

Animal welfare, etológia és tartástechnológia



Animal welfare, ethology and housing systems

Volume 14

Issue 2

Gödöllő
2018



Tartalomjegyzék

<i>Kosztolányiné Szentléleki Andrea, Vertséné Zándoki Rita, Tózsér János: Újabb adatok aubrac és charolais egyedek vérmérsékletére egy hazai tenyészetben</i>	63-77
<i>Nagy Jennifer, Pál László, Rózsa László: Máriatövis felhasználási lehetőségei a gazdasági állatok takarmányozásában</i>	78-91
<i>Tokár Alexandra, Stéger Viktor, Heltai Botond, Szepesi Kinga, Debnár Viktória Johanna, Kerekes Andrea, Antal Anita, Bodó Szilárd: Előkísérletek házi méh (<i>Apis mellifera</i>) genotipizálására és spermium mélyhűtésére</i>	92-99
<i>Tóth Tamás, Kocsis Róbert, Pajor Ferenc, Póti Péter, Tózsér János: A szarvasmarha tőgyének és tőgybimbójának anatómiája és ultrahangvizsgálata</i>	100-109
<i>Tóth Tamás, Kocsis Róbert, Pajor Ferenc, Póti Péter, Tózsér János: A szarvasmarha tőgyének és tőgybimbójának ultrahangvizsgálata (Irodalmi összefoglaló)</i>	110-116

Table of contents

<i>Kosztolányiné Szentléleki Andrea, Vertséné Zándoki Rita, Tózsér János: New results on temperament of Aubrac and Charolais cattle kept in a Hungarian herd</i>	63-77
<i>Nagy Jennifer, Pál László, Rózsa László: Use of milk thistle in the feeding of farm animals</i>	78-91
<i>Tokár Alexandra, Stéger Viktor, Heltai Botond, Szepesi Kinga, Debnár Viktória Johanna, Kerekes Andrea, Antal Anita, Bodó Szilárd: Preliminary experiments for the genotyping of domestic bee (<i>Apis mellifera</i>) and sperm freezing</i>	92-99
<i>Tóth Tamás, Kocsis Róbert, Pajor Ferenc, Póti Péter, Tózsér János: Anatomy and ultrasonography of the bovine udder and teat</i>	100-109
<i>Tóth Tamás, Kocsis Róbert, Pajor Ferenc, Póti Péter, Tózsér János: Ultrasonography of the mammary gland and teat in cattle (A review)</i>	110-116

ÚJABB ADATOK AUBRAC ÉS CHAROLAIS EGYEDEK VÉRMÉRSÉKLETÉRE EGY HAZAI TENYÉSZETBEN

Kosztolányiné Szentléleki Andrea, Vertséné Zándoki Rita, Tőzsér János

Szent István Egyetem, Mezőgazdaság- és Környezettudományi Kar, Állattenyésztés-tudományi Intézet
2100 Gödöllő, Péter Károly u. 1.
Szentleleki.Andrea@mkk.szie.hu

Received – Érkezett: 25. 03. 2018.
Accepted – Elfogadva: 02.07. 2018.

Összefoglaló

Mint az állattenyésztés minden ágazatában, a szarvasmarha-tenyésztésben is egyre nagyobb szerep jut az etológiai megfigyelések alkalmazásának. Jelen vizsgálat céljai voltak a vérmérséklet időbeni változásának vizsgálata aubrac (AU) és charolais (CH) üszők esetén, valamint a fajta és az ivar hatásának értékelése a borjak temperamentum pontszámaira. A szerzők vizsgálataikat a La Garonnaise Kft. mezőnagymihályi telepén végezték. Az állatgondozó személyzet a kísérlet időszaka alatt nem változott. Az első vizsgálatban összesen 94 egyed szerepelt. A vérmérséklet pontozása három (AU: n= 5, CH: n= 18), illetve négy (AU: n= 49, CH: n= 22) alkalommal történt, a mérlegeléskor. A második vizsgálat során az aubrac (n= 64) és charolais (n= 25) borjak (n= 49 bika; n= 40 üsző) vérmérsékletét választáskor pontozták. A temperamentumot mindkét vizsgálatban 1-5 pontos skálán értékelték, a mérlegeszt előírásai szerint.

Az üszők négy mérés során megállapított vérmérsékleti pontszáma (medián: 1. és 4. alkalom 1 pont; 2. és 3. alkalom: 2 pont) szignifikánsan különbözött egymástól ($P < 0,0001$). Az adatokat fajtánként elemezve megállapították, hogy a mérésenkénti eltérések csak az aubrac fajta esetében voltak igazolhatók ($P < 0,05$), a charolais fajtánál nem. A különböző időpontokban értékelt pontszámok között szignifikáns összefüggést nem tapasztaltak. A charolais üszők nyugodtabbak voltak a 2. vizsgálatkor (medián: CH: 1 pont, AU: 2 pont; $P < 0,01$), míg a 4. vizsgálatkor idegesebbek (medián: CH: 2 pont, AU: 1 pont; $P < 0,0001$), mint aubrac társaik. Választáskor a charolais borjak bizonyultak idegesebbnek (AU: 1,91 pont, CH: 2,76 pont; $P < 0,0001$). Az ivarnak nincs szignifikáns hatása a borjak választáskori temperamentumára, sem fajtánként, sem az összes egyedet vizsgálva ($P > 0,05$). Az eredmények megerősítik, hogy a mérlegeszt alkalmas a húsmarhák temperamentumának gyors meghatározására. Megállapították, hogy érdemes foglalkozni a vérmérséklet tulajdonsággal a húsmarhák tenyésztése során, és szükségesnek tartanak további vizsgálatokat a gyakorlati munkához megfogalmazható javaslatokhoz.

Kulcsszavak: vérmérséklet, ismétlődhetőség, választás, ivar, charolais, aubrac

New results on temperament of Aubrac and Charolais cattle kept in a Hungarian herd

Abstract

As in every sector of animal breeding, application of ethological observations is getting more and more important in practical cattle farming, too. Aims of this study were the observation of

chronological changes in temperament of Aubrac (AU) and Charolais (CH) heifers and testing the effect of sex and breed on temperament scores of calves.

Experiments were carried out on the farm of La Garonnaise Ltd., Mezőnagymihály. The farming staff did not change throughout the experiments. In the first study (n= 94 animals) temperament was recorded during scalings on three (AU: n= 5, CH: n= 18) or four (AU: n= 49, CH: n= 22) subsequent occasions. In the second study, n= 64 Aubrac and n= 25 Charolais calves were scored at weaning, out of which 49 were bulls and 40 heifers. In both experiments, temperament was scored between 1-5 using the directions of scale test.

Significant differences were revealed between temperament scores given at the four weighings of heifers (median values: 1st and 4th occasions: 1 score; 2nd and 3th occasions: 2 scores; $P<0.0001$). Evaluation of the data by breeds, significant differences between subsequent scorings were observed only in Aubrac heifers ($P<0.05$), but not in Charolais. No significant rank correlations were revealed between results of the subsequent scorings. Charolais heifers were calmer at the 2nd weighing (medians: CH: 1 score, AU: 2 scores; $P<0.01$), and more nervous at the 4th weighing (medians: CH: 2 scores, AU: 1 score; $P<0.0001$), than Aubrac heifers. At weaning, Charolais calves were proven to be more nervous compared to Aubrac ones (means: AU: 1.91 scores, CH: 2.76 scores; $P<0.0001$). Effect of sex was not significant on temperament either when evaluating data of the breeds together or separately ($P>0.05$). Results confirm the easy applicability of scale test for fast evaluation of temperament in beef cattle. Authors find ethological observations important in beef cattle breeding and imply the need of further experiments to make useful practical suggestions to support efficient beef farming.

Keywords: temperament, repeatability, weaning, sex, Charolais, Aubrac

Bevezetés

Az alkalmazott etológia elméleti és gyakorlati ismereteinek egyre növekvő igénye jelentkezik az állattenyésztésben, hiszen egy állomány, illetve az egyedek viselkedésének megfigyelése, vizsgálata elengedhetetlen a gazdaságos termelés és az állatok jólléte szempontjából. A nagyüzemek kialakítása és az intenzív technológiák bevezetése, a szarvasmarhákban gyakran kedvezőtlen élettani és viselkedésszerű reakciókat kelt, így a jóllétre és a termelésre is hátrányosan hat. A megváltozott környezethez ugyanis az állatok nem minden esetben, és nem azonos mértékben képesek alkalmazkodni szabályozó rendszereik segítségével (viselkedés, élettani folyamatok), ezek a környezeti hatások pedig hosszú távon stresszorként hatnak (Jurkovich és mtsai, 2012). Azon állatok esetében, amelyek nehezen alkalmazkodnak egy-egy környezeti tényezőhöz, a kihívásokra adott reakció több energiát és időt von el a termeléstől (Jurkovich és mtsai, 2012). A megfelelő állatjóllét egyes feltételeit – úgymint a szakszerű tartástechnológia és munkaműveletek megvalósítása, valamint kíméletes emberi bánásmód –, tehát a kezelések során fellépő stresszhatások csökkentése érdekében szükséges biztosítani.

Azt, hogy az állatok hogyan reagálnak különféle stresszhatásokra, korábbi tapasztalatuk és idegrendszerük érzékenysége határozza meg, mely összefüggésben van a vérmérsékletükkel. A környezet különböző ingereire (pl. emberi bánásmód, tartástechnológia) adott válaszreakció jellegét, erősségét a vérmérséklet tulajdonsággal mérik, amely a szarvasmarhák személyiségét tükrözi (Phillips, 2002). A tehén vérmérséklete a tartási környezet különböző műveleteitől való félelmét tükrözi (Boissy és Boissou, 1995).

A szarvasmarhák vérmérséklete összefüggésben van azok kezelhetőségével, így a veszélyességükkel, a tej- és hústermelő képességükkel, valamint a jóllétükkel. A nyugodt,

megfelelő komfortérzetű állatok könnyen (*Fordyce és mtsai*, 1988), míg az ideges vérmérsékletű állatok nehezen kezelhetőek, így gondot jelent bármilyen kezelést végrehajtani rajtuk (*Rushen és mtsai*, 1999). Arról nem is beszélve, hogy viselkedésükkel társaikat is izgatottá teszik (*Grandin*, 2015). Ezen kívül veszélyt jelentenek saját magukra, a gondozókra és a technológiai berendezésekre is. Ez különösen az extenzíven tartott húsmarhák esetében igaz. Irodalmak szerint az ideges állatok esetében a hizlalás során kisebb súlygyarapodás érhető el, és romlik a hús minősége is (*McDonald*, 2003).

A húshasznosítású anyatehéntartásban az egyetlen termék, a választott borjú eladása jelenti a bevételt a gazdák számára. Mivel ez egy tehénre vetítve alacsony árbevételt jelent, a húshasznosítású tehéntartás gazdaságosságának feltétele az olcsó tartási és takarmányozási módszerek alkalmazása, a minél jobb borjúszaporulat, a borjak nagyobb súlygyarapodása és nagyobb választási súlya, valamint a kiváló minőségű hízóalapanyag előállítás (Várhegyi és Várhegyi, 2006). A húshasznosítású szarvasmarhák vérmérsékletének megismerésével növelhető lenne a hizlalás alatti súlygyarapodás, elkerülhetők lennének a sérülések, valamint a rossz húsminőség, ezáltal nagyobb bevétel várható.

Irodalmi áttekintés

A vérmérséklet ismétlődhetősége

Hearnshaw és Morris (1984) a vérmérséklet ismétlődhetőségét vizsgálta szorító tesztben, az 1977-ben és 1978-ban született egyedeken. Az első évben 62 üszőborjú viselkedését értékelték 8 és 22 hónapos korban. Az ismétlődhetőség $0,37 \pm 0,13$ volt. A második évben 70 üszőborjút 8 és 10 hónapos korban pontozva, $0,49 \pm 0,12$ értéket számítottak. A két év alatt, az összes borjú ismétlődhetősége $0,43 \pm 0,09$ volt. *Fordyce és Goddard* (1984) hasonlóan közepes ismétlődhetőségről számoltak be tehenek zárt kezelőállásban végzett temperamentum értékelése során (szorító teszt). Később *Fisher és mtsai* (2000) is megerősítették ezeket az eredményeket. A legelőn és a kifutóban mért menekülési távolságot hasonlították össze 134 üsző és 137 tinó felhasználásával, 1 hónapon belül 3 alkalommal. Az eredmények azt mutatták, hogy a kifutóban mért távolság ismétlődhetőségi együtthatója ($r = 0,51 \pm 0,03$) magasabb, mint a legelőn mért távolságé ($r = 0,36 \pm 0,04$). Következésképpen a kifutóban mért menekülési távolság megbízhatóbban fejezi ki az állatok emberi bánásmódra adott válaszát. *Grandin* (1993) bikák vérmérsékletét zárt kezelőállásban pontozta 4 alkalommal 30 napos időközönként. Azt tapasztalta, hogy a legnyugodtabb és a legidegesebb egyedek temperamentum értékei az idővel állandóak maradtak, ugyanakkor az egyedek nagy százalékában az időben változó pontszám volt megfigyelhető. Ezért a háromszori pontozást javasolja az állatok temperamentumának minél pontosabb meghatározása érdekében. *Burrow és Corbet* (2000) a megfigyeléseket húsmarhák esetében 6, 12 és 18 hónapos korban javasolja elvégezni, a hatékonyabb szelekció céljából. *Tózsér és mtsai* (2004a) 30 angus bikaborjú és 27 magyar merinó kosbárány viselkedését értékelték 2 alkalommal, a mérlegteszt segítségével. A bikaborjak 8 és 13 hónapos korban megállapított temperamentum pontszámai között $0,57$ -es szorosságú összefüggést tapasztaltak. A kosbárányok esetében, az 55 és 115 napos korban mért pontszámok közötti korrelációs együttható $0,60$ volt. Hasonló szerzőcsoport (*Tózsér és mtsai*, 2005a) magyar szürke és holstein-fríz hízóbikák temperamentumának változását figyelték meg. A 28 nap különbséggel értékelt vérmérsékleti pontszámok között a magyar szürke bikák esetében $0,76$ -os, holstein-fríz társaiknál pedig $0,47$ -es szorosságú korrelációt találtak. *Curley és mtsai* (2006) brahman bikákban igazolták a temperamentum objektív meghatározására szolgáló menekülési sebesség ismétlődhetőségét ($r = 0,47$ és $r = 0,30$), háromszori mérésük során. Egy újabb kutatás szerint (*Turner és mtsai*, 2013) 6

év feletti limousin keresztezett anyatehenek ellés előtti temperamentum pontszáma mutatott állandóságot a vizsgálat két éve alatt.

Az irodalmak alapján elmondható, hogy általában közepes ismételhetőség jellemzi az eltérő ivarú és életkorú szarvasmarhák temperamentumát, eltérő módszerrel meghatározva.

A vérmérsékletet befolyásoló néhány tényező

Több olyan tényező ismeretes, amely különböző mértékben befolyásolja a vérmérsékletet. Hazánkban korábban *Czakó* (1978), valamint *Tózsér és mtsai* (2003a, c, 2004b), újabban *Orbán és mtsai* (2011) és *Gulyás és mtsai* (2013) is vizsgálták a szarvasmarhák temperamentumának és bizonyos tulajdonságok összefüggéseit. E cikk keretében két tényező hatását mutatjuk be.

Fajta

A különböző szarvasmarhafajták vérmérséklete jelentősen eltér egymástól, amelyet számos tanulmány alátámaszt. Az irodalmakban azonban leginkább a húsmarha fajták temperamentumbeli különbségéről találunk adatokat.

Morris és mtsai (1994) angus és hereford fajták temperamentumát értékelték az állatok mérlegelésekor. Igazolták a fajták közötti eltérést; az angus ugyanis nyugtalanabb volt, a herefordhoz képest. *Gauly és mtsai* (2001) ugyanakkor a német angust nyugodtabbnak találták a német szimentálihoz képest, fiatal borjú korukban elvégzett kötött tesztekben. *Voisinet és mtsai* (1997) a braford, szimentáli x red angus, red brangus, simbrah, amerikai angus és tarantaise x angus genotípus csoportok vérmérsékletét hasonlították össze. A pontozást 1-től 5-ig terjedő skálán (1 pont: nyugodt, mozdulatlan, 5 pont: agresszív mozgás) végezték a rendszeres mérlegeléskor, illetve állománykezeléskor. A brahman génekkel rendelkező egyedek magasabb pontszámokat kaptak (átlagpontszám: 3,4), azaz idegesebbek voltak, mint a brahman génekkel nem rendelkező egyedek (átlagpontszám: 1,8). *Fordyce és mtsai* (1985) korábban szintén megállapították, hogy a brahman géneket hordozó marhák nehezebben kezelhetőek az európai szarvasmarhákhoz képest. *Stricklin és mtsai* (1980) felvezető folyosóban végzett kötött tesztekben vizsgálták a különböző genetikai csoportok temperamentumát. A pontozás alapján arra a következtetésre jutottak, hogy a brit fajták közül a galloway fajta a legnyugtalanabb, a hereford pedig a legnyugodtabb. A fajtákon belül a bikák között szignifikáns egyedi eltéréseket mutattak ki. *Tózsér és mtsai* (2004b, 2005b) a mérlegtesztet és a menekülési idő mérését alkalmazták a magyar szürke és charolais tinók vérmérsékletének összehasonlítására. Mindkét módszerrel kimutatták, hogy a magyar szürke egyedek békésebbek (átlagpontszám: 1,37, átlagidő: 4,81 sec.), mint charolais társaik (átlagpontszám: 2, átlagidő: 2,71 sec.). *Holló és mtsai* (2004) azonban azonos körülmények között nevelt holstein-fríz és magyar szürke hízóbikák temperamentuma között nem találtak igazolható eltérést. *Orbán és mtsai* (2011) jersey és holstein-fríz fajtákban értékelték a temperamentumot a reggeli fejés előtt, mérlegeléskor. A fajták között eltérés mutatkozott a viselkedésükben, a jersey tehenek ugyanis nyugodtabbak voltak, mint a holstein-fríz tehenek. *Gergovska és mtsai* (2012) holstein-fríz és brown swiss fajtájú tehenek fejési vérmérsékletét hasonlították össze 1-5-ig terjedő skálán. A vérmérséklet pontozása során a holstein-fríz tehenek (3,74) magasabb pontszámot kaptak, mint brown swiss társaik (3,65); ez a különbség azonban statisztikailag nem volt igazolható. A holstein-fríz tehenek nyugodtabb vérmérsékletét a norvég vörös fajtával szemben mutatták ki az első laktációban, azonban a második ellés után már nem volt hatással a fajta a fejési temperamentumra (*Ferris és mtsai*, 2014).

