laktáció 101-150. napja között a megbetegedések aránya csökkent összesen 8,1%-ra. A laktáció 151-200. napjában ismét csökkenés mutatkozik a megbetegedések arányát tekintve. A 200. nap után viszont újabb növekedés figyelhető meg. A laktáció utolsó szakaszában az összes egyed 12,7%-a betegszik meg. A tejtermelés megindulása nagyon igénybe veszi az állat szervezetét, ami akár az anyagcsere felborulásához, anyagforgalmi betegségekhez is vezethet. A laktáció korai szakaszában számos megbetegedés fordulhat elő, például oltógyomor helyzetváltozás, bendőacidózis és megnövekedhet a klinikai tőgygyulladás előfordulásának valószínűsége is (Csomán, 2013). LeBlanc (2010) vizsgálatai alapján a tejhasznú tehének 30-50%-a küzd valamilyen anyagcsere vagy fertőző betegséggel az ellés körüli időszakban. Ezen szakirodalmi megállapítás magyarázat lehet arra, hogy miért volt olyan nagyarányú a megbetegedés a laktáció első 25 napjában. A vizsgált mutatók eloszlásában szignifikáns eltérést figyeltünk meg a statisztikai próba elvégzése során ( $\chi^2=24,920$ ,  $df=20$ ,  $p=0,205$ ).

### Következtetések és javaslatok

Vizsgálataink során arra a következtetésre jutottunk, hogy a selejtezések arányát vissza kell szorítani a telepen, különös képpen a tőgygyulladás tekintetében, ezzel növelve a laktációs termelés számát. Ennek következtében az egyedek genetikai potenciálja nagyobb kihasználású lenne, valamint a termelési költségek is csökkennének. Ehhez viszont elengedhetetlen minden esetben állategészségügyi menedzsmentet kialakítani, az ismereteket bővíteni, szaktanácsot kérni. A selejtezések döntő többségében a tőgygyulladás játszott szerepet. A jól kidolgozott tőgyegészségügyi program szigorú betartása a masztitisz jelenlétének visszaszorítását segíti elő, ennek fényében az állomány magasabb termelésre lesz képes, így csökken a selejtezések aránya is.

## Irodalomjegyzék

- Ahlman, T., Berglund, B., Rydhmer, L., Strandberg, E. (2011): Culling reasons in organic and conventional dairy herds and genotype by environment interaction for longevity. *Journal of Dairy Science*, 94. 3. 1568–1575.
- Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (2014): Partnertájékoztató Hírlevél. XIV. 12. 18–19.
- Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (2015): Partnertájékoztató Hírlevél. XV. 12. 14–15.
- Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (2016): Partnertájékoztató Hírlevél. XVI. 12. 22–23.
- Állattenyésztési Teljesítményvizsgáló Kft. (2017): Partnertájékoztató Hírlevél. XVII. 12. 15, 22. p.
- Bascom, S.S., Young, A.J. (1998): A summary of the reasons why farmers cull cows. *Journal of Dairy Science*, 81. 8. 2299–2305.
- Berta A., Béri B. (2011): A hasznos élettartam és a küllem kapcsolatának elemzése holstein-fríz teheneknél. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 60. 47–55.
- Bíró O., Ózsvári L. (2006): *Állat-egészségügyi gazdaságtan*. Szent István Egyetem Állatorvostudományi Kar Állat-egészségügyi Igazgatástani és Agrárgazdaságtani Tanszék, Budapest. 160 p.
- Chiumia, D., Chagunda, M.G., Macrae, A.I., Roberts, D.J. (2013): Predisposing factors for involuntary culling in Holstein-Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 80. 1. 45–50.
- Csomán Á. (2013): A tejhasznú tehen anyagcseréje az ellés körüli időszakban. *Tej-út, Szarvasmarha-ágazati hírlevél*. Vet-Product Kft. 4. 2–5.
- Derks, M., Van Werven, T., Hogeveen, H., Kremer, W.D.J. (2014): Associations between farmer participation in veterinary herd health management programs and farm performance. *Journal of Dairy Science*, 97. 3. 1336–1347.
- Ducrocq, V.P. (1991): Statistical analysis of Length of Productive Life of Dairy Cows in the Normande. *Breed. 42nd E. A. A. P.*, Berlin, Germany. 8-12. September, 11–12.
- Gröhn, Y.T., Eicker, S.W., Ducrocq, V., Hertl, J.A. (1998): Effects of diseases on the culling of Holstein dairy cows in New York State. *Journal of Dairy Science*, 81. 4. 966–978.
- Gulyás L. (2002): A nyers tej szomatikus sejtszámát befolyásoló néhány biológiai és környezeti tényező vizsgálata. Doktori (Ph.D.) értekezés. Mosonmagyaróvár, pp 163.
- Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O., Hogeveen, H. (2007): Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29. 18–31.
- Haraszti J. (1996): A tejtermelés és a tejhigiéna tőgyegészségügyi vonatkozásai. In: *Tejgazdasági kézikönyv* (Szerk. Merény I. – Lengyel Z.) Gazda Kistermelői Lap- és Könyvkiadó Kft., Budapest, pp. 151–179.
- Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T.J.G.M. (2011): Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59. 16–23.
- Kerlake, J.I., Amer, P.R., O'Neill, P.L., Wong, S.L., Roche, J.R., Phyn, C.V.C. (2018): Economic costs of recorded reasons for cow mortality and culling in a pasture-based dairy industry. *Journal of Dairy Science*, 101. 2. 1795–1803.
- LeBlanc, S. (2010): Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development*, 56(suppl.). S29–S35
- Lojda, L., Staviková, M., Zaková, M. (1980): In: Bassalik-Chabielska, L., Ryniewicz, Z. (ed) (1980): Resistant factors and genetic aspects of mastitis control. *Proc. Int. Conf. Jablona-Poland*. 261–276.