Ivar

Az állatok temperamentumára bizonyítottan az ivar is hatással van. A legtöbb tanulmányban – pontozási rendszerektől függetlenül – az üszők mindig nyugtalanabbak voltak hímivarú és ivartalanított társaikhoz képest (*Stricklin és mtsai*, 1980, *Voisinet és mtsai*, 1997, *Gauly és mtsai*, 2001, *Williams és mtsai*, 2016).

Staikov (1996) bolgár szimentáli bikaborjakkal végzett vizsgálatában a korábbi ivartalanítás vérmérsékletre gyakorolt hatását értékelte. Megfigyelte, hogy a félig, illetve a teljesen ivartalanított borjak nyugodtabbak voltak (4-7%-kal kevesebbet mozogtak, agresszív megnyilvánulásokat nem mutattak, valamint 3-17%-kal többet feküdtek és ettek), mint azok a társaik, amelyeken nem végezték el a beavatkozást. *Tózsér és mtsai* (2003b) charolais bika- és üszőborjak menekülési időértékeit egyéves korban hasonlították össze. Megállapították, hogy az üszőborjak idegesebbek voltak a bikaborjaknál (bika: 2,67 mp, üsző: 2,28 mp). Ezt *Hoppe és mtsai* (2010) is megerősítették, különböző fajtájú, 5-11 hónapos húshasznosítású borjak vérmérsékletét pontozással és a menekülési sebességgel értékelve is. A legújabb kutatásból (*Williams és mtsai*, 2016) is az derül ki, hogy a hízóüszők idegesebb vérmérséklettel jellemezhetők, mint a tinók. A vizsgálatban az üszők esetében nagyobb menekülési sebességet mértek, a tinókhoz viszonyítva. *Burrow és mtsai* (1988) a menekülési idő mérését alkalmazták a bika- és üszőborjak vérmérsékletének összevetésére. Választási korban nem tapasztaltak különbséget a két ivar között, azonban 18 hónaposan a bikák nyugodtabbnak bizonyultak, mint nőivarú társaik. Ezt támasztja alá *Burdick és mtsai* (2011) vizsgálatai is, mely során nem tudták igazolni az ivar hatását bikák és üszők menekülési sebességére, választási korban.

Vizsgálatunk célja volt a vérmérséklet időbeni változásának, azaz állandóságának megfigyelése – módszertani szempontok tisztázása érdekében –, valamint a fajta és az ivar hatásának vizsgálata a vérmérsékletre, charolais és aubrac fajtájú állományokban.

Anyag és módszer

A vizsgálat helyszíne

A húshasznosítású tenyészetben, az olasz tulajdonban lévő La Garonnaise Kft. mezőnagymihályi telepén, charolais és aubrac anyatehenek tenyésztésével foglalkoznak. Az állatok tartására jellemző, hogy a nyári időszakban, a választás időpontjáig a Kis-Hortobágyon található, mintegy 100 hektáros legelőn, szakaszosan legeltették együtt a charolais és aubrac anyateheneket, míg a téli periódusban csoportosan, nyitott, kifutóval rendelkező mélyalmos istállóban tartották őket (*1. kép*). A 210-220 napig tartó legeltetési időszakban, a legeltetés villanypásztorral körülhatárolt legelőszakaszokon, egy gulyás és jól idomított terelőkutyái segítségével történt. A charolais és aubrac borjak is választásig együtt, az anyjukkal tartózkodtak a legelőn, és a felnevelési időszakban, az ún. borjúóvodákban étvágy szerint juthattak abrakhoz (naponta átlagosan 0,5 kg abrakot kaptak). A kísérlet alatt ugyanazon személyek gondozták az egész állományt.

1. kép: Aubrac üszők a kis-hortobágyi legelőn



Fotó: Szentléleki Andrea

Picture 1: Aubrac heifers on Kis-Hortobágy pasture

A vizsgálatokban szereplő állatok és az adatgyűjtés jellemzői

Az első vizsgálatban összesen 94 szarvasmarha szerepelt, amelyből 54 aubrac és 40 charolais üsző volt. A vérmérséklet értékelését három (aubrac: $n=5$, charolais: $n=18$ esetében), illetve négy (aubrac: $n=49$, charolais: $n=22$ esetében) alkalommal végeztük el, a mérlegelésekkel egyidőben.

Az állatok mérésenkénti életkorát és élősúlyát az 1. táblázatban foglaltuk össze. Az első három mérés az állatok növendéküsző korában, míg az utolsó tehén korukban, borjaik választásakor történt. Az egyedszám mérésenkénti változásának oka, hogy a 2. méréskor újabb egyedek kerültek mérlegelésre, míg az utolsó mérésre bizonyos egyedek kikerültek az állományból.

A második vizsgálatban egy adott év február, március és április hónapjaiban született, valamint szeptember végén elválasztott aubrac és charolais borjak választási teljesítményére terjedt ki. A vizsgálatban összesen 89 borjú vett részt, ebből 64 aubrac, 25 charolais volt, az ivar szerint pedig 49 bika és 40 üsző.

Burdick és mtsai (2011) számoltak be arról, hogy a legtöbb kutatásban a húsmarhák temperamentumát választáskor határozták meg, és vizsgálták annak hatását a választás előtti és utáni időszakot illetően. Ezért vizsgálatunkban is választáskor értékeltük a borjak vérmérsékletét, mérlegesttel. Az állatok súlyát pedig elektronikus mérleggel (TRU-TEST SR2000) mértük.

A munkaműveletre a borjakat kisebb csoportokban hajtották fel, fajtára és ivarra való tekintet nélkül. Az állatokat egy szorítófolyosóban elhelyezett mobil mérlegre terelték, majd ott azokat előlről és hátulról is bezárták, hogy ne tudjanak elmenekülni. Választáskor az eltérő fajtájú és ivarú borjak különböző életkorúak voltak (választási életkor: aubrac: bika: $194,28 \pm 26,53$ nap, üsző: $193,29 \pm 20,42$ nap; charolais: bika: $171,31 \pm 16,13$ nap, üsző: $180,75 \pm 12,35$ nap).

1. táblázat: Az aubrac és charolais egyedek életkora és élősúlya mérésenként (átlag±SD)

Fajta(1)	Jellemző(2)	1. mérés (1. év december közepé)(3)	2. mérés (2. év április vége)(4)	3. mérés (2. év május vége)(5)	4. mérés (3. év szeptember vége)(6)
	Egyedszám(7)	54	54	54	49
Aubrac	Életkor (hónap)(8)	21,49±1,18	25,90±1,18	26,55±1,18	42,82±1,20
	Élősúly (kg)(9)	415,46±44,31	468,51±51,10	451,77±47,26	475,95±47,14
	Egyedszám(7)	28	40	40	34
Charolais	Életkor (hónap)(8)	22,83±2,49	27,08±2,47	27,77±2,47	43,86±2,45
	Élősúly (kg)(9)	362,85±35,02	421,75±37,69	412,38±36,44	469,17±45,80

Table 1: Age and body weight of Aubrac and Charolais heifers by weighings (mean±sd)

(1)breed, (2)variable, (3)1st scaling (1st year middle of December), (4)2nd scaling (2nd year end of April), (5)3rd scaling (2nd year end of May), (6)4th scaling (3rd year end of September), (7)number of individuals, (8)age (months), (9)weight (kg)

A temperamentum meghatározására a mérlegtesztet alkalmaztuk, mindkét vizsgálat esetében. Az állatoknak 30 másodpercig kellett a mérlegen tartózkodniuk, mialatt a viselkedésüket pontoztuk 1-től 5-ig terjedő skálán (*Grandin, 1993, Trillat és mtsai, 2000*) (2. táblázat). Egy korábbi vizsgálatunkban már beszámoltunk arról (*Szentléleki és mtsai, 2006*), hogy bár ez a teszt is szubjektív értékelésnek minősül, mégis könnyen megtanulható és alkalmazható a gyakorlatban, mivel három független bíráló szinte megegyezően pontozta a magyar tarka borjak viselkedését ($r_{rang} = 0,73-1,00$; $P < 0,0001$). Ugyanezt *Tózsér és mtsai (2004b)* munkája is alátámasztja. Három, illetve négy pontozó eredménye között közepesen szoros, illetve szoros ($r_{rang} = 0,56-0,90$; $P < 0,001$) összefüggéseket mutattak ki, holstein-fríz tehének és angus bikák temperamentumának értékelése során.

2. táblázat: A mérlegteszt pontozási rendszerének leírása

Pontszám(1)	Viselkedés leírása(2)
1	nyugodt, nem mozog(3)
2	nyugodt, néhány esetleges mozgás(4)
3	nyugodt, kicsit több mozgás, de nem rázza a mérleget(5)
4	hirtelen, alkalmoszerű mozgások, de nem rázza a mérleget(6)
5	folyamatos hirtelen mozgások, rázza a mérleget(7)

Table 2: Description of scale test

(1)score, (2)description of behaviour, (3)calm, without moving, (4)calm, rare movements, (5)calm, regular movements without shaking the scale, (6)sudden, episodic movements, without shaking the scale, (7)continuous movements, shaking the scale

Alkalmazott statisztikai módszerek

Az adatok statisztikai feldolgozását az SPSS STATISTICS 22.0 programmal végeztük. A vizsgálatok során alkalmazott statisztikai próbákat a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: Az elvégzett vizsgálatok statisztikai próbái és jellemzői

Vizsgálatok(1)	Alkalmazott statisztikai próba(2)	Alkalmazott statisztikai próba jellemzői(3)
Vérmérséklet időbeni változásának vizsgálata, a két fajta esetében(4)	Friedman teszt, Wilcoxon teszt, Spearman-féle rangkorreláció számítás(5)	diszkrét változók esetén, több minta összehasonlítása, páronkénti összehasonlítás, összefüggés-vizsgálat(6)
Fajta és ivar hatása a vérmérsékletre(7)	Mann-Whitney teszt(8)	diszkrét változók esetén, két független minta összehasonlítása(9)

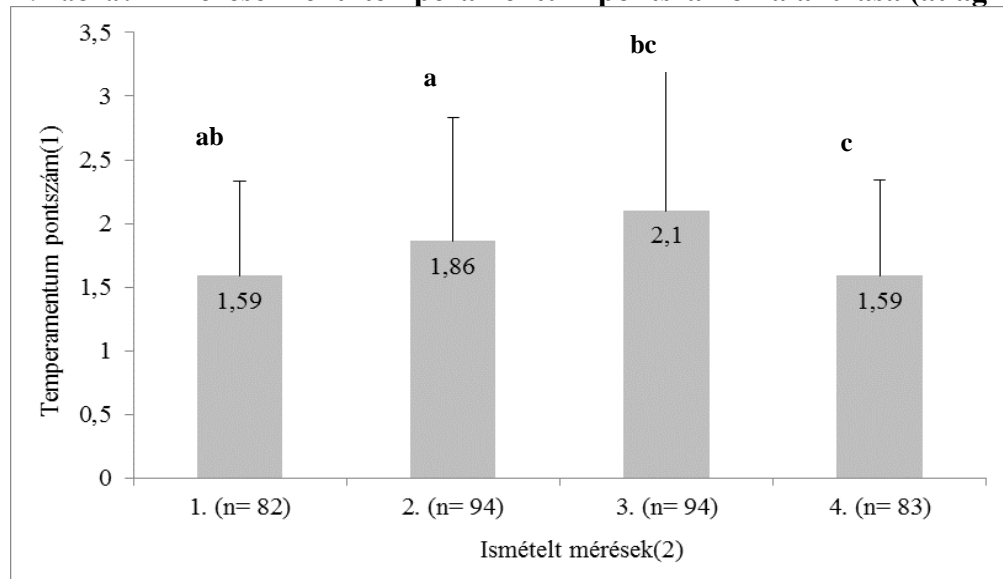
Table 3: Statistic tests applied in the evaluation and their characteristics

(1)evaluations, (2)name of tests, (3)characteristics of tests, (4)change of temperament in 2 breeds, (5)Friedman test, Wilcoxon test, Spearman rank correlation, (6)discret variables, comparison of more samples, paired comparisons, correlation, (7)effect of breed and sex on temperament, (8)Mann Whitney test, (9)discret variables, comparison of two independent samples

Eredmények és értékelésük

A vérmérséklet időbeni változásának vizsgálata

Az aubrac és charolais üszők vérmérsékletét négy mérés során határoztuk meg. A vizsgálatonként megállapított vérmérsékleti pontszámok átlag- és szórásértékét az 1. ábrán szemléltetjük. Az első és utolsó vizsgálat során feljegyzett temperamentum pontszámok átlagértékei azonosak (1,59 pont), míg a második és harmadik méréskor az előbbieknél jelentősen nagyobbak (1,86 és 2,1 pont) voltak. Ez az eltérés a pontszámok medián értékeiben is megmutatkozik; míg az 1. és 4. vizsgálatkor 1 pont volt, addig a 2. és 3. méréskor 2 pont. Mindegyik alkalommal volt olyan egyed, amelyik teljesen nyugodt (1 pont), illetve nagyon ideges (4, illetve 5 pont) volt.

1. ábra: A mérésekénti temperamentum pontszámok alakulása (átlag±SD)

Az azonos betűjelölésű (a, b, c) adatok között szignifikáns különbség van ($P < 0,05$).

Figure 1: Temperament scores by scalings (mean±sd)

(1)temperament score, (2)repeated mesasurements

The same letters (a, b, c) between coloumns sign significant differences ($P < 0,05$).

A Friedman teszt szerint a négy mérés során megállapított vérmérsékleti pontszám szignifikánsan különbözik egymástól ($\text{Chi}^2 = 19,53$, $\text{df} = 3$, $P < 0,0001$). A Wilcoxon teszttel a mérési adatokat páronként is összevetettük. Az eredmény azt mutatta, hogy az 1-2., az 1-3. és a 3-4. méréskor meghatározott temperamentum pontszámok között statisztikailag igazolható eltérés van (1-2. mérés: $Z = -2,53$, $P < 0,05$, 1-3. mérés: $Z = -3,76$, $P < 0,0001$, 3-4. mérés: $Z = -3,71$, $P < 0,0001$), míg a többi méréspárban ez nem igazolódott (1-4. mérés: $Z = -0,79$, $P > 0,05$, 2-3. mérés: $Z = -1,74$, $P > 0,05$, 2-4. mérés: $Z = -1,48$, $P > 0,05$) (1. ábra).

Amennyiben fajtánként elemeztük az adatokat, arra az eredményre jutottunk, hogy az aubrac üszők temperamentumának négy mérése között statisztikailag igazolható különbség van ($P < 0,0001$). A Wilcoxon teszt páronkénti összevetése szerint, egyedül a 2. és 3. mérés vérmérsékleti pontszáma között nincs eltérés ($Z = -0,64$, $P > 0,05$), a többi méréspárban szignifikánsan különböznek a temperamentum értékek (1-2. mérés: $Z = -2,40$, $P < 0,05$, 3-4. mérés: $Z = -4,09$, $P < 0,0001$, 1-4. mérés: $Z = -2,39$, $P < 0,05$, 2-4. mérés: $Z = -4,02$, $P < 0,0001$, 1-3. mérés: $Z = -2,40$, $P < 0,05$) (4. táblázat). Az aubrac üszők a legidegeesebbek a 2. és 3. vizsgálatkor voltak, míg a legnyugodtabbak az utolsó mérésnél. A charolais üszők vérmérsékleti pontszáma ezzel szemben nem különbözött a négy mérés során ($P > 0,05$) (4. táblázat).

4. táblázat: A húshasznosítású fajták vérmérsékleti pontszámának jellemzői a mérések szerint

Fajta(1)	Alap-statisztikai jellemzők(2)	1. mérés(3)	2. mérés(4)	3. mérés(5)	4. mérés(6)	Chi ² -érték(7)
	n	54	54	54	49	
	Átlag±SD(8)	1,65±0,81^{ab}	2,11±1,08^a	2,00±0,99^b	1,33±0,52^{ab}	
Aubrac	Medián(9)	1,5	2	2	1	24,32****
	Minimum	1	1	1	1	
	Maximum	5	5	5	3	
	n	28	40	40	34	
	Átlag±SD(8)	1,46±0,58	1,53±0,68	2,23±1,23	1,97±0,87	
Charolais	Medián(9)	1	1	2	2	7,74
	Minimum	1	1	1	1	
	Maximum	3	3	5	4	
U-érték(10)		679,00	743,00**	995,00	484,5****	

Az azonos betűjelölésű (a, b) adatok között szignifikáns különbség van (P<0,05).

*= P<0,05, **= P<0,01, ***= P<0,001, ****= P<0,0001

Table 4: Temperament scores of the two breeds by scalings

(1)breed, (2)descriptive statistic traits, (3)1st scaling, (4)2nd scaling, (5)3rd scaling, (6)4th scaling, (7)Chi-square, (8)mean±sd, (9)median, (10)Mann-Whitney U value

The same letters (a, b) within line sign significant differences (P<0.05).

A négy vizsgálat alatt meghatározott vérmérsékleti pontszámok között szignifikáns összefüggést nem igazoltunk (P>0,05). A korrelációs együtthatók igen kis értékűek voltak [$r_{rang} = (-0,01)-(0,21)$], némelyik összefüggés szinte nullának tekinthető. Ugyanezt tapasztaltuk az aubrac üszők esetében is. A korrelációs együtthatók -0,03 és 0,21 (P>0,05) között alakultak. Charolais üszők mérésenkénti temperamentumát elemezve, szintén nem tudtunk statisztikailag igazolható összefüggéseket kimutatni a vizsgálatok között ($r_{rang} = 0,06-0,27$, P>0,05).

Az eredmények azt mutatják, hogy az ismételt mérések eredményei között nincs összefüggés. Habár a charolais üszők temperamentum pontszámai között nem volt különbség, szignifikáns kapcsolatot mégsem igazoltunk közöttük. Az eredményeinknél nagyobb, szignifikáns korrelációs értékeket számított több kutató is, a szarvasmarhák temperamentumának ismételt vizsgálatai során (Hearnshaw és Morris, 1984, Fordyce és Goddard, 1984). Közepes ismételtőltségről ($r = 0,37-0,49$) számoltak be borjak és tehének ismételt vérmérsékleti pontszámai között. Tózsér és mtsai (2004a, 2005a) szorosabb összefüggést mutattak ki ($r = 0,47-0,76$), angus bikaborjak és magyar szürke, valamint holstein-fríz hízóbikák vérmérsékletét kétszer értékelve. Turner és mtsai (2013) 6 év feletti limousin keresztezett anyatehenek ellés előtti temperamentumát találták állandónak a vizsgálat két éve alatt. Grandin (1993) azt figyelte meg, hogy míg a legnyugodtabb és a legidegesebb állatok temperamentum pontszámai állandóak maradtak az ismételt vizsgálatok során, addig a többségnek változóak voltak a pontszámai. Esetünkben a legtöbb üsző viselkedése változott az egyes vizsgálatokban, ezért nem tekinthető azonosnak a négy ismételt vérmérsékleti pontszám, egyik fajta esetében sem. Grandin (1993),

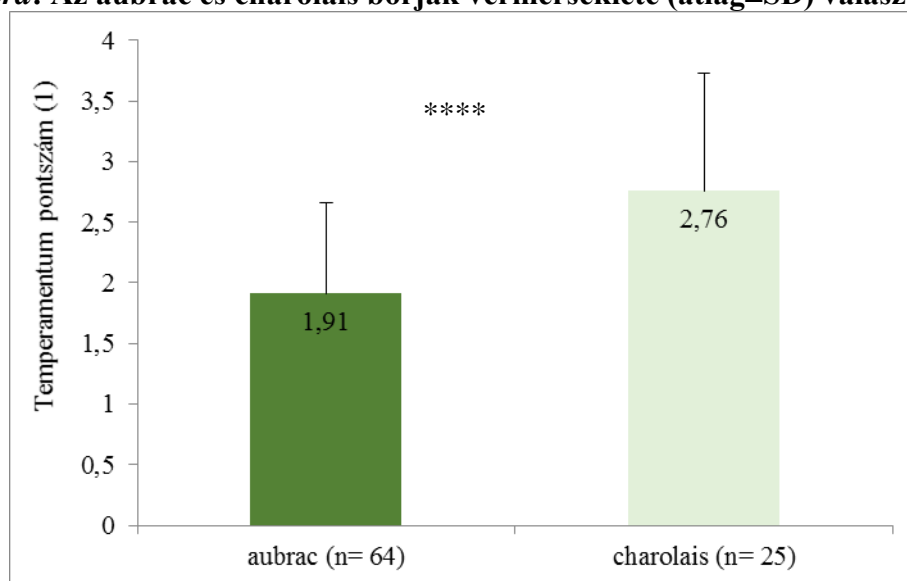
valamint *Burrow és Corbet* (2000) is a háromszori temperamentum mérésre hívja fel a figyelmet, a húsmarhák vérmérsékletének pontos meghatározása érdekében.

A fajta és az ivar hatása a vérmérsékletre

A fajták közötti vérmérsékletbeli különbséget az üszők és borjaik esetében is megvizsgáltuk. Az aubrac és charolais üszők vérmérsékleti pontszáma között szignifikáns különbség nem mutatkozott az 1. és a 3. mérés során, ellenben a 2. és a 4. mérésnél statisztikailag különbözött az aubrac és charolais üszők vérmérsékleti pontszáma ($P < 0,01$ és $P < 0,0001$) (4. táblázat). A 2. vizsgálatkor a charolais üszők voltak a nyugodtabbak, míg a 4. vizsgálatkor az aubrac fajtájú társaik.

Az aubrac és charolais borjak választási viselkedését összevetve, azt tapasztaltuk, hogy szignifikánsan különbözött a két fajta vérmérséklete választáskor ($U = 402,0$, $P < 0,0001$) (2. ábra). A charolais borjak nyugtalanabbak voltak, aubrac társaikhoz képest.

2. ábra: Az aubrac és charolais borjak vérmérséklete (átlag \pm SD) választáskor



****= $P < 0,0001$

*Figure 2: Temperament scores of Aubrac and Charolais calves at weaning (mean \pm sd)
(1) temperament score*

Az ivar hatását vizsgálva, nem mutattuk ki különbséget az üsző- és bikaborjak választási temperamentumában ($P > 0,05$). Amennyiben fajtánként elemeztük ugyanezt, szintén arra jutottunk, hogy sem az aubrac, sem a charolais fajtában nem befolyásolta az ivar a vérmérsékletet ($P > 0,05$) (5. táblázat).

5. táblázat: A választáskori temperamentum (átlag±SD) ivar és fajta szerint

Ivar(1)	Választási vérmérséklet (pont)(2)		
	aubrac	charolais	összesen(3)
Üsző(4)	1,93±0,77	2,42±0,67	2,08±0,76
n	28	12	40
Bika(5)	1,89±0,75	3,08±1,12	2,20±1,00
n	36	13	49
U-érték(6)	491,0	49,0	944,5

Table 5: Temperament at weaning by breeds and sexes (mean±sd)

(1)sex, (2) temperament scores at weaning, (3)altogether, (4)heifers, (5)bulls, (6)Mann-Whitney U value

Az eredmények alapján elmondható, hogy üszők esetében nem egyértelmű a fajták közötti különbség a temperamentumban, egyik fajta javára sem. *Holló és mtsai* (2004) sem találtak különbséget az azonos körülmények között nevelt holstein-fríz és magyar szürke hízóbikák vérmérséklete között. Ugyanakkor vizsgálatunkban, a charolais és aubrac borjak vérmérséklete különbözött a választáskor: az aubrac borjak nyugodtabbak voltak. A különböző húsmarha fajták eltérő temperamentumát több kutató is kimutatta (*Morris és mtsai*, 1994, *Voisinet és mtsai*, 1997, *Gauly és mtsai*, 2001, *Tőzsér és mtsai*, 2004b, 2005b). Megállapították, hogy az angus nyugtalanabb, a herefordhoz képest, ugyanakkor a német angus nyugodtabb a német szimentáli fajtával szemben. A brahman génekkel rendelkező egyedeket idegesebbeknek találták, mint a brahman génekkel nem rendelkező egyedeket. Továbbá, a magyar szürke tinókról azt tapasztalták, hogy nyugodtabbak, mint charolais társaik.

Vizsgálatunkban az ivar nem volt hatással a borjak választási temperamentumára, egyik fajtában sem. Ezt *Burrow és mtsai* (1988), valamint *Burdick és mtsai* (2011) eredményei is megerősítik. Esetünkben, a bika- és üszőborjak menekülési idővel kifejezett vérmérséklete között nem találtak különbséget választási korban. Ugyanakkor idősebb életkorban (egy éves kortól) elvégzett temperamentum vizsgálatokból az derül ki, hogy az üszők idegesebbek hímivarú és ivartalanított társaikhoz képest (*Burrow és mtsai*, 1988, *Voisinet és mtsai*, 1997, *Tőzsér és mtsai*, 2003b, *Hoppe és mtsai*, 2010, *Williams és mtsai*, 2016).

Következtetések és javaslatok

A kutatás során megerősítettük, hogy a mérlegteszt alkalmas a húsmarhák temperamentumának meghatározására. A teszt egyszerűen és gyorsan kivitelezhető a mérlegeléssel egyidőben, a pontozási skála ugyanis könnyen megtanulható és alkalmazható.

Az eredmények alapján megállapítható, hogy a vizsgálat közel két éve alatt nem mutatott állandóságot sem az aubrac, sem a charolais üszők vérmérséklete a mérlegteszttel meghatározva. Ez az eredmény ellentmond a mások által tapasztaltakkal (*Hearnshaw és Morris*, 1984, *Fordyce és Goddard*, 1984, *Tőzsér és mtsai*, 2004a, 2005a, *Turner és mtsai*, 2013), ugyanakkor meg kell jegyezni, hogy ők leginkább borjú korban, illetve idősebb teheneken értékelték a temperamentumot, esetünkben pedig 1,5 éven felüli növendéküszők, illetve a végén már tehenek

voltak a vizsgált állatok. Ebből arra következtethetünk, hogy életszakaszonként eltérő a húsmarhák viselkedésének alakulása, az állatokat érintő, eltérő környezeti hatások következtében. Ezek alapján – *Grandin* (1993), valamint *Burrow és Corbet* (2000) ajánlásával egyetértve – javasoljuk a vérmérséklet több alkalommal történő meghatározását, a húsmarhák temperamentumának pontos megítélése érdekében.

A vizsgálatok eredményei alapján az is elmondható, hogy különbség van a charolais és aubrac borjak vérmérséklete között választási korban. Az aubrac borjak nyugodtabbak charolais társaikhoz képest. Ugyanakkor az aubrac és charolais üszők vérmérséklete közötti különbséget egyik fajta javára sem tudtuk egyértelműen igazolni, a mérések alapján. Ennek az oka valószínűleg az üszők mérésenként változó viselkedése lehet. Megállapítottuk továbbá – több kutató eredményével összhangban –, hogy az ivar nincs hatással a borjak választási temperamentumára, sem az aubrac, sem a charolais fajtában.

Eredményeink alapján megállapítható, hogy érdemes foglalkozni a vérmérséklet tulajdonsággal a húsmarhák tenyésztése során, ugyanakkor további vizsgálatokat tartunk szükségesnek a gyakorlati munkához megfogalmazható javaslatokhoz.

Irodalomjegyzék

- Boissy, A., Boissou, M.F.* (1995): Assessment of individual differences in behavioural reactions of heifers exposed to various fear-eliciting situations. *Applied Animal Behaviour Science*, 46. 17-31.
- Burdick, N.C., Agado, B., White, J.C., Matheney, K.J., Neuendorff, D.A., Riley, D.G., Vann, R.C., Welsh, T.H. Jr, Randel, R.D.* (2011): Technical note: Evolution of exit velocity in suckling Brahman calves. *Journal of Animal Science*, 89. (1.) 233-236.
- Burrow, H.M., Seifert, G.W., Corbet, N.J.* (1988): A new technique for measuring temperament in cattle. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 17. 154-157.
- Burrow, H.M., Corbet, N.J.* (2000): Genetic and environmental factors affecting temperament of zebu and zebu-derived beef cattle grazed at pasture in the tropics. *Australian Journal of Agricultural Research*, 51. 155-162.
- Curley, K.O., Paschal, J.C., Welsh, T.H., Randel, R.D.* (2006): Technical note: Exit velocity as a measure of cattle temperament is repeatable and associated with serum concentration of cortisol in Brahman bulls. *Journal of Animal Science*, 84. 3100-3103.
- Czakó J.* (1978): Gazdasági állatok viselkedése. Mezőgazda Kiadó, Bp. 13-84.
- Ferris, C.P., Patterson, D.C., Gordon, F.J., Watson, S., Kilpatrick, D.J.* (2014): Calving traits, milk production, body condition, fertility and survival of Holstein-Friesian and Norwegian Red dairy cattle on commercial dairy farms over 5 lactations. *Journal of Dairy Science*, 97. (8.) 5206-5218.
- Fisher, A.D., Morris, C.A., Matthews, L.R.* (2000): Cattle behaviour: comparison of measures of temperament in beef cattle. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 60. 214-217.
- Fordyce, G., Dodt, R.M., Wythes, J.R.* (1988): Cattle temperaments in extensive beef herds in northern Queensland. 1. Factors affecting temperament. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 28. 683-687.
- Fordyce, G., Goddard, M.E.* (1984): Maternal influence on the temperament of *Bos indicus* cross cows. *Proceedings of the Australian Society of Animal Production*, 15. 345-348.

- Fordyce, G., Goddard, M.E., Tyler, R., Williams, G., Toleman, M.A. (1985): Temperament and bruising of *Bos indicus* cross cattle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 25. 283-288.
- Gauly, M., Mathiak, H., Hoffmann, K., Kraus, M., Erhardt, G. (2001): Estimating genetic variability in temperamental traits in German Angus and Simmental cattle. *Applied Animal Behaviour Science*, 74. (2.) 109-119.
- Gergovska, Zh., Miteva, T., Angelova, T., Yordanova, T., Mitev, J. (2012): Relation of milking temperament and milk yield in Holstein and Brown Swiss cows. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 18. (5.) 771-777.
- Grandin, T. (1993): Behavioural agitation during handling of cattle is persistent over time. *Applied Animal Behaviour Science*, 36. 1-9.
- Grandin, T. (2015): Assessment of temperament in cattle and its effect on weight gain and meat quality and other recent research on hairwhorls, coat color, bone thickness, and fertility. Department of Animal Science, Colorado State University, Fort Collins, Colorado. <http://www.grandin.com/behaviour/principles/assessment.temperament.html>
- Gulyás L., Orbán M., Kovácsné Gaál K., Ari M., Tózsér J., Póti P., Pajor F. (2013): A vérmérséklet hatása holstein-fríz tehenek tejtermelésére egy tenyészetben. *Állattenyésztés és takarmányozás*, 62. (3.) 273-280.
- Hearnshaw, H., Morris, C.A. (1984): Genetic and environmental effects on a temperament score in beef cattle. *Australian Journal of Agricultural Research*, 35. 723-733.
- Holló G., Seregi J., Holló I., Andrassy Z. (2004): Magyar szürke és holstein-fríz hízóbikák temperamentumának értékelése. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 8. 25-31.
- Hoppe, S., Brandt, H.R., König, S., Erhardt, G., Gauly, M. (2010): Temperament traits of beef calves measured under field conditions and their relationships to performance. *Journal of Animal Science*, 88. 1982-1989.
- Jurkovich V., Fóris B., Végh Á. (2012): Az állatjóllét értékelésének lehetőségei tejtermelő tehenészetekben. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 134. 442-448.
- McDonald, A. (2003): Temperament – Its influence on feedlot performance and meat quality. Genetic selection to improve temperament. Key findings of the Cooperative Research Centre for cattle and beef quality. Workshop in Scone, Australia. 17-19.
- Morris, S.T., Parker, W.J., Grant, D.A. (1994): Herbage intake, liveweight gain and grazing behaviour of Friesian, Piadmontese x Friesian, and Belgian Blue x Friesian bulls. *New Zealand Journal of Agricultural Research*, 36. 231-236.
- Orbán, M., Kovácsné Gaál, K., Pajor, F., Szentléleki, A., Póti, P., Tózsér, J., Gulyás, L. (2011): Effect of temperament of Jersey and Holstein Friesian cows on milk production traits and somatic cell count. (Short communication.) *Archives Animal Breeding*, 54. (6.) 594-599.
- Phillips, C.J.C. (2002): *Cattle behaviour and welfare*. Blackwell Publishing, London. 10-122.
- Rushen J., De Passillé, A.M., Munksgaard L. (1999): Fear of people by cows and effects on milk yield, behaviour and heart rate at milking. *Journal of Dairy Science*, 82. 720-727.
- Staikov, P. (1996): The effect of castration on the behaviour of male Bulgarian Simmental calves fattened in a half open shed. *Zhivotnovodni-Nauki*, 33. 15-20.
- Stricklin, W.R., Heisler, C.E., Wilson, L.L. (1980): Heritability of temperament in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 5. (1.) 109-110.
- Szentléleki, A., Pajor, F., Horváth, G., Győri, D., Tózsér, J. (2006): Comparison of achievements of three independent scorers at assessing temperament of Hungarian Simmental cattle. *Bulletin of the Szent István University, Gödöllő*. 23-30.

- Tózsér J., Holló G., Seregi J., Holló I., Andrassy Z. (2005a): Magyar szürke és holsetin-fríz hízóbikák ismételt temperamentumtesztjének értékelése. Magyar Állatorvosok Lapja, 127. (2.) 67-71.
- Tózsér J., Maros K., Szentléleki A., Zándoki R., Wittmann M., Balázs F., Bailo A., Alföldi L. (2003a): Temperamentum teszt alkalmazása egy hazai angus és holstein-fríz tenyészetben. Állattenyésztés és Takarmányozás, 52. (6.) 517-525.
- Tózsér J., Póti P., Pajor F., Szentléleki A., Maros K., Zándoki R., Nikodémusz E., Balázs F. (2004a): Ismételt mérleg-teszt eredmények értékelése szarvasmarha és juh fajok esetén. Állattenyésztés és Takarmányozás, 4. 365-373.
- Tózsér J., Szentléleki A., Maros K., Zándoki R., Domokos Z. (2003b): Előzetes eredmények charolais bikák és üszők temperamentumáról. Acta Agraria Kaposváriensis, 7. (2.) 9-17.
- Tózsér J., Szentléleki A., Zándoki R., Maros K., Domokos Z., Kuchtik, J. (2005b): Evaluation of temperament test in beef steers. Acta Universitas Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis, LIII. (5.) 99-104.
- Tózsér J., Szentléleki A., Zándoki R., Maros K., Domokos Z., Sváb L., Kovács T. (2004b): Charolais és magyar szürke tinók vérmérsékletének összehasonlító értékelése. Acta Agraria Debreceniensis, 14. 14-19.
- Trillat, G., Boissy, A., Boivin, X., Monin, G., Sapa, J., Mormende, P., Le Neindre, P. (2000): Relations entre le bien-entre des bovines et les caracteristiques de la viande. (Rapport definitif-Juin.) INRA, Theix, France. 1-33.
- Turner, S.P., Jack, M.C., Lawrence, A.B. (2013): Precalving temperament and maternal defensiveness are independent traits but precalving fear may impact calf growth. Journal of Animal Science, 91. 4417-4425.
- Várhegyi J.-né, Várhegyi J. (2006): Húshasznú tehének takarmányozása. Agrárágazat, 7. (2.) 70-72.
- Voisinot, B.D., Grandin, T., Tatum, J.D., O'Connor, S.F., Struthers, J.J. (1997): Feedlot cattle with calm temperaments have higher daily gains than cattle excitable temperaments. Journal of Animal Science, 75. 892-896.
- Williams, A.F., Boles, J.A., Herrygers, M.R., Berardinelli, J.G., Meyers, M.C., Thomson, J.M. (2016): Relationship between current temperament measures and physiological responses to handling of feedlot cattle. Journal of Animal Science, 94. (5.) 524.

MÁRIATÖVIS FELHASZNÁLÁSI LEHETŐSÉGEI A GAZDASÁGI ÁLLATOK TAKARMÁNYOZÁSÁBAN

Nagy Jennifer¹, Pál László², Rózsa László³

¹Búzakalász 66 Felcsút Kft., 8086 Felcsút, Fő utca 65.

²Pannon Egyetem, Georgikon Kar, Állattudományi Tanszék, 8360 Keszthely, Deák Ferenc utca 16.

³NAIK Állattenyésztési Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet,
2053 Herceghalom, Gesztenyés út 1.

jennagy13@gmail.com

Received – Érkezett: 31. 10. 2017.

Accepted – Elfogadva: 02. 07. 2018.

Összefoglalás

Az intenzív állattartás elterjedésének következtében folyamatos stresszterhelés éri a gazdasági állatokat, melynek hatására legyengülhet az immunrendszer, ill. felborulhat a bélflóra rendkívül érzékeny egyensúlya, így könnyebben megtelepedhetnek a kórokozók, gyakoribbá válnak a megbetegedések. Ezek kivédésére valamint a kedvezőbb termelési paraméterek érdekében az állattartók gyakran hozamfokozó antibiotikumokat alkalmaztak, melynek következtében számos rezisztens baktériumtörzs jelent meg mind a humán-, mind pedig az állatgyógyászatban. Mivel az antibiotikumok hozamfokozás céljából történő alkalmazását 2006-ban betiltották, jelenleg is számos kutatás folyik azok legmegfelelőbb alternatíváinak (pl.: fitoterápia, szerves savak, probiotikumok, ezüst) vizsgálata céljából. A fitobiotikumok hatóanyagai kedvezően hatnak az állatok szervezetének működésére, segítik az emésztést és a takarmánykomponensek hasznosulását valamint támogatják az immunrendszer működését.