- Magda S.* (2003): Az állattenyésztés szervezése és ökonómiája. Szaktudás Kiadó Ház, Budapest. 211 pp.
- Müller, U., Sauerwein, H.* (2010): A comparison of somatic cell count between organic and conventional dairy cow herds in West Germany stressing dry period related changes. *Livestock Science*. 125. 30–37 .
- Ózsvári L.* (2007): Mibe kerül a korai selejtezés? *Magyar Mezőgazdaság*, 62. 6. 16–17.
- Széles Gy.* (1996): A tehéntejtermelés gazdasági értékelése. In: Merényi I. - Lengyel Z. (szerk.): *Tejgazdasági kézikönyv*. GAZDA Kistermelői Lap- és Könyvkiadó. Budapest, 365–380.
- Thomas, C.L., Vinson, W.E., Pearson, R.E* (1984): Relationships between linear type scores, objective type measures, and indicators of mastitis. *Journal of Dairy Science*, 67. 1281–1292.
- Zavadilová, L., Stipkova, M.* (2012): Genetic correlations between longevity and conformation traits in the Czech Holstein population. *Czech Journal of Animal Science*, 57. 125–136.

## THE OCCURRENCE OF MASTITIS AND ITS IMPACT ON SELECTED MILK AND FERTILITY PARAMETERS OF DAIRY COWS

Zigo František<sup>1</sup>, Vasil' Milan<sup>1</sup>, Ondrašovičová Silvia<sup>2</sup>, Zigová Martina<sup>3</sup>,  
Kudělková Lenka<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Animal Husbandry, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic, e-mail: Frantisek.Zigo@uvlf.sk

<sup>2</sup>Department of Anatomy, Histology and Physiology, University of Veterinary Medicine and Pharmacy, Komenskeho 73, 041 81 Kosice, Slovak Republic

<sup>3</sup>Department of Pharmacology, University of Pavol Jozef Šafárik in Košice, Faculty of Medicine, Trieda SNP 1, 040 11 Košice, Slovakia

<sup>4</sup>Department of Animal Husbandry and Animal Hygiene, University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences Brno, Palackého tř. 1946/1, 612 42 Brno, Czech Republic  
frantisek.zigo@uvlf.sk

Received – Érkezett: .17. 11. 2019.  
Accepted – Elfogadva: 21. 04. 2020.