Régóta használatos gyógynövényünk, a máriatövis (*Silybum marianum*) magjában található szilimarinnak nevezett flavonolignán-komplex májvédő és méregtelenítő hatással rendelkezik (Pradhan és Girish, 2006), valamint májregeneráló és antioxidáns tulajdonságát is bizonyították már (Sun és mtsai, 2008). A növénynek gátló hatást tulajdonítanak egyes Gram pozitív (Shah és mtsai, 2011) és Gram negatív (Lahlah és mtsai, 2012) baktériumtörzsekre nézve is. Mindezek ismeretében a máriatövis felhasználási lehetőségei rendkívül szélesek lehetnek a haszonállatfajok takarmányozásában.

Kulcsszavak: máriatövis, szilimarin, antioxidáns hatás, antimikrobiális hatás

Use of Milk thistle in the feeding of farm animals

Abstract

As a result of the spread of intensive livestock farming is the stress load, which can weaken the body's immune system and overturn the sensitive balance of the intestinal flora. Therefore the colonization by pathogens is more common. In order of prevent digestive diseases and enhance the favourable production parameters the veterinarians often used antibiotics, which caused the appearance of high number of resistant bacterial strains both in human and veterinary medicine. After

the banning of the non-therapeutic use of antibiotics in 2006, still many researches are ongoing in looking for optimal solution to the antibiotic alternatives (e.g., phytotherapy, organic acids, probiotics, silver). The active ingredients of herbal medicines improve the health of farm animals and have positive effects on digestive process, enhance the utilization rate of feed compounds and support the immune system.

As one of the old herbal medicines, milk thistle (*Silybum marianum*) seed contains silymarin which is a flavonolignan complex. Silymarin has hepatoprotective and detoxifier effect (Pradhan and Girish, 2006) and it can regenerate hepatocytes by the antioxidant properties (Sun et al., 2008). Some researchers have found that silymarin can reduce the number of some Gram positive (Shah et al., 2011) and Gram negative bacteria (Lahlah et al., 2012). Milk thistle can be used in wide scale in the feeding of farm animals.

Key words: milk thistle, silimarin, antioxidant effect, antimicrobial effect

Bevezetés

A növények gyógyhatásán alapuló fitoterápia során olyan fitobiotikumokat alkalmaznak, melyek hatóanyagai kedvezően befolyásolják a szervezet működését és az immunrendszert, serkentik az emésztési folyamatokat, a táplálék- és a takarmánykomponensek hasznosulását valamint támogatják a bél mikroflóráját.

A máriatövis (*Silybum marianum*) számos kedvező hatással rendelkező anyagot tartalmaz, ezért a humán gyógyászat mellett az állatok takarmányában is alkalmazható, sőt az antibiotikum használat csökkentésében is komoly szerepet kaphat. A legjelentősebb hatóanyag komplex a szilimarín, mely flavonolignánok (szilibinin, izoszilibinin, szilidianin, szilikrisztin, izoszilikrisztin) keverékéből áll (1. ábra). A szilibinin 50-70 %-ban található a magban, ugyanakkor ezen flavonoid rendelkezik a legjelentősebb biológiai aktivitással. A máriatövis viszonylag nagyobb mennyiségben tartalmaz – egy szintén flavonoid típusú vegyületet – taxifolint, ill. szterolokat, fehérjéket valamint zsíros olajokat (linolsav, olajsav, arachidonsav).

1. ábra: A szilimarint alkotó főbb flavonolignánok

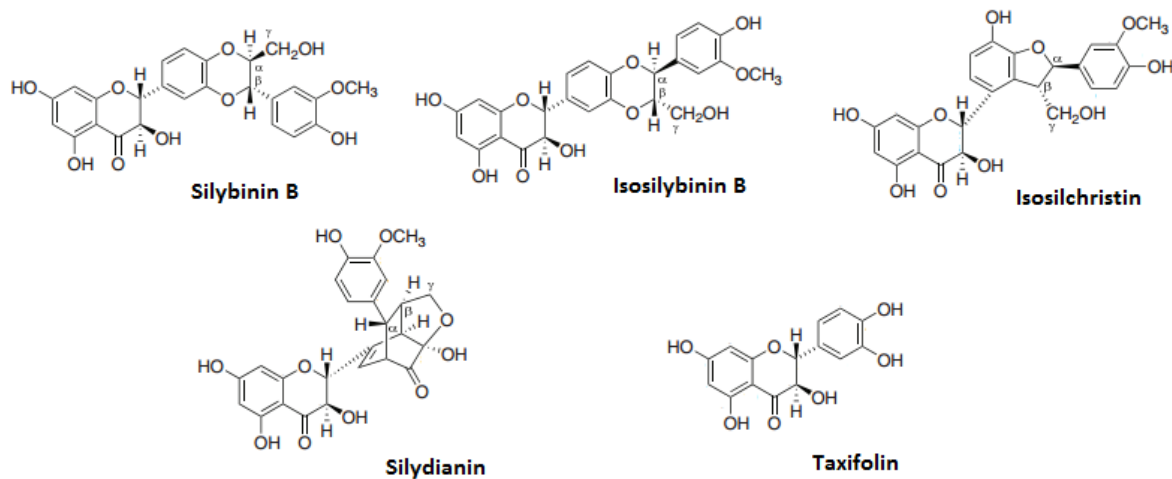


Figure 1: The main flavonolignans of the silymarin
(forrás: www.examine.com)



Hatásmechanizmus – alkalmazási lehetőségek

A máriatöviset már az ókori görögök és rómaiak is ismerték, magját főként májvédő és -regeneráló hatása miatt alkalmazzák ma is. Védi a májat és a vesét az exo- és endotoxinoktól (Pradhan és Girish, 2006), ugyanis a szilimarín stabilizálja és szabályozza a sejtmembrán permeabilitását, ezáltal megakadályozza a hepatotoxikus anyagok bejutását a májsejtekbe.

A máriatövis hatóanyaga antioxidáns sajátossága révén csökkenti a szabadgyökök számát és a lipid peroxidációt. Májgyulladás, májcirrhózis, vegyszerek, gyógyszerek, ill. Amanita-gomba okozta mérgezés esetén is hatékonyan alkalmazható, tehát az oxidációs rendszer károsodásából eredő kórfolyamatok során kiváló terápiás hatással rendelkezik (Hackett és mtsai, 2013a), mivel a szilimarín kedvezően befolyásolja az intracelluláris glutation szintet. *In vitro* vizsgálatok bizonyították, hogy a szilibinin jelentős védelmet nyújt az oxidatív stressztől a perifériás vérben (Kiruthiga és mtsai, 2007; Valenzuela és mtsai, 1987), a májsejtekben (Detaille és mtsai, 2008) és egyéb szövetekben is (Sun és mtsai, 2008). Az *in vivo* kísérletek alátámasztották ezen eredményeket (Nencini és mtsai, 2007; Varzi és mtsai, 2007). Valenzuela és mtsai (1989) tapasztalták szilibinin hatására a máj és a bél szövetekben a glutation koncentráció növekedését patkányban. A toxinoktól való májsejtvédelem során – adszorbens sajátossága mellett – a szilimarín képes kötődni a *hepatocyták* membránján található receptorokhoz. A kompetíció révén megakadályozza a káros anyagokat – így például az Amanita gombák által termelt toxinokat (Faulstich és mtsai, 1980; Tuchweber és mtsai, 1979), széntetrakloridokat (Mourelle és mtsai, 1989; Singh és mtsai, 2009), acetaminofent (Campos és mtsai, 1989) és az arzént (Muthumani és mtsai, 2012) – a hatásuk kifejtésében.

A máriatövis gyulladásgátló hatása a reaktív oxigéngyökök megkötésén keresztül valósul meg. A szilibinin csökkenti a TNF- α , és TNF-1 szintet, ill. a TRAIL-receptorok expresszióját, ezáltal szabályozza a májsejtek apoptózisát. A máriatövis sziginifikánsan gátolta a TNF és az interleukin-4 expressziót akut hepatitises egerekben (Schumann és mtsai, 2003) valamint kedvező irányban befolyásolta az 5-lipoxigenáz útját és a leukotrién keletkezést a Kupffer sejtekben *in vitro* körülmények között (Dehmlow és mtsai, 1996), sőt az LPS stimuláció révén gátolja a nitrogén-monoxid szintáz expresszióját (Kang és mtsai, 2002). Szilibinin hatására csökkent az interleukin-1- β és prosztaglandin-E2 szint egerekben (Kang és mtsai, 2004).

A máriatövis immunerősítő hatását több vizsgálat bizonyította (Grizzle és mtsai, 1999; Thyagarajan és mtsai, 2002; Wilasrusme és mtsai, 2002), ugyanis a szilimarín egyrészt csökkenti a máj enzimtermelését, másrészt azonban módosítja a gyulladásgátló és T-sejtek működését (Janice és mtsai, 2007). A máriatövis kedvező irányban befolyásolja a májenzimek termelését. Vizes kivonata *in vitro*, ill. lovakban és juhokban *in vivo* körülmények között növelte az ALT, AST, ALP és ACP szintet, ezzel szemben nyúlban csökkent ezen enzimek aktivitása. A szilimarín leginkább szignifikáns mértékben az AST-t, legkevésbé pedig az ALP-t befolyásolta (Enkhtuya és mtsai, 2006). Hasonlóan kedvező eredményeket tapasztaltak a laktációs időszak első három hónapjában tejelő szarvasmarhák esetében is (Grabowicz és mtsai, 2004).

A máriatövis fokozza a fehérje szintézist, ugyanis a szilibinin stimulálja az RNS polimeráz I-et valamint a riboszomális RNS-t (Sonnenbichler és Zetl, 1986; Magliulo és mtsai, 1973), ezáltal pedig hozzájárul a riboszomák gyorsabb képződéséhez. Előbbi esetében a szilimarín a szteroid receptorhoz kapcsolódik és mivel feltételezhetően hasonlóság áll fent a szteroidok struktúrájával, a máriatövis hatóanyaga a szteroidokhoz hasonlóan módosíthatja az RNS szintézist. Patkányokban a szilimarín növelte a DNS szintézist (Sonnenbichler és mtsai, 1986), ezáltal pedig a májsejt rege-



nerációt olyan vizsgált csoportban, melyben a kísérleti egyedek máját korábban részben eltávolították. Azonban hasonló folyamatot nem lehetett megfigyelni sem a kontroll, sem pedig a neopláziás állatokat magába foglaló csoportokban.

A szilimarín valószínűleg az antioxidáns és a fehérjeszintézist fokozó hatás révén kedvezően befolyásolhatja a szervezetben lévő egyes hormonok szintjét is. *Quarantelli és mtsai* (2009) a máriatövis petefészkek aktivitásra és a tojástermelésre gyakorolt hatását vizsgálták. 200 és 411 ppm szilimarint tartalmazott a kísérleti csoportok tápja. Szignifikáns különbségeket a 200 ppm-el kezelt csoportban tapasztaltak a takarmányértékesítési ráta, a tojástermelés, a tojás szárazanyag-tartalmának valamint összlipid és -szterol koncentrációjának vizsgálatakor. Ebben az arányban a hatóanyag kedvezően befolyásolhatja a hormonális folyamatok szabályozását, ugyanis szabályozza a szteroidogenezist az ösztrogén és progeszteron szintjén. 200 ppm-nél magasabb volt a P4/E2 arány a többi csoporthoz viszonyítva, ez lehet a magyarázata a kísérlet során tapasztalt magasabb ovarialis aktivitásnak (*Proudman*, 1995).

A máriatövis antifibrotikus aktivitása azon alapul, hogy a hatóanyagok csökkentik a májeredetű kollagén akkumulációt valamint a szérum fibrózis marker szintjét, ill. lassul a prokollagén RNS regenerációja (*Blumenthal és mtsai*, 1997). A szilibinin a sejtlekeken keresztül limitálja a máj csillagsejtjeinek (Ito-sejtek) *myofibroblastokká* való átalakulását azáltal, hogy csökkenti az Ito-sejtek DNS szintézisét, proliferációját és migrációját (*Trappoliere és mtsai*, 2009). Patkányokban csökkent a fibrózis szövet (prokollagén III, prokollagén alfa-1, profrigén mRNA expresszió) termelődése (*Boigk és mtsai*, 1997; *Jia és mtsai*, 2001).

A máriatövis kivonatok biológiai felszívódása meglehetősen alacsony szájon át történő felvétel esetén, ugyanis a felszívódást követően a hatóanyagok glükuronidáció által konjugálódnak, majd kiválasztódnak az epével és a vizelettel (*Saller és mtsai*, 2001). A szilibinin-glükuronid kisebb hányada az epe áramlás révén a bélbe jut, ahol a bakteriális β -glükuronidáz enzim hasítja, visszaállítva a szilibinin eredeti szerkezetét, mely ezután az enterohepatikus keringésbe jut (*Hackett és mtsai*, 2013a). Ebből következően az epében található szilibinin koncentráció akár a százszorosa is lehet a széruménak (*Lorenz és mtsai*, 1984). Mivel a szilibinin kevésbé vízoldékony és meglehetősen kis mennyiségben szívódik fel a bélből (*Saller és mtsai*, 2007), a biológiai hasznosulás javítható az oldékonyságot elősegítő kiegészítővel (pl.: foszfátidil-kolin), melyeket egyes késztermékekben már alkalmaznak mind a humán-, mind pedig az állatgyógyászatban.

A biológiai felszívódás befolyásolható a beadás módján keresztül is, ugyanis *Hackett és mtsai* (2013b) foszfolipiddel kiegészített szilibinint jutattak be szájon át, ill. ornyelőcső szondán keresztül lovak szervezetébe. Előbbi esetben a hatóanyag 0,6 %-a, míg utóbbi esetben pedig annak 2,9 %-a szívódott fel.

Habár a gyógynövényt humán vonalon alkohol eredetű és egyéb krónikus májbetegségek (pl.: Hepatitis C), májcirrhózis és mérgezések esetében alkalmazzák leggyakrabban, azonban a máriatövis antioxidáns sajátossága révén antikarcinogén hatással is rendelkezik (*Manna és mtsai*, 1999). Az apoptózis befolyásolásával csökkenti a daganatok kialakulásának esélyét, gátolja a rákos sejtek osztódását. A máriatövis ajánlott napi adagja a humán gyógyászatban 12-15 g (2. ábra). Az egyik legbiztonságosabban alkalmazható gyógynövény, melynek túladagolása esetén a legkomolyabb mellékhatások pruritus, hasmenés, émelygés esetleg fejfájás. *Saller és mtsai* (2008) utóbbi tünetet 2,36 %-os arányban észlelték szilibinint fogyasztó emberek esetében, míg a fejfájás 5,05 %-ban fordult elő a placeboval kezelt csoportban.

Számos állatokon végzett kísérlet igazolta azt, hogy a máriatövis hatóanyagai – a legtöbb gyógynövényhez hasonlóan – nem akkumulálódnak a szervezetben, ezáltal nem károsítják azt. Lovaknál folyamatosan növekvő dózisban (0 mg/kg, 6,5 mg/kg, 13 mg/kg, and 26 mg/kg) naponta kétszer adagolt szilibinin esetében sem figyeltek meg felhalmozódást a szervezetben (Hackett és mtsai, 2013b).

2. ábra: A máriatövis és egyes termékei



Figure 2: Milk thistle and some products
(Forrás: www.medicalnewstoday.com)

A kísérletek során egyik állatfajban sem volt tapasztalható a máriatövis hatására történő teljesítménycsökkenés, sőt több esetben kedvező irányban befolyásolta a természetes és egyéb termelési mutatókat. Blevins és mtsai (2010) valamint Mojahedtalab és mtsai (2013) brojlercsirkéken végzett vizsgálataik során azt tapasztalták, hogy a máriatövis olajjal történő takarmány kiegészítés hatására csökkent a takarmányértékesítési ráta, azonban a növényi kivonat nem befolyásolta szignifikánsan a súlygyarapodást. Kralik és mtsai (2015) brojlercsirkékben 3 % máriatövis illóolaj alkalmazása esetén a fentiekhez hasonlóan szignifikánsan alacsonyabb takarmányértékesítési rátát (1,8 kg/kg) tapasztalt a kontroll csoporthoz viszonyítva (1,83 kg/kg). Makki és mtsai (2013) hasonlóan kedvező eredményeket tapasztaltak a takarmányértékesítési ráta vizsgálatokor. 5, ill 15 %-ban etetett máriatövis magpogácsa esetében a kontroll csoportban magasabb volt az átlagos élősúly a 35. életnapon, azonban a 15 %-os arányban magpogácsát fogyasztó broilerekénél 420 g-mal magasabb húskihozatal volt tapasztalható, sőt a kísérleti csoportokban kedvezőbbek voltak az érzékszervi mutatók, ugyanis a csirkehús puhasága, színe és íze a máriatövis hatására tetszetősebb volt (Stastnik és mtsai, 2016).

A szilibinin farmakokinetikája a gazdasági haszonállatokban egyelőre még ismeretlen folyamat, annyit azonban már tudunk, hogy máriatöviszt fogyasztó tehének tejében nem jelentek meg a hatóanyagok (Tedesco és mtsai, 2004). Májvédő és –regeneráló, immunerősítő és emésztést elősegítő valamint exo- és endotoxinkötő hatása miatt egyre szélesebb körben készülnek vizsgálatok a különböző állatfajokban, melynek köszönhetően a gyógynövény alkalmazása is egyre komolyabb tért nyerhet.



A társállatok gyógyászatában már számos késztermékkel találkozhatunk, melyeknek célja főként a máj és az emésztőszervek támogatása. Kutya és macska esetében sem tapasztaltak mellékhatásokat, csupán nagy mennyiségben való alkalmazás során előfordulhat hígabb bélsár. Fertőzéses eredetű vesekárosodás esetén gyorsítja a gyógyulási folyamatokat, ill. enyhíti a hasnyálmirigy gyulladás tüneteit. Zsírmáj, hepatitis és tumorok megelőzésére és kezelésére alkalmazzák a leggyakrabban a kisállat gyógyászatban, azonban gyógyszeres terápiák mellett/után is rendkívül hasznos a máriatövis adagolása. Serkenti az epetermelést és csökkenti a vércukorszintet, így *diabetes* állatok kiegészítő terápiájának része lehet. Allergia esetén is alkalmazható, ugyanis a megfelelő májműködésnek köszönhetően kevesebb lesz a szervezetben keringő toxinok mennyisége, ezáltal pedig a csökken a hisztamin termelés is. A kisállatgyógyászatban az adagolási javallatok nem kísérleti alapúak, hanem a humán mennyiségek alapján vannak kiszámítva.

Számos díszmadár-, papagáj- és galambtáp is tartalmaz máriatövis kivonatot.

Lovak esetében a máriatövis, mint májvédő alkalmazása egyre inkább elterjed, ugyanis a műtrágyával és növényvédő szerekkel kezelt gabonák és szénák fogyasztása komoly kockázatot jelenthet. Csakúgy mint a kutyaéknál és macskákéknál, kedvező hatással bír a májsejtek regenerációja és védelme miatt többek között a nemszteroid gyulladáscsökkentők, szteroidok, féreghajtók, antibiotikumok alkalmazásából adódó káros hatások kivédésében. A kereskedelemben kapható szilimarin alapú termékeket immunerősítés céljából és az emésztőrendszer támogatása végett is alkalmazzák. Versenylovaknál a stressz okozta káros hatások kivédésére gyakran alkalmaznak rendszeresen máriatövissen alapuló kúrát.

A lovaknál gyakran előforduló és súlyos következményekkel járó savós patairha-gyulladás megelőzésében, ill. a terápia támogatásában a szilimarin gyulladáscsökkentő valamint endotoxinkötő hatása miatt komoly jelentőséggel bírhat. *Reisinger és mtsai* (2014) vizsgálatuk során azt tapasztalták, hogy a máriatövis, ill. a szilimarin 64, ill. 75 %-kal csökkentette az endotoxin koncentrációt, szignifikánsan csökkent a pata egyes rétegeinek szétválása valamint nőtt a szöveti integritás.

Szarvasmarhák esetében a gyakran előforduló és jelentős gazdasági károkat (csökkent tejtermelés, romló szaporodásbiológiai mutatók, vemhesülési problémák) okozó szubklinikai zsírmáj szindróma során alkalmazott máriatövis kivonat a tejelő tehenek tejtermelését (átlagos napi csúcs-termelés valamint átlagos laktációs termelés) és kondícióját szignifikánsan javította. A kísérleti csoportban lévő állatok kondícióromlásának mértéke jelentősen elmaradt a kontroll csoporthoz viszonyítva, sőt a vérben közel négyszeresére nőtt a NEFA-koncentráció (*Tedesco*, 2004). Habár a szerző nem tapasztalt változást a tej minőségének vizsgálatakor, ill. nem fedezett fel szilimarin reziduumokat a termékben, lehetőség van a máriatövissel történő tejösszetétel befolyásolására is. *Potkański és mtsai* (2001) 20 % máriatövis magbél kiegészítésének alkalmazása során azt tapasztalták, hogy a kísérleti csoportban szignifikánsan magasabb volt a tejszír aránya (4,83 %), mint a kontroll csoportban (4,27 %). A máriatövis alkalmazása – a szubklinikai zsírmáj szindrómához hasonlóan jelentős károkat okozó – acidózis esetén is célravezető lehet, ugyanis kedvező hatással van az acidózisos tehenek tejtermelésére, sőt a vér pH értékét is szignifikánsan növelte (*Vojtisek és mtsai*, 1991). Mivel a bendőacidózis átlagosan 40 %-ban van jelen az európai holstein-fríz állományokban és ennek túlnyomó hányada szubklinikai formában fejt ki káros hatásait, komoly jelentősége lehet a máriatövis kivonatának rendszeres, preventív célú alkalmazásának a tejelő állományokban.



Habár jelenleg nem igazán áll rendelkezésre sertésre vonatkozó szakirodalom a máriatövis hatásával kapcsolatban, léteznek szilimarint is tartalmazó takarmánykiegészítők. A máj, az emésztőrendszer és az immunrendszer védelmének szempontjából komoly jelentősége lehet a sertéstartásban is, ugyanis a szilimarinnal antioxidáns hatása révén kedvezően befolyásolja a bélben élő mikroorganizmusokat, ill. a detoxifikáció révén erősíti a máj funkciót (Groot és mtsai, 2010). A sertések anyagcsere teljesítményét kifejezetten igénybe vevő időszakokban (pl.: a vemhesség utolsó három hete, szoptatás, növekedés legintenzívebb szakasza) a májműködés sérülést szenvedhet a toxikológiai terhelés és a stressz következtében. Mivel a szilimarinnal növeli az antioxidáns fehérjék (glutathion, szuperoxid-dizmutáz) szintjét a májban és a teljes szervezetben, így a bélben is, ezért fontos szerepe lehet a gyomor és belek gyulladással járó állapotának javításában is, melyre a sertések leginkább érzékenyek (nyelőcsőtájéki gyomorfekély).

A máriatövis endo- és exotoxinkötő képessége ismert tény, azonban még számos kutatásra van szükség ahhoz, hogy pontos képet alkossunk arról, hogy melyik típusú mikotoxint, ill. annak metabolitjait milyen mértékben képes megkötni. Mivel nem csupán adszorbeálja ezen káros szubsztanciákat, hanem támogatja és regenerálja az oxidatív stressz és toxinok által károsított májat, ezért kettős hatással bír a toxinokkal szennyeződött takarmányok elleni védekezésben. Ma már számos toxinkötő tartalmaz máriatövis kivonatot is, azonban jelenleg is több kísérlet folyik a szilimarinnal hatásának megismerése érdekében a különböző állatfajokban.

Az aflatoxin B1 csökkenti az immunrendszer működését, károsítja a májfunkciót (Hussain és mtsai, 2008; Hassan, 2010; Khan, 2010), a sérült máj abnormális színéhez és méretéhez (Denli és Okan, 2006), ill. májgyulladásához és az immunrendszer működésének károsodásához vezethet (Asim és mtsai, 1990). A leggyakrabban előforduló (Ahsan és mtsai, 2010) aflatoxin B1-el kontaminált takarmány esetében szignifikánsan növelte a szérum összfehérje mennyiségét, míg a májenzimek (ALP, AST és ALT) szintje jelentősen alacsonyabb volt a kontroll csoporthoz viszonyítva, így alátámasztva a növény hepatoprotektív hatását (Muhammad és mtsai, 2012). A kísérlet során kedvezőbb testtömeggyarapodást valamint takarmányfelvételt tapasztaltak a broilerek esetében. Tedesco és mtsai (2003) szarvasmarhák esetében szintén bizonyították a szilimarinnal toxinkötő hatását, ugyanis a vizsgálat eredményeként már kilenc napos adagolást követően 21 %-kal csökkentette a máriatövis a tejből származó aflatoxin M1 mennyiségét. Az aflatoxin B1-el fertőzött tojótakarmány esetében a szilimarinnal hatására szignifikánsan csökkent a mikotoxin kártétele a vér biokémiai paraméterei (glükóz, kalcium, foszfor, vas, kreatinin, húgysav) alapján, ill. kedvező hatást gyakorolt a szervezet triglicerid, koleszterol, LDL, HDL, ALT szintjére is (Amiridumari és mtsai, 2013; Suchy és mtsai, 2007; Dumari és mtsai, 2014). A szilimarinnal aflatoxin B1 elleni hatását már számos tanulmány bizonyította (Grizzle és mtsai, 1999; Tedesco és mtsai, 2004; Kalorey és mtsai, 2005).

Patkányokban a fumonizin B1 okozta máj- és vesetoxikózis káros hatásai csökkentek a gyógynövény hatására. A szilimarinnal történő előkezelet csoportban a szervezet ALT aktivitása normális értéket mutatott, azonban csökkent a kreatinin és az urea koncentráció a kontroll állatokhoz viszonyítva. A lipid peroxidáció indikátoraként ismert malondialdehid szintén csökkent a kontroll csoporthoz viszonyítva (El-Adawi és mtsai, 2011; He és mtsai, 2004).

Habár a máriatövis immunrendszerre gyakorolt hatását már több tanulmány alátámasztotta (Grizzle és mtsai, 1999; Thyagarajan és mtsai, 2002; Wilasrusmee és mtsai, 2002), Chand és mtsai (2011) a máriatövis immunostimuláns hatását aflatoxin B1-el kontaminált takarmányt fogyasztó, ND-re, IB-re és IBD-re vakcinázott broilerek esetében vizsgálták. 10 g/kg máriatövis alkalmazásakor magasabb titer értékeket mértek mind a ND, IB, mind pedig az IBD-re nézve, ugyanakkor a



lép, a *bursa Fabricii* és a *thymus* tömege meghaladta a kontroll csoportban mért értékeket. A szilimarinnal kezelt csoportban szignifikánsan alacsonyabb volt a takarmányértékesítési ráta. Az intenzív állattartó telepeken sajnos gyakran nem veszik figyelembe, hogy a mikotoxinokkal – még akár a tolerálható érték alatt – szennyezett takarmányok fogyasztása következtében az immunrendszer valamint a máj és a vese funkciók károsodhatnak, ezáltal pedig az állatok szervezete nem képes kielégítő választ adni az alkalmazott vakcinákra. Éppen ezért a máriatövis kiváló lehetőség lehet az immunrendszer valamint a máj védelme és erősítése, ill. a toxinoktól való védelem és azok egy részének megkötése szempontjából.

A szilimarín mikrobiológiai hatását vizsgáló tanulmányok (Evren és Yurtcu, 2015; de Oliveira és mtsai, 2015; Shah és mtsai, 2011) alapján a máriatövis gátló hatással rendelkezik számos Gram pozitív baktériumfajra nézve *in vitro* körülmények között. Csupán egy kísérlet (Lahlah és mtsai, 2012) során tapasztaltak hasonló hatást a Gram negatív (*Pseudomonas sp*, *Escherichia coli*, *Serratia sp*) törzsekre vonatkoztatva.

Mojgan és Roya (2016) arra a következtetésre jutottak, hogy a hatóanyag minimális gátlási koncentrációja (MIC) meghaladja a 128 µg/ml értéket több baktériumfaj (*Salmonella paratyphi A*, *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi B*, *Salmonella paratyphi C*, *Salmonella typhimurium*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*, *Enteropathogenic E.coli*, *Vibrio cholerae serotype Ogawa*, *Vibrio cholerae serotype Inaba*, *E. coli ATCC25922*, *Shigella ATCC12022*) esetében is. De Oliveira és mtsai (2015) 64µg/ml-es szilibinin koncentráció esetén szignifikáns aktivitást tapasztaltak az *E. coli* törzsekre aktivitását vizsgálva, azonban a szilimarín 512 µg/ml-ben alkalmazott koncentrációja esetében a szignifikancia nem volt számottevő.

Mindezidáig meglehetősen kevés szakirodalom áll rendelkezésre a máriatövis hatóanyagának *in vivo* körülmények között történő antimikrobiális vizsgálatával kapcsolatban. Egyes brojlercsirkéken végzett kísérletek szerint a szilimarín negatívan hat a csípőből egyes Gram negatív törzseire, amelyek között több jelentős patogén faj is előfordul (Kalantar és mtsai, 2014; Jahanian és mtsai, 2017). Kalantar és mtsai (2014) azt tapasztalták, hogy 0,5% máriatövis valamint 0,5% máriatövis+kurkuma kombináció hatására szignifikánsan csökkent a csípőből található összes baktérium, a Gram negatív törzsek valamint a *Coliform* baktériumok száma, jelentősen alacsonyabb volt a béltartalom kémhatása, illetve szignifikánsan nagyobb volt a belek súlya és hossza a kontroll csoporthoz viszonyítva brojlercsirkékben.

Aflatoxin B1-el szennyezett takarmányt fogyasztó broilerek csípőből morfológiáját és emészthetőségét vizsgálva Hasheminejad és mtsai (2015) azt tapasztalták, hogy a máriatövis kivo-
nat csökkentheti a mikotoxin káros hatásait több emészthetőségi faktorra (szárazanyag, nyers fehérje, N, Ca) nézve. A növényi hatóanyag elősegítette a tápanyagok felszívódását és csökkentette a béltraktusban előforduló metabolikus sérüléseket. A kedvezőbb nyersfehérje emészthetőség két módon magyarázható. A máriatövis növeli a fehérjeabszorpciót azáltal, hogy növeli annak a béltartalomban tapasztalható vízdékonyságát, ezáltal hosszabb idő áll rendelkezésre a fehérje vékonybélbe történő felszívódására vagy lehetséges, hogy a szilimarín a takarmány és a béltartalom savanyítása által kedvezőbb feltételeket teremt a csípőből található enzimek számára, így azok hatékonyabban láthatják el feladataikat.

Utóbbi elmélet magyarázatul szolgálhat a herceghalmi Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ - Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézetében elvégzett kísérleteinkre is, melynek során *in vitro* körülmények között kacsából nyert vágóhídi csípőből tartalomtól kitenyésztett baktériumtörzseken vizsgáltuk a máriatövis antimikrobiális hatását.

A kísérlet során máriatövis préselvényt, máriatövis olajat, máriatövis préselvény+máriatövis olaj+toxinkötő anyagot, ill. a máriatövis préselvény+máriatövis olaj+semleges vivőanyagot alkalmaztunk 0,5 illetve 1,5 g/100 ml koncentrációban a szelektív táptalajba oltva, majd meghatároztuk a béltartalom minták összes *Enterobacter*, *Coliform*, *Enterococcus* és *Lactobacillus* számát valamint a gátlási %-ot. A kezelések gyenge gátló hatást (1-13,7 %) fejtettek ki a fakultatív patogén fajokat is tartalmazó törzsekre, míg a bélflóra szempontjából kedvező *Lactobacillusok* szaporodását a máriatövis hatóanyagai nem gátolták, sőt fokozták azok aktivitását (16,7-20,6 %). Az *Enterobacter*ek, *Coliformok* és *Enterococcusok* esetében általában az tapasztaltuk, hogy a magasabb koncentrációban alkalmazott kezelések magasabb gátlási százalékokhoz vezettek. A *Lactobacillusok*nál is megfigyelhető, hogy 1,5 mg/ml máriatövis kivonat esetén a negatív gátlás magasabb volt.

Elképzelhető, hogy a máriatövis hatóanyagai nem közvetlenül hatnak a fakultatív patogén fajokat is tartalmazó törzsekre, hanem a *Lactobacillusok* szaporodásának támogatása révén szorítják vissza az említett fajokat. A máriatövisben található szilimarin tulajdonképpen egy flavonolignán komplex, tehát magában hordozza a flavonoidokra - mint polifenolokra – jellemző kedvező tulajdonságokat. A fenolok kedvező hatással vannak a bélben élő *Bifidobacteriumok* és *Lactobacillusok* aktivitására (Gwladzowska és mtsai, 2015; Lee és mtsai, 2006; Tzonuis és mtsai, 2008), így feltételezhető, hogy a máriatövis a *Lactobacillusok* aktivitására közvetlenül kedvező hatással lehet, ezáltal pedig hozzájárul a fakultatív patogének számára káros, azonban a vékonybél enzimeinek kedvező alacsonyabb pH kialakításához. Mindez igazolhatja az, hogy a máriatövis hatására szignifikánsan csökkent a csípőbél pH-ja, valószínűleg a szilimarin hatására nagyobb számban jelen lévő *Lactobacillus* fajok által termelt tejsav révén (Kalantar és mtsai, 2014).

A máriatövis hatóanyagai a májvédő és -regeneráló, ill. toxinkötő hatásuk miatt nagy jelentőséggel bírhatnak agazdasági állatok takarmányozásában. Amennyiben jobban megismerjük a máriatövis hatásmechanizmusát (lehetséges emésztőenzim termelés támogatása, a táplálóanyagok emészthetőségének fokozása, ill. antibakteriális hatás), tovább bővíülhet az antibiotikumok részleges vagy teljes kiváltására szolgáló alternatív megoldások skálája valamint szélesebb körben lesz lehetőségünk alkalmazni az ókor óta már méltán csodált gyógynövényt.

A cikk a Pannon Egyetem Georgikon Kar és a Bécsi Állatorvostudományi Egyetem együttműködésével megvalósuló CEPI – Centre of Excellence for Poultry Innovation című projekt támogatásával készült. A projekt az Interreg V-A Ausztria-Magyarország 2014-2020 Együttműködési Programban az Európai Unió, Magyarország, valamint a Bécsi Állatorvostudományi Egyetem támogatásával valósult meg.

Irodalomjegyzék

- Ahsan S., Bhatti I. A., As I. M. R., Bhatti H. N., Sheikh M. A. (2010): Occurrence of aflatoxins in maize grains from central areas of Punjab, Pakistan. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, 12: 571–575
- Amiridumari H., Sarir H., Afzali N., Fanimakki O. (2013): Effects of milk thistle seed against aflatoxin B1 in broiler model. *Journal of Research of Medicinal Sciences*, 2013; 18:786-90
- Asim A., Khan K. N. M., Cheema A. H., Mir F. A., Afzal M. (1990): Occurrence of aflatoxins in poultry liver and associated pathological changes. *Pakistan Veterinary Journal*, 10: 51-54.