### Abstract

Besides reproduction management, one of the important roles of farmers is to control the incidence of diseases during the lactation in dairy herds, especially mastitis. The aim of the study was to evaluate the occurrence of mastitis and its impact on production and fertility indicators in dairy cows' herd. In herd of 180 dairy cows on the basis of the data provided from milk recording service, 127 cows of Slovak Spotted cattle breed and their crosses with red holstein were included in to the study between 1-2 months after calving. The examination of the health status of mammary gland was consisted from clinical examination of udder, assessment of California mastitis test supplemented by the collection of mixed milk samples from each cow and laboratory examination of bacterial pathogens causing mastitis. In addition to the mammary investigation, quantitative and qualitative milk indicators as milk yield, somatic cell count (SCC), percentage of milk fat and protein complemented with fertility parameters service period and calving interval were analyzed in the selected dairy cows. Latent (23.6%), subclinical (13.3%) and clinical (4.6%) forms of mastitis were most common in the monitored herd. The most frequently isolated pathogens were coagulase negative staphylococci (54.1%), *S. aureus* (16.9%), *Streptococcus* spp. (15.0%), *A. viridans* (7.5%) and other bacteria (6.4%) from infected milk samples. A reduced milk yield for standardized lactation in cows with clinical and subclinical mastitis was observed, and also was noted an increase SCC in the same groups compared to healthy cows. Among milk qualitative indicators, elevated protein levels in dairy cows with clinical and subclinical form of mastitis have been reported. Decreased milk fat was only observed in dairy cows with clinical mastitis. Comparing the results obtained from fertility indicators an increased and unsatisfactory service period and calving interval in the group of dairy cows with clinical mastitis were recorded. In healthy cows as well as in groups of cows with latent and subclinical mastitis, all reproductive indicators were at optimal levels.

**Keywords:** cows; lactation; mastitis; somatic cell count; milk yield; service period

## Introduction

The economic value of dairy cows is commonly determined by their milk yield and longevity, because milk is the main source of income on dairy farms. The economic losses are mainly due to the prolongation of the service period (the number of days between the first and successful insemination) and the calving interval (the number of days between the consecutive calvings) whose nonstandard length affects of reduced milk yield during the subsequent lactation. (*Řiha and Hanuš, 2001*).

In addition to reproduction management in dairy herds, one of the important roles of farmers is to control the incidence of diseases, especially mastitis. Inflammation of the mammary gland is usually the second main cause (after fertility disorders or heavy births) of culling of cows resulting in economic losses in production farms (*Crowe et al., 2018*).

Inflammation of the mammary gland and udder tissue is a major endemic disease of dairy cattle. It usually occurs as an immune response to bacterial invasion of the teat canal by variety of bacterial sources present on the farm, and can also occur as a result of chemical, mechanical, or thermal injury to the cow's udder (*Pecka-Kielb et al., 2016*).

Disorders of the mammary gland are accompanied by an increase in somatic cell counts (SCC), changes in protein composition, salt and lactose concentrations, which usually affects milk composition and its physico-chemical and processing properties. Increased vascular permeability during mammary gland infection results in increased passage of inflammatory markers, plasma proteins and blood enzymes into milk, which may lead to proteolysis of milk proteins and increased accumulation of harmful products (*Idriss et al., 2013*).

The main contributor to the economic losses caused by mastitis is the lower milk sales due to reduced milk yield and milk withdrawal within the withdrawal period. Often due to the lack of symptoms, identification of mastitis is an essential problem for dairy farmers and veterinarians to ensure not only the animal health but also the hygienic quality of produced milk. Based on the intensity and severity of clinical signs, mastitis is usually divided into subclinical and clinical disease. In clinical mastitis (CM), signs range from mild to severe and can be systemic, local, or milk related, whereas in subclinical mastitis (SM) no signs are observed. According to the literature, the mean annual incidence of clinical mastitis in dairy cows reaches 5-30 %. A significantly higher incidence is usually reported for subclinical mastitis, and can be up to 40 times more common than the clinical illness (*Zigo et al., 2019*).