- Blevins S., Siegel P. B., Blodgett D. J., Ehrich M., Saunders G. K., Lewis R. M. (2010): Effects of silymarin on gossypol toxicosis in divergent lines of chickens. *Poultry Science*, 89: 1878-1886.
- Blumenthal M. (National Advisory Panel Member). Personal communication from Mark Blumenthal, Dec 1999.
- Boigk G., Stroedter L., Herbst H., Waldschmidt J., Riecken E. O., Schuppan D. (1997): Silymarin retards collagen accumulation in early and advanced biliary fibrosis secondary to complete bile duct obliteration in rats. *Hepatology*, 1997; 26:643-9
- Campos R., Garrido A., Guerra R., Valenzuela A. (1989): Silybin dihemisuccinate protects against glutathione depletion and lipid peroxidation induced by acetaminophen on rat liver. *Planta Medica*, 1989; 55:417-419.
- Chand N., Muhammad D., Durrani F. R., Subhan Qureshi M., Ullah S. (2011): Protective Effects of Milk Thistle (*Silybum marianum*) against Aflatoxin B1 in broiler chicks. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, Vol. 24, No. 7 : 1011 – 1018, July 2011
- Dehmlow C., Erhard J., de Groot H. (1996): Inhibition of Kupffer cell functions as an explanation for the hepatoprotective properties of silibinin. *Hepatology*, 1996; 23:749-754.
- Denli M., Okan F. (2006): Efficacy of different adsorbents in reducing the toxic effects of aflatoxin B1 in broiler diets. *South African Journal of Animal Science*, 36: 222-228
- Detaille D., Sanchez C., Sanz N., Lopez-Novoa J. M., Leverve X., El-Mir M. Y. (2008): Interrelation between the inhibition of glycolytic flux by silibinin and the lowering of mitochondrial ROS production in perfused rat hepatocytes. *Life Sciences*, 2008; 82:1070-1076.
- Dumari M. A., Sarir H., Fanimakki O., Afzali N. (2014): Effect of milk thistle (*Silybum marianum* L.) on biochemical parameters and immunity of broiler chicks fed Aflatoxin B1 after three weeks. *Iranian Journal of Toxicology*, Volume 8, No. 26, Autumn 2014
- El-Adawi H., El-Azhary D., Abd El-Wahab A., El-Shafeey M., Abdel-Mohsen M. (2011): Protective effect of milk thistle and grape seed extracts on fumonisin B1 induced hepato- and nephro-toxicity in rats. *Journal of Medicinal Plants, Research* Vol. 5 (27), pp. 6316-6327, 23 November, 2011
- Enkhtuya R., Purev D., Buyantogtokh C. (2006): Effect of water extract of the milk thistle (*Silybum marianum* L.) on some liver enzymes. *Mongolian Journal of Biological Sciences*, 2006 Vol. 4(2): 51-55
- Evren E., Yurtcu E. (2015): In vitro effects on biofilm viability and antibacterial and antiadherent activities of silymarin. *Folia microbiologica*, 2015; 60(4):351-6.
- Faulstich H., Jahn W., Wieland T. (1980): Silybin inhibition of amatoxin uptake in the perfused rat liver. *Arzneimittelforschung*, 1980; 30:452-4.
- Grabowicz M., Dorszewski P., Szterk P. (2004): Influence of whole crpo milk thistle silage on cows metabolism in a transition period. *Medycyna Weterynaryjna*, 2004, 60 (7)
- Grizzle J., Wiles J., Benyard R. (1999): In vitro screening of nutraceuticals for immunosupport in avians. *Journal of Poultry Science*, 71 (9): 1577-1580.
- Groot M., Kleijer-Ligtenberg G., van Asseldomk T. (2010): Natural swine health – A guide to keeping your pigs healthy with herbs and other natural products. *BioKennis - Rikilt-Wageningen UR*, December 2010
- Gwiazdowska D., Juś K., Jasnowska-Malecka J., Kluczyńska K. (2015): The impact of polyphenols on *Bifidobacterium* growth. *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 62., No. 4/2015, 895-901.

- Hackett E. S., Twedt D. C., Gustafson D. L. (2013a): Milk thistle and its derivative compounds: a review of opportunities for treatment of liver disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2013 Jan-Feb; 27 (1):10-6.
- Hackett E. S., Mama K. R., Twedt D. C., Gustafson D. L. (2013b): Pharmacokinetics and safety of silibinin in horses. *American Journal of Veterinary Research*, October 2013, Vol. 74, No. 10, Pages 1327-1332
- Hasheminejad S. A., Makki O. F., Nik H. A., Ebrahimzadeh A. (2015): The effects of aflatoxin B1 and silymarin-containing milk thistle seeds on ileal morphology and digestibility in broiler chickens. *Veterinary Science Development*, 2015; volume 5:6017
- He Q., Kim J., Sharma R. P. (2004): Silymarin protects against liver damage in BALB/c mice exposed to fumonisin B1 despite increasing accumulation of free sphingoid bases. *Toxicological Sciences*, 2004; 80:335–342.
- Hussain Z., Khan M. Z., Hassan Z. U. (2008): Production of aflatoxins from *aspergillus flavus* and acute aflatoxicosis in young broiler chicks. *Pakistan Veterinary Journal*, 45: 95-102
- Jahanian E., Mahdavi A. H., Asgary S., Jahanian R. (2017): Effects of dietary inclusion of silymarin on performance, intestinal morphology and ileal bacterial count in aflatoxin-challenged broiler chicks. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, Volume 101, Issue 5, October 2017 Pages e43–e54
- Janice P., Ladas E. J., Kelly K. M. (2007): Advances in the use of milk thistle (*Silybum marianum*). *Integrative Cancer Therapies*, 6: 104-109.
- Jia J. D., Bauer M., Cho J. J., Ruehl M., Milani S., Boigk G., Riecken E. O., Schuppan D. (2001): Antifibrotic effect of silymarin in rat secondary biliary fibrosis is mediated by downregulation of procollagen alpha1(I) and TIMP-1. *Journal of Hepatology*, 2001; 35:392–398.
- Kalantar M., Salary J., Sanami M. N., Khojastekey M., Hemati Matin H. R. (2014): Dietary supplementation of *Silybum marianum* or *Curcuma* spp on health characteristics and broiler chicken performance. *Global Journal of Animal Scientific Research*, 2 (1): 58-63
- Kalorey D. R., Kurkure N. V., Ramgaonkar I. S., Sakhare P. S., Warke S., Nigot N. K. (2005): Effect of polyherbal feed supplement “Growell” during induced aflatoxicosis, ochratoxicosis and combined mycotoxicoses in broilers. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences*, 18 (3):375-383.
- Kang J. S., Jeon Y. J., Kim H. M., Han S. H., Yang K. H. (2002): Inhibition of inducible nitric-oxide synthase expression by silymarin in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2002; 302:138–144.
- Khan W. A. (2010): Pathological studies of aflatoxicosis on layer breeders and its subsequent effects on progeny; PhD Thesis, Pathol, Univ of Agric, Faisalabad, Pakistan
- Kiruthiga P. V., Shafreen R. B., Pandian S. K., Arun S., Govindu S., Devi K. P. (2007): Protective effect of silymarin on erythrocyte haemolysate against benzo(a) pyrene and exogenous reactive oxygen species (H₂O₂) induced oxidative stress. *Chemosphere*, 2007; 68:1511–1518.
- Kralik Z., Kralik G., Radisic Z., Kralik I., Hanzek D. (2015): Influence if dietary replacement of sunflower oil with milk thistle (*Silybum marianum*) oil on fattening characteristics and market value of broiler carcasses. *Poljoprivreda*, 21: 2015 (2) 61-65
- Lahlah Z. F., Meziani M., Maza A. (2012): Silymarin natural antimicrobial agent extracted from *Silybum marianum*. *Journal Academia*, 2012; 2:164-9.



- Lee H. C., Jenner A. M., Low C. S., Lee Y. K. (2006): Effect of tea phenolics and their aromatic fecal bacterial metabolites on intestinal microbiota. *Research in Microbiology*, 157: 876–884.
- Lorenz D., Lucker P. W., Mennicke W. H., Wetzelsberger N. (1984): Pharmacokinetic studies with silymarin in human serum and bile. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, 1984; 6:655–661.
- Magliulo E., Carosi P. G., Minoli L., Gorini S. (1973): Studies on the regenerative capacity of the liver in rats subjected to partial hepatectomy and treated with silymarin. *Arzneimittelforschung*, 1973; 23:161-7
- Makki O. F., Afzali N., Omid A. (2013): Effect of milk thistle on the immune system, intestinal related variables, appearance and mortality of broilers contaminated with Aflatoxin B1. *Journal of Herbal Drugs*, Vol. 4, No. 1:33-38, 2013
- Mojahedtalab A. R., Mohammadi M., Roostaei-Ali Mehr M., Asadi M. (2013): Effect of silymarin on performance and immune responses of broilers. *Animal Production Research*, 2 (3): 49-58
- Mojgan O., Roya S. (2016): Evaluation of antibacterial activity of silymarin against enteric bacterial pathogens. *International Journal of Herbal Medicine*; 4 (5): 44-45
- Mourelle M., Muriel P., Favari L., Francio T. (1989): Prevention of CCL4-induced liver cirrhosis by silymarin. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 1989; 3:183–191.
- Muhammad D., Chand N., Khan S., Sultan A., Mushtaq M., Rafiullah (2012): Hepatoprotective Role of Milk Thistle (*Silybum marianum*) in Meat Type Chicken Fed Aflatoxin B1 Contaminated Feed. *Pakistan Veterinary Journal*
- Muthumani M., Prabu S. M. (2012): Silibinin potentially protects arsenic-induced oxidative hepatic dysfunction in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 2012; 22:277–288.
- Nencini C., Giorgi G., Micheli L. (2007): Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. *Phytomedicine*, 2007; 14:129–135.
- de Oliveira R., Tintino S., Morais Braga M. F. B., Boligon A. A., Linde Athayde M., Douglas Melo Coutinho H. D., de Menezes I. R., Fachineto R. (2015): In vitro antimicrobial and modulatory activity of the natural products silymarin and silibinin. *Biomed research international*
- Potkański A., Kowalczyk J., Nowak W., Czauderna M., Michalak S. (2001): Effect of milk thistle (*Silybum marianum* L.) endosperm in the diet for cows on milk yield and fatty acid profiles. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 2001;10 (Suppl. 2):83–89
- Pradhan S. C., Girish C. (2006): Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. *Indian Journal of Medical Research*, 2006 Nov; 124 (5):491-504.
- Proudman, J. A. (1995): The biology of egg production and fertility. 1st Int. Symp. Artif. Insem. Poult., Poult. Sci. Assoc., Savoy, IL (USA), 128-148
- Quarantelli A., Romanelli S., Basini G., Righi F. (2009): The effects of Silymarin on ovarian activity and productivity of laying hens. *Italian Journal of Animal Science*, 8:sup2, 769-771
- Reisinger N., Schaumberger S., Nagl V., Hessenberger S., Schatzmayr G. (2014): Milk thistle extract and silymarin inhibit lipopolysaccharide induced lamellar separation of hoof explants in vitro. *Toxins*, 2014 Oct 6; 6(10):2962-74.
- Saller R., Meier R., Brignoli R. (2001): The use of silymarin in the treatment of liver diseases. *Drugs*, 2001; 61:2035–2063



- Saller R., Melzer J., Reichling J., Brignoli R., Meier R. (2007): An updated systematic review of the pharmacology of silymarin. *Forsch Komplementmed* 2007; 14:70–80
- Schumann J., Prockl J., Kiemer A. K., Vollmar A. M., Bang R., Tiegs G. (2003): Silibinin protects mice from T cell-dependent liver injury. *Journal of Hepatology*, 2003; 39:333–340.
- Shah S. M. M., Khan F. A., Shah S. M. H., Chishti K. A., Pirzada S. M. S. S., Khan M. A., Farid A. (2011): Evaluation of phytochemicals and antimicrobial activity of white and blue capitulum and whole plant of *Silybum marianum*. *World Applied Sciences Journal*, 12(8):1139–44.
- Singh D., Singh R., Singh P., Gupta R. S. (2009): Effects of embelin on lipid peroxidation and free radical scavenging activity against liver damage in rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 2009; 105: 243–248
- Sonnenbichler J., Goldbero M., Hane L., Madubunyi I., Vogl S., Zetl I. (1986): Stimulatory effect of Silibinin on the DNA synthesis in partially hepatectomized rat livers: Non-response in hepatoma and other malign cell lines. *Biochemical Pharmacology*, 1986; 35:538–41.
- Sonnenbichler J., Zetl I. (1986): Biochemical effects of the flavoligand silybin on RNA, protein and DNA synthesis of macromolecules in liver cells. In: Cody V, Middleton E Jr, Harborne JB, editors. *Plant flavanoids in biology and medicine: Biochemical, pharmacological, and structure-activity relationships*. New York: Liss; 1986. p. 319–31.
- Štastník O., Jůzl M., Karásek F., Štenclová H., Nedomová S., Pavlata L., Mrkvicová E., Doležal P., Jarošová A. (2016): The effect of feeding milk thistle seed cakes on quality indicators of broiler chickens meat. *Potravinarstvo*, vol. 10, 2016, no. 1, p. 248–254
- Suchý I. P., Straková E., Kummer V., Herzig I., Písaříková V., Blechová R., Mašková J. (2008): Hepatoprotective effects of milk thistle (*Silybum marianum*) seed cakes during the chicken broiler fattening. *Acta Veterinaria Brno*, 2008, 77: 31–38;
- Sun N., Zhang X., Lu Y., Wu W. (2008): In vitro evaluation and pharmacokinetics in dogs of solid dispersion pellets containing *Silybum marianum* extract prepared by fluid-bed coating. *Planta Medica*, 2008; 74:126–132
- Tedesco D., Tameni M., Steidler S., Galletti S., Di Pierro F. (2003): Effect of silymarin and its phospholipid complex against AFM₁ excretion in an organic dairy herd. *Milchwissenschaft*, 58 (7/8) 2003
- Tedesco D., Domeneghini C., Sciannimanico D., Tameni M., Steidler S., Galletti S. (2004): Efficacy of silymarin-phospholipid complex in reducing the toxicity of aflatoxin B1 in broiler chicks. *Journal of Poultry Sciences*, 83: 1839–1843
- Tedesco D., Tava A., Galletti S., Tameni M., Varisco G., Costa A., Steidler S. (2004): Effects of silymarin, a natural hepatoprotector, in periparturient dairy cows. *Journal of Dairy Sciences*, 2004; 87:2239–2247
- Thyagarajan S., Jayaram S., Gopalakrishnan V., Hari R., Jejakumar P., Sripathi M. (2002): Herbal medicines for liver diseases in India. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 17 (13): S370–376.
- Trappoliere M., Caligiuri A., Schmid M., Bertolani C., Failli P., Vizzutti F., Novo E., di Manzano C., Marra F., Loguercio C., Pinzani M. (2009): Silybin, a component of silymarin, exerts anti-inflammatory and anti-fibrogenic effects on human hepatic stellate cells. *Journal of Hepatology*, 2009; 50:1102–1111
- Tuchweber B., Sieck R., Trost W. (1979): Prevention of silybin of phalloidin-induced acute hepatotoxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 1979; 51:265–75.



- Tzonuis X., Vulevic J., Kuhnle G. G., George T., Leonczak J., Gibson G. R., Kwik-Urbe C., Spencer J. P.* (2008): Flavanol monomer-induced changes to the human faecal microflora. *British Journal of Nutrition*, 99: 782–92.
- Valenzuela A., Aspillaga M., Vial S., Guerra R.* (1989): Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat. *Planta Medica*, 1989; 55:420–422.
- Valenzuela A., Guerra R., Garrido A.* (1987): Silybin dihemisuccinate protects rat erythrocytes against phenylhydrazine-induced lipid peroxidation and hemolysis. *Planta Medica*, 1987; 53:402–405.
- Varzi H. N., Esmailzadeh S., Morovvati H., Avizeh R., Shahriari A., Givi M. E.* (2007): Effect of silymarin and vitamin E on gentamicin-induced nephrotoxicity in dogs. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 2007; 30:477–481.
- Vojtíšek B., Hronová B., Hamřík J., Janková B.* (1991): Milk thistle (*Silybum marianum*, L., GA-ERTN.) in feed rations administered to ketotic cows. *Veterinární Medicina*, 36, 321–330. (in Czech)
- Wilasrusmee C., Kittur S., Shah G., Siddiqui J., Bruch D., Wilasrusmee S., Kittur D. S.* (2002): Immunostimulatory effect of *Silybum Marianum* (milk thistle) extract. *Medical Science Monitor*, Nov; 8(11):BR439-43

ELŐKÍSÉRLETEK HÁZI MÉH (*APIS MELLIFERA*) GENOTIPIZÁLÁSÁRA ÉS SPERMIMUM MÉLYHÜTÉSÉRE

Tokár Alexandra^{1,2}, Stéger Viktor², Heltai Botond², Szepesi Kinga²,
Debnár Viktória Johanna³, Kerekes Andrea², Antal Anita^{1,2}, Bodó Szilárd^{1,2,3}

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

²NAIK Mezőgazdasági Biotechnológiai Kutatóintézet, Gödöllő

³NAIK Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom
*bodo.szilard@abc.naik.hu

Received – Érkezett: 14. 11. 2017.
Accepted – Elfogadva: 02.07. 2018.

Összefoglalás

A krajnai méh Kárpát-medencei állomány genetikai diverzitásának és tisztaságának felmérését kezdtük el genomikai alapon fejlesztett DNS markerek segítségével. A különböző családokban az anyák genotípusait STR markerek segítségével tudjuk meghatározni, és kiválasztani, mit érdemes hosszútávon *ex-situ* tárolni. A felolvasztott spermiumokkal méhanyák mesterségesen termékenyíthetők és visszaállíthatók, illetve irányított keresztezésekbe állíthatók az eltárolt vonalak. Ezért a herék spermiumainak kinyerésére és mélyhűtésére egy jól használható módszert kell kidolgoznunk. Kifejlesztettünk egy saját, sztereomikroszkópos preparálási módszert, az ivarsejteket a *szeminális vezikulumból* nyertük ki. A spermiumokat tartalmazó médiumot 2 percig 700g-vel centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk, és a csapadékot meghatározott mennyiségre hígítottuk, majd 3:2 arányban kevertük össze a krioprotektív anyagokkal (CPA): DMSO25%+BSS+tojássárgája; DMSO10%+BSS+tojássárgája, DMSO25%+Harbo+tojássárgája, DMSO10%+Harbo+tojássárgája. Megállapítottuk, hogy a DMSO-s keverék nem toxikus a spermiumok számára. A 10 μ l-nyi CPA-val kevert spermiumot 80 μ l hígítót, 10 μ l CPA-t tartalmazó 0,25 μ l-es műszalmákba töltöttük. Tört jégen történő inkubáció után a minták egyik felét közvetlenül a folyékony nitrogén tartalmazó tartályba helyeztük, a másik felét pedig programozható fagyasztógéppel 3°C/perc sebességgel, -40°C-ig hűtöttük. A felolvasztást 38,5°C-os vízfürdőben végeztük, majd a mintákat 38,5°C-on inkubáltuk 10 percig, majd a motilitást fázis kontraszt mikroszkóppal újból megvizsgáltuk. A 10%-os töménységű DMSO-s oldattal kevert spermiumok kivétel nélkül elpusztultak a fagyasztás során, míg a 25%-os koncentrációjú DMSO-s oldattal kevert spermiumok 80%-a (amelyeket programozott lassú hűtéssel fagyasztottunk) túlélte a kezelést, de a felolvasztást követően gyengébb motilitást mutattak.