Postpartum diseases, especially mastitis, can have a major impact on milk and reproductive performance of dairy cows. Due to the symptoms is insufficient or difficult to detect estrus cycle in mastitic cows resulting in prolongation of service period and calving interval. Therefore, the aim of the work was to evaluate the occurrence of mastitis and their impact on selected milk and fertility indicators in a dairy cows' herd.

## Materials and methods

### *Cows and milking*

The study was conducted in the farm of west Slovakia with 180 dairy cows of Slovak Spotted cattle breed and their crosses with red Holstein with an average annual milk production of 7 228 kg. Cows were kept in free housing system with deep litter based on the repeated spreading of straw every second days. Cows were milked twice a day in fishbone milking parlor (DeLaval, UK) 2 × 10 stalls with standard exit and single return lane. The first milking starting at 4:30 a.m.

and the second at 4:30 p.m. The milking routine consisted from udder washing with water from hose to remove impurities. Subsequently, the udder was thoroughly wiped with disposable paper wipes. The forestripping from each quarter was hand-drawn into a dark-bottomed cup for visual assessment of milk consistency. Milking and pulsation vacuum were set at 42 kPa. Pulsation ratio was 60:40 at a rate of 52 c/min and termination was automatically signed when the milk flow dropped to 0.2 l/min. After the milking process, the teats were disinfected by teat-dipping. The milk was stored in refrigerated milk tanks at + 5 °C and removed daily around 11.30 a.m.

### ***Animal selection***

Altogether 127 animals from the 180-cow herd were involved in the study and their results were processed statistically. The monitored animals were selected based on the milk recording service and were investigated for 1-2 months after calving. Herd monitoring was carried out during one lactation period of each selected cow at the turn of 2017/18. Complex examination of each cow was performed a for mastitis detection with statistical analysis of milk indicators as milk yield, somatic cell count (SCC), percentage of milk fat and protein complemented with analysis of reproductive indicators as the service period and the calving interval during this period.

### ***Udder examination and bacteriological analyses***

A thorough evaluation of udder health in 128 selected cows included veterinary history, clinical examination, sensory analysis of milk from fore stripping of each udder quarter followed by assessment of CMT with subsequent collecting of milk samples. A mixed milk sample collect from each selected cow was inoculated onto MacConkey agar (HiMedia, India) and blood agar base (Oxoid, England) enriched with 7% defibrinated sheep blood. The inoculated plates were identified based on growth characteristics according to methodological procedures Malinowski et al. (2006). Growth-confirmed colonies of *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. and *Enterobacteriaceae* spp. were further identified biochemically using the STAPHYtest 24, STREPTOtest 24, resp. ENTEROtest 24 (Erba-Lachema, CZ) and the software TNW Pro 7.0 (Erba-Lachema, CZ).

### ***Statistical analysis***

The average values of reproductive and fertile parameters in selected cows were analyzed by Dunnett's multiple comparison test to compare mastitis groups of dairy cows with a healthy (control) group. The level of significance was set to  $P < 0.05$ .

## **Results and discussion**

Milk production is one of the basic economic indicators of cattle breeding. For this reason, the attention of dairy producers focuses on continuous increase of milk yield without adverse effects on the health of the mammary gland and reproductive indicators (Idriss et al. 2013).

The occurrence of mastitis in the monitored group of dairy cows was 43.3%. Bacterial agents of mastitis were isolated from 55 of the 127 investigated animals. The most common bacterial isolates were coagulase negative staphylococci (CNS (40%), *S. aureus* (18%), *Streptococcus* spp. (16%), *Aerococcus viridans* (12%) and other bacterial agents (14%). After a comprehensive examination, the animals were classified in the following groups: 21.2% latent, 17.4% subclinical and 4.7% clinical mastitis. Of the CNS, the most common isolates were *S. chromogenes*, *S. warneri*