Kulcsszavak: Mézelő méh, krajnai méh, mélyhűtés, sperma preparálás, genotipizálás

Abstract

Preliminary experiments for the genotyping of domestic bee (*Apis mellifera*) and sperm freezing

We started to chart the genetic diversity and purity of the Carpathian honeybee substance by using genomic DNA markers. In different families, genotypes of queen bee can be determined by using STR markers and we can choose which the best for long-term *ex-situ* storage is. We can use the frozen-thawed semen for artificial insemination of the queen bees and restore or use the stored lines in directional crossings. Therefore, we must devise a new, simply method for the extraction and frozen of the semen. We have developed a stereo-microscopic method of preparation; the gametes were obtained from the seminal vesicle. The medium containing the sperm was centrifuged at 700g for 2 min, the supernatant was removed and the precipitate diluted to a specific amount and mixed with cryoprotectant agents (CPA) 3: 2: DMSO25%+BSS+egg yolk; DMSO10%+BSS+egg yolk, DMSO25%+Harbo+egg yolk, DMSO10%+Harbo+egg yolk. We found that the DMSO mixture is non-toxic for sperm. 10 μ l of the semen mixed with CPA was filled into a 0.25 μ l of straw with 80 μ l of diluent and 10 μ l of CPA. After incubation on ice, one half of the samples were placed directly in the liquid nitrogen container and the other half was cooled to -40°C with a programmable freezer at 3°C/min. The thawing was done in a 38.5°C water bath. The samples were incubated at 38.5°C for 10 minutes and then the motility was re-examined by phase contrast microscopy. Semen mixed with 10% DMSO solution were killed by freezing, while 80% of sperm mixed with 25% DMSO solution frozen by programmed slow cooling survived the treatment but exhibited a lower motility after thawing.

Keywords: Honeybee, Carpathian bee, semen collection, cryopreservation, genotyping

Bevezetés

Magyarországon 1985-ben törzskönyvezték a krajnai méhet (*Apis mellifera carnica*), majd állami elismerést kapott 2001-ben. 1994 óta a tenyésztői rendelet szerint szabályozottan folyik a kereskedelmi forgalomba kerülő méhanyák és méhek fajtabélyeg- és teljesítményvizsgálata (Horváth és mtsai. 2013). Komoly veszélynek van kitéve a mézelő méh-populációk biológiai diverzitása, mivel nemzetközileg kereskednek a méhanyákkal és méhcsaládokkal, aminek következtében a fajok eredeti élőhelyén idegen genetikai anyag jelenik meg (Wegener, Bienefeld 2012). Előfordul, hogy a méhészek külföldi méhtenyésztőktől vásárolnak méhanyákat. Az idegen genetikai anyagot hordozó olasz és buckfast hibrid méhanyák veszélyeztetik a krajnai méh fenntartását. Az olasz méh könnyen keveredik a krajnai méhkel, mivel genetikailag közel állnak egymáshoz. Ettől eltérően a buckfast hibrid különböző tájegységekről és klímájú helyekről származik, közel-keleti és afrikai fajtákat is felhasználtak létrehozása során (Pritsch 2005), ezért a krajnai fajtához képest sok idegen tulajdonságot hordoz.

A hazánkban honos kiváló termelési és viselkedési tulajdonságokkal rendelkező krajnai méhfajta (*Apis mellifera carnica pannonica*) fenntartása és génmegőrzése nemzeti érdek (Zajác és mtsai. 2017).

Cikkünkben bemutatott kísérleteink a krajnai méh *ex-situ* fajvédelmét szolgáló módszerek fejlesztésére irányultak. A spermabank kialakítása céljára elsőként kidolgoztunk egy sztereomikroszkópos preparálásos módszert, hogy minél tisztább és jobb minőségű örökítő anyaggal tudjunk dolgozni. A sperma minták minőségét szubjektív alapon bíráltuk el, továbbá adaptáltuk egy méhspermán még nem alkalmazott fénymikroszkópos festési eljárást is, amellyel jól vizsgálható a spermiumok morfológiája (Čeřovský 1976). Azon heréket, melyeket kiválasztottunk a mélyhűtési eljárás kidolgozására genetikai vizsgálatnak vetettük alá, hogy tisztában legyünk vele, milyen genetikai anyagot tárolunk el. A kipreparált méh sperma mélyhűtésére Hopkins módszerét adaptáltuk (Hopkins 2010).

Anyag és módszer

A kísérleti állatok begyűjtése

A kísérleti állatok Gyömrőről származtak, egy őstermelői méhészetből. Alkalmanként a 30-50 db herét minden alkalommal délelőtt, a kísérlet napján gyűjtöttük be. A méheket, a kaptár megbontása után a keretekről szedtük össze a lehető legkíméletesebb módon, kézzel, egyedenként, és szállítódobozban szállítottuk őket a laboratóriumba.

A spermiumok preparálásának kidolgozása

A preparálás során eltávolítottuk a here fejét, majd torát. A potroh háti oldalán hosszában felvágtuk a szelvényeket, így a belső szervek láthatóvá váltak. Jól elkülöníthető a *mucosa gland* (MG) - nyálkamirigy, és az ahhoz szorosan kapcsolódó *szeminális vezikulum* (SV) - ondóhólyag, amely a spermiumokat tartalmazza. A kiemelt SV-t párosával, egy Petri-csészében előkészített 50 μ l-nyi 38,5°C-os spermahígító (BSS -Bee Semen Solution, Harbo) cseppbe helyeztük. Ezt követően a Petri-csésze körkörös mozgatásával homogenizáltuk az elegyet, végül pipettával felszívtuk és egyedileg, PCR csőben tároltuk el a mintákat. Motilitásukat fáziskontraszt mikroszkóppal ellenőriztük.

Sperma mélyhűtés, felolvasztás

Hopkins (2010) méhsperma gyors, illetve programozott fagyasztási módszerét kíséreltük meg adaptálni, ahol ugyanazt a CPA koncentrációt alkalmazva hasonlítottuk össze a két különböző hűtési sebesség hatását. A kipreparált spermiumokat tartalmazó médiumot 2 percig 700 g-vel centrifugáltuk, a felülúszót eltávolítottuk, és a csapadékot 30 μ l-re hígítottuk. Az ily módon előkészített, hígított spermiumokat 3:2 arányban kevertük össze a CPA-val. A következő CPA-kat használtuk:

1. DMSO25%+BSS+tojássárgája
2. DMSO10%+BSS+tojássárgája
3. DMSO25%+Harbo+tojássárgája
4. DMSO10%+Harbo+tojássárgája

A 10 μ l-nyi CPA-val kevert spermát 80 μ l hígítót, 10 μ l CPA-t tartalmazó 0,25ml-es műszalmákba töltöttük, majd a szalmákat tört jégre helyeztük 10mp-re. Ezt követően a minták egyik felét közvetlenül a folyékony nitrogént (LN₂) tartalmazó tartályba helyeztük; a másik felét

pedig először egy programozható fagyasztógépbe (Bio-Cool IV40 - Controlled Rate Freezer), ami 0°C-ról, 3°C/perces sebességgel, -40°C-ig hűtötte a spermiumokat.

A felolvasztás során 38,5°C-os vízfürdőbe helyeztük a szalmákat. A tartalmukat egy-egy PCR- csőben gyűjtöttük össze, majd termosztátba (38,5°C) helyeztük őket 10 percre.

Čerovský festés

A spermiumok megfestése révén vizsgálhatjuk fénymikroszkóppal a spermiumok morfológiáját. Čerovský festési eljárás során először kenetet készítettünk egy tárgylemezen. A fixáláshoz három különböző eljárást alkalmaztunk:

1. a sperma sósav nélküli fixálása
2. a sperma fixálása sósavval 1 percig
3. a sperma fixálása sósavval 2 percig

A következő lépésben 20 másodpercre kongóvörös oldatba, majd 2 másodpercre vizes kristályibolya oldatba helyeztük a lemezeket. Végezetül leöblítettük desztillált vízzel és levegőn megszáritottuk.

Genetikai vizsgálatok

Az anya genotipizálásához egy-egy anyától 20 db here lábait preparáltuk ki, majd teljes genomi DNS-t izoláltunk belőlük Genomic DNA Mini Kit (Tissue) (Geneaid Biotech Ltd, Tajvan) segítségével. Az egy kaptárból származó herék lábait egy 1,5 ml-es eppendorf csőbe tettük, majd mikro mozsártörővel összetörtük ezeket. Az így kapott törmelék képezte a DNS kivonás kiinduló anyagát. Az izolált DNS mennyiségét és minőségét ND-1000 (NanoDrop Technologies, Inc., USA) spektrofotométerrel ellenőriztük.

A mikroszatellitiek felsokszorosításához multiplex PCR reakcióban egy optimalizált recept alapján, fluoreszcensen jelölt primereket használtunk. A reakciókat 20µl végtérfogatban mértük össze és LifeECO PCR készülékben (Hangzhou Bioer Technology Co., Ltd, Kína) történt a reakció (1. ábra).

1. ábra: PCR program összetétele, hő profilja

Apis plex I	konc.	1 reakció (µl)
Templát	50ng/ul	3
Multiplex Master Mix	2x	10
A7 primer mix	10 µM	0,1
A88 primer mix	10 µM	0,08
A113 primer mix	10 µM	0,06
B24 primer mix	10 µM	0,2
Ap28 primer mix	10 µM	0,2
Ap43 primer mix	10 µM	0,5
Ap55 primer mix	10 µM	0,55
Ap66 primer mix	10 µM	0,05
A35 primer mix	10 µM	1
Desztillált víz		4,26
Végtérfogat		20

Apis plex II	konc.	1 reakció (µl)
Templát	50ng/ul	3
Multiplex Master Mix	2x	10
A25 primer mix	10 µM	0,2
Ac011 primer mix	10 µM	0,1
Ap90 primer mix	10 µM	0,2
Ap103 primer mix	10 µM	0,06
Ap226 primer mix	10 µM	0,06
Ap238 primer mix	10 µM	0,5
Ap243 primer mix	10 µM	0,2
Ap249 primer mix	10 µM	0,1
A14 primer mix	10 µM	0,35
A28 primer mix	10 µM	0,06
A107 primer mix	10 µM	0,25
Desztillált víz		4,92
Végtérfogat		20

PCR program		
95°C	15:00	1x
94°C	0:30	
58°C	1:00	35x
72°C	1:00	
72°C	10:00	1x

Figure 1: PCR program, the programmed heat profile

Az eredményeként kapott PCR termékek méretét kapilláris elektroforézissel határoztuk meg (ABI 3100 Genetic Analyzer ; Applied Biosystems Group, USA) készüléken. A kapott allélméretek Microsoft Excel táblázatban rögzítettük. Az allélméretek felhasználásával tudtuk elvégezni a populációgenetikai elemzést, STRUCTURE szoftverrel (Pritchard és mtsai. 2000).

Eredmények és értékelés

Spermiumok preparálása és mélyhűtése

A spermiumok preparálása során megállapítottuk, hogy megfelelő minőségű és mennyiségű spermium nyerhető ezzel a módszerrel, amely alkalmas a fagyasztásra. Előnye, hogy ezzel a módszerrel a még nem teljesen ivarérett méhektől (amiknél nem sikerülhet még a provokált ejakuláció) is kinyerhetünk spermát. A módszer időigényesebb mintha a hagyományos provokált ejakulációval szeretnénk spermát nyerni, viszont a sperma sokkal tisztább, mentes a nyálkától (*mucosa*).

A mélyhűtés előkészítése során megállapítottuk, hogy a hígítás során, ha óvatosan szuszpendáljuk a spermát, nem veszít a motilitásából. A motilitási eredmények alapján a 700g-vel történő 2 percig tartó centrifugálás sem károsítja a sejteket, így ez megfelelő módszer arra, hogy az általunk meghatározott mennyiségűre tudjuk hígítani a spermát.

A gyors mélyhűtés során a Hopkins cikkéből adaptált módszer - bár az *in vitro* toxicitási teszt alapján a sejtek motilisak maradtak, hűtőben tárolás után - nem járt pozitív eredménnyel. A fagyasztási kísérlethez 8 db mintát készítettünk ebből 4db 10%- és 4db 25%-os DMSO-t tartalmazott. Azonban a felolvasztás után egyik minta sem tartalmazott élő spermiumot.

A lassú fagyasztás során fagyasztás előtt, közvetlenül a fagyasztás után, és 10 perc 38,5°C-os temperálás után is megvizsgáltuk a különböző mintákban különböző koncentrációjú CPA-t tartalmazó minták motilitását (1. táblázat).

Eredményeink szerint a 10% DMSO-t tartalmazó minták nem éltek túl a fagyasztást. Ezzel szemben a 25% DMSO-t tartalmazó minták 80%-a túlélte a fagyasztást, ennek a fele közepes, a másik fele pedig gyenge motilitást mutatott. Néhány minta esetében a felolvasztás után közvetlenül nem mozogtak a sejtek, azonban 10 perces temperálást követően elkezdtek mozogni.

1. táblázat: Spermiumok motilitása fagyasztás előtt és felolvasztás után

Egyed	Friss	Motilitás	
		Fagyasztás után	
		10% DMSO	25% DMSO
1	4	0	0
2	4	0	2
3	4	0	3
4	4	0	3
5	3	0	2

1. table: Motility of sperm cells before and after freezing

Sikeresen adaptáltuk a Čerovský festési eljárást a méh spermiumokra. Megállapítottuk, hogy a mintát 2 percig kell sósavas kezeléssel fixálni, így kapjuk a legtisztább képet. Ezt a festési eljárást a már lefagyasztott, majd felolvasztott mintákon optimalizáltuk. Megállapítottuk, hogy amíg a BSS alapú fagyasztó médium esetében a minél hosszabb ideig tartó sósavas kezelés az értékelés szempontjából tisztább képet eredményezett, a Harbo alapú oldat esetében nem történt semmilyen változás. Tehát a festési eljárás során érdemes figyelembe venni, hogy milyen médiumban volt hígítva és mély hűtve a sperma. Ez a festési eljárás lehetővé teszi a spermiumok részeinek (akroszóma, fej, farok közép része, farok) morfológiai megkülönböztetését (2. ábra).

2. ábra: Méh spermium részei: 1. akroszóma, 2. nukleusz, 3. farok középrésze, 4. farok

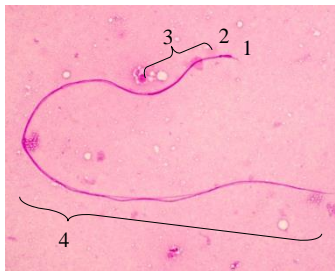


Figure 2: Parts of honey bee sperm cell: 1. acrosome, 2. nucleus, 3. midpiece, 4. tail

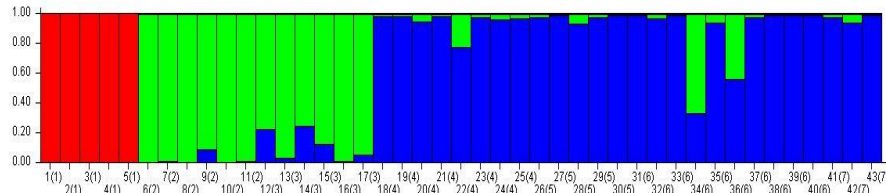
Genetikai vizsgálatok

Tiszta genomi DNS-t sikerült izolálnunk. Előzetes tesztek alapján bizonyítottuk, hogy 20 heréből származó DNS elegendő ahhoz, hogy meghatározzuk az anya teljes genotípusát. Ehhez az anya csonkított szárnyából izoláltunk DNS-t, majd az így meghatározott genotípusát hasonlítottuk össze a here fiasításából meghatározott genotípussal.

A markerekkel amplifikált allélméreték megfelelően polimorfnak bizonyultak az egyedazonosításhoz.

A méh minták STRUCTURE analízise során, minden méh minta számításba vétele esetén, a három csoportra bontást támogatta ($K=3$), amely esetben az ázsiai méh és az olasz méh vált külön az összes többi méh mintától (3. ábra). Az általunk gyűjtött mintákról tudtuk, hogy feltételezhetőleg melyik fajhoz tartoznak, ezt hasonlítottuk össze a kapott DNS profilokból származó eredményekkel. A hazai méhészetekben is előfordulnak nem tisztán krajnai méhre jellemző genotípusok, mert az anyanevelők méhei is keverednek olasz és buckfast méhekkal, amiket a genetikai vizsgálatokkal ki tudunk mutatni. Hibridnek akkor nevezzük, ha 25% felett van a két genotípus keveredése. Az általam gyűjtött három mintáról megállapítottuk, hogy krajnai genotípussal rendelkeznek. Az *ex-situ* tárolás során ez a módszer lehet a segítségünkre abban, hogy tudjuk milyen genetikai anyaggal rendelkező spermiumokat fagyasztunk le.

3. ábra: Genetikai profil alapján prediktált méhfélék, egyedi bontásban



K1. *A. cerana* (piros) (1-5: Ázsiai méhek Japánból), K2. *A. m. ligustica* (zöld). (6-11: buckfast méhek 2016, 12-17: olasz méhek 2016) K3. *A. m. carnica* (kék) (18-40: hazai méhészetekből származó méhek, 40-43: az általam gyűjtött minták)
Figure 3: Predicted bees in Apidae according to the genetic profile (shown individually)

K1. *A. cerana* (red) (1-5: Asian bees from Japan), K2. *A. m. ligustica* (green). (6-11: buckfast bees 2016, 12-17: italian bees 2016) K3. *A. m. carnica* (blue) (18-40: samples from local breeders, 40-43: samples collected by oneself)

Következtetések és javaslatok

Sikeresen kidolgoztunk egy spermiumpreparálási módszert, amivel a *szeminális vezikulumból* életképes, mozgó spermiumok nyerhetők ki. A minta nem kevert a nyálkával, a hímivarsejtek morfológiája jól vizsgálható fénymikroszkópos festés során, a sejtek fluoreszcens festékekkel jelölve áramlásos citometriával is vizsgálhatók. A mozgóképes sejtek alkalmasak hűtve és mély hűtve tárolásra.

Szemben a Hopkins ejakulált spermiumokkal végzett mélyhűtési kísérleti eredményeivel a 10% és 25%-os DMSO-t tartalmazó CPA-val végzett gyors mélyhűtés és a 10% DMSO-t tartalmazó CPA-val végzett programozott mélyhűtés a *szeminális vezikulumból* származó spermiumok esetén sikertelen volt.

A DMSO25%+Harbo+tojássárgája CPA-val történő programozott mélyhűtési eljárással a *szeminális vezikulumból* kinyert méh spermiumok sikerrel mély hűthetőek, a felolvasztás után mozgóképesek maradtak a spermiumok.

Megvizsgáltuk, hogy az emlős spermiumok morfológiai értékelésére alkalmas Čerovský festés alkalmas-e méh spermiumok értékelésére. A kísérleteinkben módosított fixálású Čerovský festést találtuk a gyakorlat számára ajánlhatónak.

Sikeresen genotipizáltuk a fagyasztás során felhasznált méheket, mely során megállapítottuk, hogy a krajnai méh fajtához tartoznak.

A herefiasításon keresztül az anya megölése nélkül meg tudjuk állapítani az anya genotípusát. A sikeres felolvasztás után lehetőségünk nyílik irányított keresztezések elvégzésére.