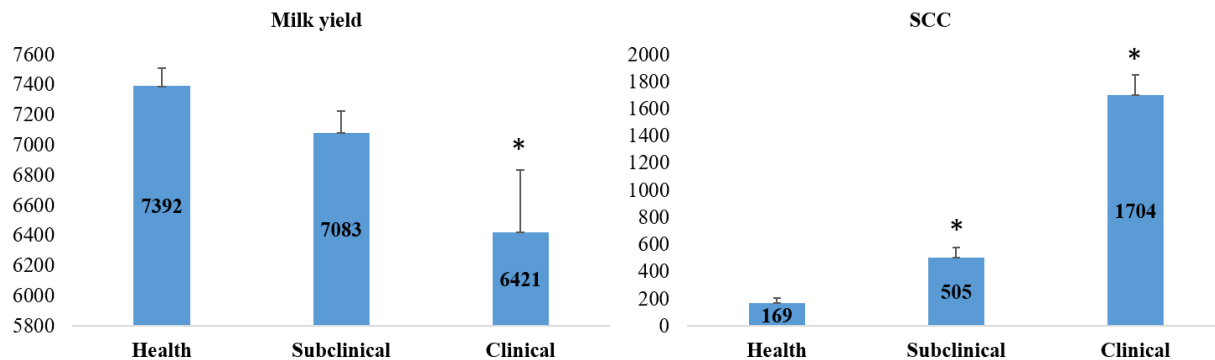
and *S. xyloso*, which occurred mainly in latent and subclinical forms. *S. aureus*, and *Str. sanquin* were most commonly isolated from clinical forms of mastitis. A similar incidence of intramammary infections was reported by Kivaria and Noordhuizen (2007), who isolated *Staphylococcus* spp in the dairy herd followed by *Streptococcus* spp., *E. coli* and *Klebsiella* spp.

CNS have been increasingly isolated on dairy farms and are reported to be the leading cause of environmental mastitis. In addition to latent and subclinical forms, CNS are often isolated also from clinical and persistent mastitis. For most farms, the prevalence and number of infected cows is unknown, these cases do not show any clinical signs and are determined only by bacteriological milk examination or by measuring the milk abnormality. The most common method of assessing milk is to determine the SCC and assess the California mastitis test (CMT) score (Taponen et al., 2006).

High SCC present in milk is the main indicator of mammary gland infection, caused by specific and non-specific microorganisms, which cause contagious and environmental mastitis. The mammary gland immune response cells acting against microbial infections are macrophages, neutrophils and other cells that rapidly enter the bloodstream of the infected quarter and cause an increase in milk SCC in dairy cows (Le Roux et al., 2003).

The results of our study showed that the mean SCC were the highest in dairy cows with clinical mastitis ( $1704 \times 10^3$ ) and the lowest in healthy cows ( $169 \times 10^3$ ) which was reflected in a positive effect on milk yield and overall milk performance (Figure 1).

**Figure 1: Milk yield (L) and SCC ( $\times 10^3$ ) in selected groups of cows**



Note: SCC – somatic cell count, \*P<0.05 – significant differences between selected groups

Malinowski et al. (2006) reported that milk samples with SCC lower than 200,000 cells/ml were mostly (59.6%) culture negative. Coagulase-negative staphylococci (CNS) and *Staph. aureus* were mostly noted in samples with 200,000 to 2,000,000 of SCC/ml. Samples having more than 2 million/ml of SCC were infected mainly with streptococci and gram-negative bacilli. Very high SCC ( $\geq 5$  million/ml) related to infections caused by *Prototheca* spp. (64.5%), yeast-like fungi (60.2%) and *Streptococcus* spp. (55.1%).

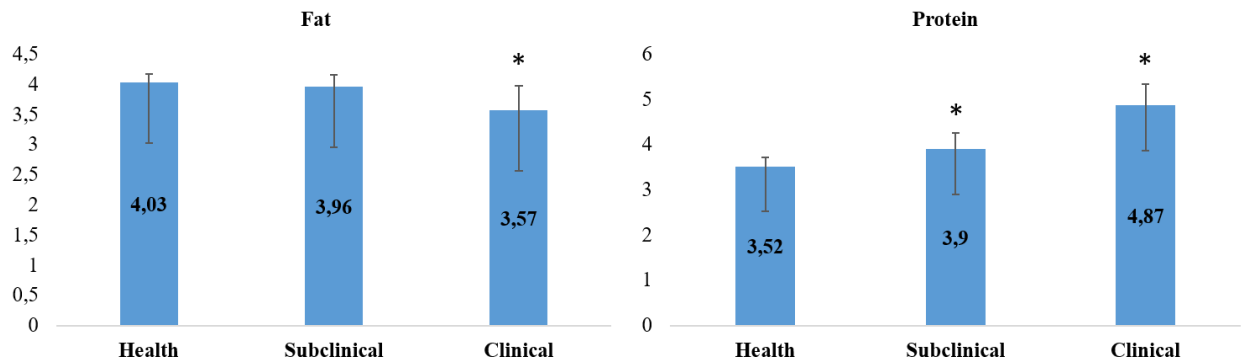
Factors that determine the biological and technological properties of milk include proteins, fat, carbohydrate content, and protein fractions, including caseins. In dairy cows with mastitis, in addition to elevated SCC, there is a change in protein and fat composition and this affects the physical and chemical properties of milk. (Pecka-Kielb et al. 2016).

In our study, the average proportion of milk fat in the investigated dairy cows ranged from 3.57 to 4.07%. In dairy cows with a clinical form of mastitis, in addition to reduced milk yield, there was a reduced milk fat content, probably related to the high serum protein transfer and increased SCC, as reflected in an increase in milk proteins compared to healthy cows (*Figure 2*).

Milk fractions, such as proteins, in milk produced by dairy cows from which the *Streptococcus* spp. were isolated have a longer coagulation time and a higher proportion of whey proteins. Also, the proportion of fats and proteins is altered due to contamination of bacterial mammary gland by pathogens and immune cells entering the site of inflammation (*Seegers et al. 2003*).

The onset of mastitis also promotes a metabolic disorder due to which fat accumulates in the liver and its content in milk is reduced. Intramammary infection results in a decreased capacity of the immune system causing depletion and reduction of the antioxidant capacity of the enzymes involved in the deactivation of reactive oxygen species (*Zigo et al. 2019*).

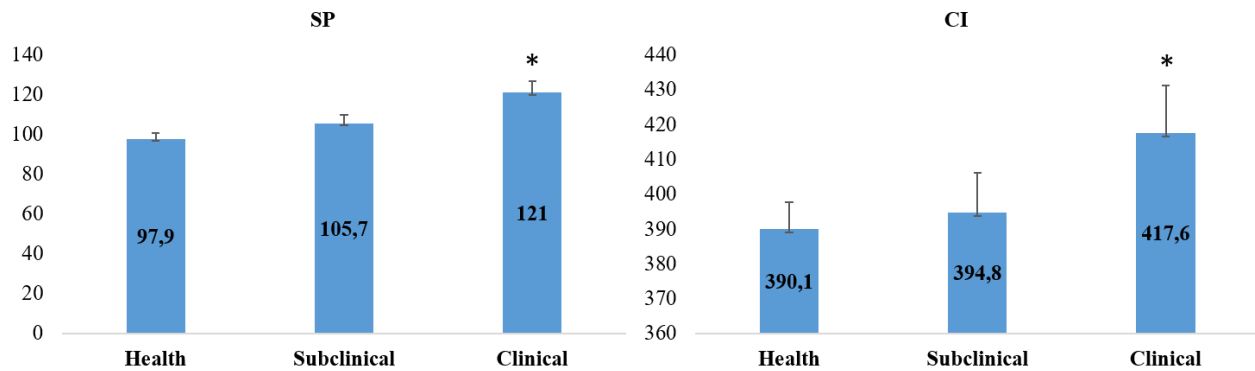
**Figure 2: Milk fat (%) and protein (%) in selected groups of cows**



\* $P < 0.05$  – significant differences between selected groups

*Olechnowicz and Jaskowski (2013)* also reported that mastitis occurring during first phase of lactation has a negative effect on the fertility. Mastitis contributes to an almost three-fold increase in pregnancy loss during the 45 days after the successful insemination. According to *Kumar et al., (2017)* the ideal service period is 85 days but may be longer in high-performance animals. The causes of service period prolongation can be found in inadequate monitoring of oestrus, especially for non-fertilized cows, but also for physiological and health reasons. For high-yield dairy cows, service period from 110 to 125 days can be tolerated, but only when the interval calving does not exceed 400 days. The results of our study showed that in dairy cows with clinical mastitis was the length of service period at the defined value (121 days) but with a significantly increased calving interval (418 days) which is considered unsatisfactory in both cases (*Figure 3*).

**Figure 3: Service period and calving interval in selected groups of cows**



Note: SP – service period, CI – calving interval, \* P<0.05 – significant differences between selected groups

Conversely, the best milk yield (7 392 kg) was found in healthy dairy cows with a service period of up to 98 days. In dairy cows with clinical mastitis in addition to increased service period, we observed excessively long calving interval which resulted in reduced milk yield (6 421 kg).

## Conclusion

Diagnosis and treatment of mastitis is very costly as it involves reduced milk yield and impaired reproductive parameters and has also a significant impact on the health of affected dairy cows. It is important to note that the effectiveness of generally established methods used to reduce environmental mastitis caused by major pathogens of the mammary gland is usually limited due to the polyetiological and multifactorial origin of the disease. Given the several factors involved in the occurrence of mastitis, economic prosperity will depend largely on the expertise and ability of business managers or dairy herds owners to introduce quickly the proposed anti-mastitis programs into their livestock management programs.

## Acknowledgements

This work was supported by Slovak projects APVV no. SK-PL-18-0088, VEGA no. 1-0529-19 and KEGA no. 006UVLF-4/2020.

## References

- Crowe, M. A., Hostens, M., Opsomer, G. (2018):* Reproductive management in dairy cows – the future. *Irish Veterinary Journal*, 71. 1.
- Idriss, S.H., Tančin, V., Foltýs, V., Kirchnerová, K., Tančinová, D., Vršková, M. (2013):* Relationship between mastitis causative pathogens and somatic cell count in milk of dairy cows. *Potravinárstvo (Food Industry)*, 7. 207–212.
- Kivaria, F.M., Noordhuizen, J.P. (2007):* A retrospective study of the aetiology and temporal distribution of bovine clinical mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region of Tanzania. *The Veterinary Journal*, 173. 617–622.

- Kumar, N., Manimaran, A., Kumaresan, A., Sakthivel, J., Sreela, L., Mooventhan, P., Sivaram, M. (2017): Mastitis effects on reproductive performance in dairy cattle: a review. *Tropical Animal Health and Production*, 49. 4. 663–673.
- Le Roux, Y., Laurent, F. Moussaoui, F. (2003): Polymorphonuclear proteolytic activity and milk composition change. *Veterinary Research*, 34. 629–645.
- Malinowski, E., Lassa, H., Kłossowska, A., Smulski, S., Markiewicz, H., Kaczmarowski, M. (2006): Etiological agents of dairy cows' mastitis in western part of Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 9. 191–194.
- Olechnowicz, J, Jaskowski, J.M. (2013): A connection between mastitis during early lactation and reproductive performance of dairy cows – a review. *Annals of Animal Science*, 13. 435–448.
- Pecka-Kielb, E., Vasil', M., Zachwieja, A., Zawadzki, W., Elečko, J., Zigo, F., Illek, J., Farkašová, Z. (2016): An effect of mammary gland infection caused by *Streptococcus uberis* on composition and physicochemical changes of cows' milk. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 19. 49–55.
- Říha, J., Hanuš, O. (2001): Important aspects of detecting the reproduction of dairy cows, Výzkum v chovu skotu, (Research in cattle breeding), 3. 12–17 (In Czech).
- Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F. (2003): Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34. 475–491.
- Taponen, S., Sijojoki, H., Haveri, M., Larsen, H.D., Pyörälä, S. (2006): Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology*, 115. 199–207.
- Zigo, F., Elečko, J., Vasil', M., Ondrašovičová, S., Farkašová, Z., Mal'ová, J., Takáč, L., Zigorová, M., Bujok, J., Pecka-Kielb, E., Timkovičová-Lacková, P. (2019): The occurrence of mastitis and its effect on malondialdehyde level and activity of antioxidant enzymes in dairy cows. *Veterinary Medicine Journal*, 64. 10. 423–32.