A *szeminális vezikulumból* származó spermiumok termékenyítőképességét mesterséges termékenyítés segítségével szükséges igazolni.

A membrán integritás kiértékelhetőségét a spermiumfej mérete jelentősen megnehezíti, még 100x objektív használata esetén is, ezért fluoreszcens, akroszóma épséget, illetve élő állapotot kimutató festékek használata indokolt lehet. Az ezekkel a fluoreszcens festékekkel jelölt hímivarsejtek alkalmasak lehetnek majd áramlásos citometriai vizsgálatokra is.

A mélyhűtési módszerrel tárolt hímivarsejtek termékenyítőképességét mesterséges termékenyítés segítségével szükséges igazolni.

A felolvasztást követően a mesterséges termékenyítés során a női nemi útba kerülő krioprotektív anyagoknak az anyára gyakorolt toxikus hatását is szükséges megvizsgálni.

Javasoljuk, hogy minden esetben határozzuk meg a fagyasztani kívánt méhanyák genotípusát.

Köszönetnyilvánítás

Köszönjük Salvó Szidóniának, Magyar Andreának, Frank Krisztiánnak a segítségét.

A kutatást támogatta: Új Nemzeti Kiválósági Program 2017

Irodalomjegyzék

- Čeřovský J. (1976): Metoda barvení kančích spermií pro morfologické hodnocení. Živoč. Vyr., 21, 361–366.
- Hopkins, B. K., C. Herr (2010): Factors affecting the successful cryopreservation of honey bee (*Apis mellifera*) spermatozoa. *Apidologie* 41: 548-556.
- Horváth J., Szalai T., Szalainé M. E. (2013): Hazai Pannon méhünk 2. *Méhészet* 61 (5): 10-11.
- Pritchard J., K., Stephens M., Donnelly P. J. (2000): Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155: 945-959.
- Pritsch, G. (2005): Kaposvári Méhésznepok. Szóbeli közlés
- Zajác E., Donkó K. S., Harka L., Hidas A., Horváth J., Szalainé M. E., Szalai T. (2017): A pannon méh (*Apis mellifera carnica pannonica*) hazai génmegőrzése., 203.-205.o., Génbanki kutatások régi használlataink védelmében Műhelytanulmányok a tudományos génmegőrzés tárgyköréből, Gödöllő
- Wegener, J., Bienefeld, K. (2012): Toxicity of cryoprotectants to honey bee semen and queens. *Theriogenology* 77(3): 600-607.

A SZARVASMARHA TŐGYÉNEK ÉS TŐGYBIMBÓJÁNAK ANATÓMIÁJA ÉS ULTRAHANGVIZSGÁLATA

Tóth Tamás¹, Kocsis Róbert², Pajor Ferenc¹, Póti Péter¹, Tózsér János¹

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

²Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft.
1093 Budapest, Bakáts utca 8.
utetamas.79@gmail.com

Received – Érkezett: 16. 02. 2018.
Accepted – Elfogadva: 02.09. 2018.

Összefoglalás

A szarvasmarha tőgyének és a tőgybimbójának anatómiájával és ultrahangvizsgálatával kapcsolatban csak kevés magyar szakirodalmi adat áll rendelkezésre. Ebben a tanulmányban a szerzők bemutatják a tőgy és a tőgybimbó anatómiai felépítését, a leggyakrabban használt ultrahangvizsgálati módszereket, valamint részletesen ismertetik az egészséges tőgy és tőgybimbó ultrahangvizsgálati leletét.

Kulcsszavak: szarvasmarha, tőgy, tőgybimbó, anatómia, ultrahang

Anatomy and ultrasonography of the bovine udder and teat

Abstract

There is only a small number of Hungarian literature available concerning the anatomy and ultrasound examination of the bovine udder and teat. In this paper, the authors present the anatomical structure of the udder and the teat, the most commonly used ultrasound methods, and details of the ultrasound examination of a healthy udder and teat.

Keywords: cattle, udder, teat, anatomy, ultrasonography

Bevezetés és irodalmi áttekintés

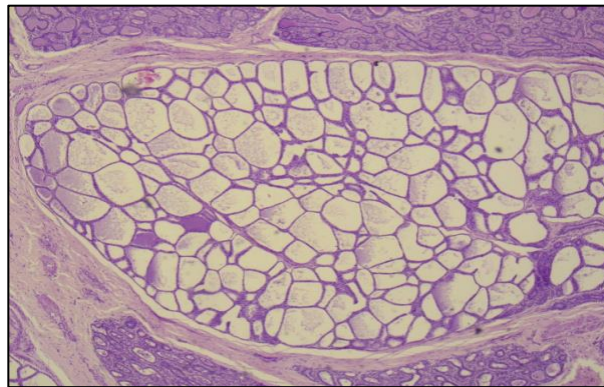
A tejelő szarvasmarhatelepeken a tőgyegészség folyamatos ellenőrzése nagyon fontos, hiszen egy telep éves árbevételének 5-7%-át is kiteheti a tőgygyulladások okozta veszteség (Ózsvári, 2012). A tőgygyulladások mellett gyakran előfordulnak a tej áramlását lassító, akadályozó elváltozások, amelyek a fejési idő meghosszabbodását okozzák. A tejáramlás zavarát okozó elváltozások leggyakrabban a tőgybimbó pars papillarisanak szűkülete következtében jönnek létre (Saratsis és mtsai 1993; Dinç és mtsai 2000; Condino és mtsai, 2010). A tőgygyulladás és különösképpen a tőgybimbó szűkületét okozó elváltozások diagnosztizálására az ultrahang az egyik legjobb és leggyakorlatiasabb vizsgálómódszer. Ez egy olyan gyorsan kivitelezhető non-invazív módszer, amellyel nemcsak az adott szerv felépítését, hanem annak működését is vizsgálni tudjuk. Ezzel a tanulmánnyal az volt a célunk, hogy a tőgyegészség gyakorlati munkáját

elősegítendően ismertessük a tőgy és a tőgybimbó anatómiai felépítését, az ultrahangvizsgálat módszereit valamint az egészséges tőgy és tőgybimbó egyes részeinek normál ultrahangos leírását.

A tőgy és a tőgybimbó anatómiai felépítése

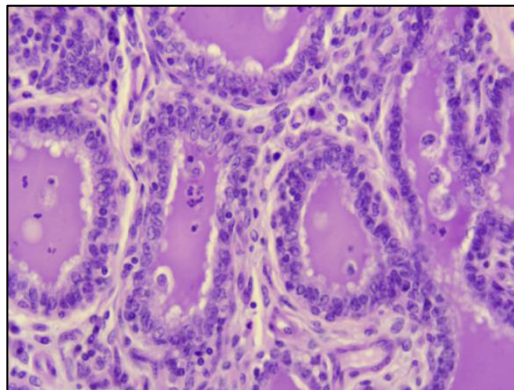
A tejmirigy a bőr egy módosult mirigye, ami az emlősállatok utódainak táplálására szolgáló tej elválasztását végzi (Zimmermann, 1918). A szarvasmarhák tőgyét a lágycsontok szalagok rögzítik a has alsó részéhez (Simon és mtsai 2000). A szarvasmarhák tőgye négy tőgynegyedből áll, amelyek anatómiailag és funkcionálisan elkülönülnek egymástól (Kovács, 1961). A tőgyet kívülről finoman szőrözött bőr borítja, ami laza, kevés zsírszövetet tartalmazó bőralatti kötőszövettel kapcsolódik a tőgy tartószerkezetét képező kötőszövetes tokhoz (Guzsal, 1967). Ebből a tokból vér- és nyirokerek, valamint idegeket magába foglaló sötétek térnek a tőgy mirigyállományába (Simon és mtsai 2000). Ezek a sötétek a tőgy interstitiumát alkotva a mirigy részét lebenyekre és lebenykékre osztják (Kovács, 1961; Guzsal, 1967). A tőgy mirigyállományát tubulo-alveolaris mirigyvégkamrák alkotják (1. és 2. kép).

1. kép: Tejjel kitöltött alveolaris mirigyvégkamrák laktáló tőgyben (Hematoxilin-eozin, 20x obj.)



Picture 1: Secretory alveoli at the lactating mammary gland (Hematoxylin-eosin, 20x obj.)
(Forrás: Saját kép)

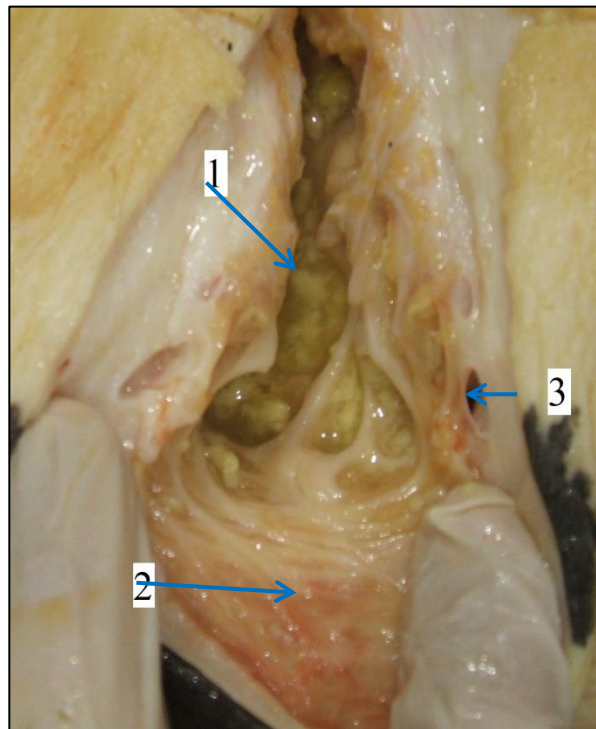
2. kép: A laktáció kezdeti szakaszában levő alveolaris mirigyvégkamrák. (Hematoxilin-eozin, 20x obj.)



Picture 2: Secretory alveoli at the early period of the lactation (Hematoxylin-eosin, 20x obj.)
(Forrás: saját kép)

A megtermelt tej az acinusokból az intra- és az interlobuláris tejszatornácskákon keresztül jut a nagy tejvezetékekbe (ductus lactiferus). A nagy tejutak az elülső tőgynegyedeken a tőgy lateralis falán, a hátsó tőgynegyedeken a tőgy caudalis falán a bőr alatt található. Tőgynegyedenként 8-12 darab nagy tejút a tőgy alján elhelyezkedő tejmedencébe (cisterna lactis s. sinus lactiferus) szájjazik be (Zimmermann, 1918; Kovács, 1961; Simon és mtsai 2000). A tejmedence ürege két részre különül el a proximalisan elhelyezkedő pars glandularisra és a distalis pars papillarisra (3. kép). A pars glandularis a tőgy mirigyállományában található tágas üreg. Míg a tőgybimbó üregét képző pars papillaris többé-kevésbé hengeres alakú, ami a tőgybimbó csúcsa felé elhegyesedik. A tejmedence két részének ürege egy szűkületen keresztül közlekedik egymással. Ezt a szűkületet a tőgybimbó alapjánál található körkörös futó Fürstenberg-féle vénagyűrű alkotja (3. kép) (Zimmermann, 1918; Kovács, 1961; Simon és mtsai 2000). A pars papillaris a tőgybimbó csúcsánál a bimbócsatornán (ductus papillaris) keresztül közlekedik a külvilággal.

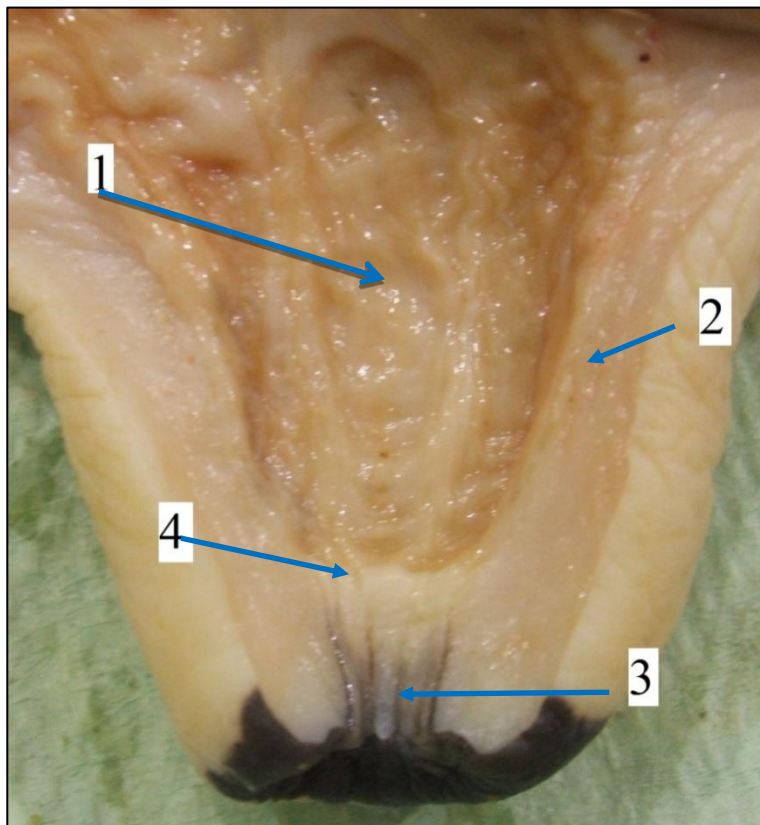
3. kép: A Fürstenberg-féle vénagyűrű anatómiai képe (1. pars glandularis, 2. pars papillaris, 3. Fürstenberg-féle vénagyűrű), Forrás: Saját kép



Picture 3: Anatomy of the venous ring of Fürstenberg (1. pars glandularis, 2. pars papillaris, 3. venous ring of Fürstenberg)

A tőgybimbót kívülről faggyú- és verejtékmirigyeket nem tartalmazó szörtelen bőr borítja (Guzsal, 1967). Ez a bőr a bimbócsatorna külső nyílásán (ostium papillare) keresztül a befordul a bimbócsatornába, ahol finom hosszanti lefutású redőket képez (Simon és mtsai 2000). Ezek a redők a bimbócsatorna belső nyílásánál a Fürstenberg-féle rosettát létrehozva sugárszerűen térnek szét a pars papillarisba (4. kép) (Zimmermann, 1918; Simon és mtsai 2000).

4. kép: A tőgybimbó anatómiai képe (1. tejmedence pars papillaris, 2. tőgybimbófal, 3. bimbócsatorna, 4. Fürstenberg-féle rosetta), Forrás: Saját kép



Picture 4: Anatomy of the teat (1. pars papillaris, 2. teat wall, 3. teat canal, 4. rosette of Fürstenberg)

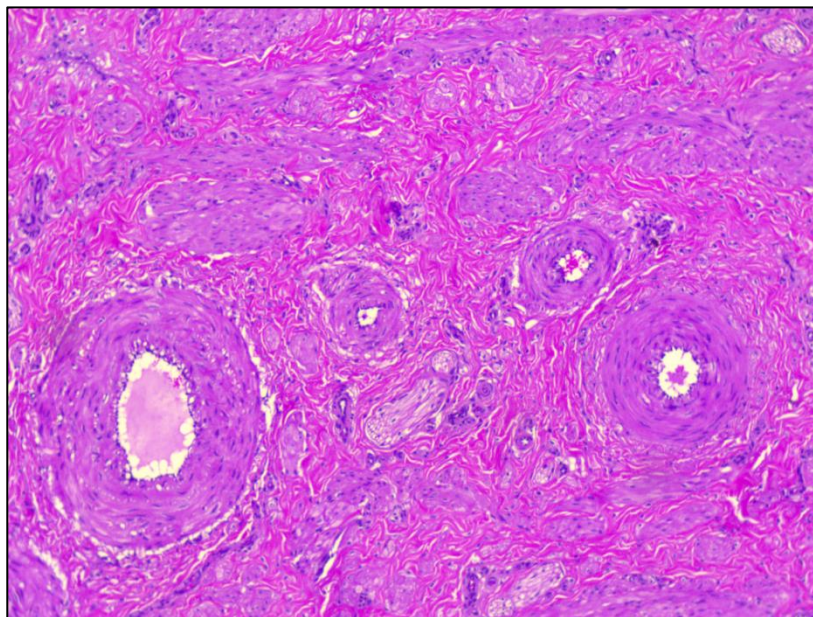
A Fürstenberg-féle rosettánál a bimbócsatorna többrétegű elszarusodó laphámja éles határral megy át a pars papillaris nyálkahártyájának kétrétegű hengerhámjába (5. kép) (Guzsal, 1967). A tőgybimbó fala három rétegre különül el. A belső réteg a pars papillaris üregét borító nyálkahártya, a külső réteg a bőr. A tőgybimbófal legvastagabb részét képező középső réteget sok körkörös elrendezésű simaizomköteget magába foglaló rugalmas rostokban és vérerekben gazdag kötőszövet alkotja (6. kép) (Zimmermann, 1918; Simon és mtsai 2000).

5. kép: A bimbócsatorna distalis részének háma többrétegű elszarusodott laphám (Hematoxilin eozin, 20x obj.), Forrás: Saját kép



Picture 5: Keratinized stratified squamous epithelium at the distal part of the teat canal (Hematoxilin eozin, 20x obj.)

6. kép: A tőgybimbófal rugalmas rostokban gazdag kötőszövetében simaizom kötegekkel körülvett muscularis vénák átmetszete. (Hematoxilin eozin, 20x obj.), Forrás: Saját kép



Picture 6: Smooth muscle around the veins in the fibrous connective tissue of the teat wall (Hematoxilin eozin, 20x obj.)

A tőgy és a tőgybimbó ultrahangvizsgálatának módszerei

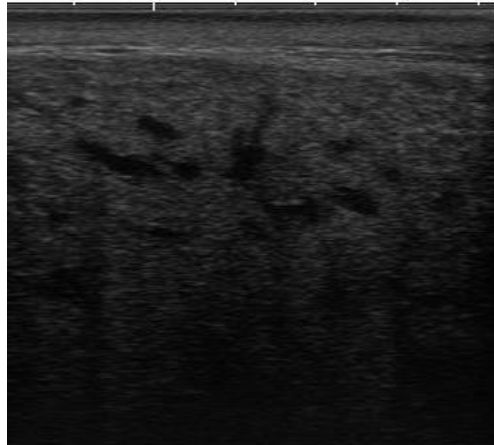
Számos vizsgálati módszert dolgoztak ki a tőgy és főleg a tőgybimbó ultrahangvizsgálatára. A mindennapi gyakorlatban két eljárási mód terjedt el. A legrégebbi eljárás az ún. direkt kontakt módszer. Ennél az eljárásnál a vizsgálófejet közvetlenül a tőgy vagy a tőgybimbó bőrére helyezik úgy, hogy a vizsgálófej és a bőr közé kontakt gélt tesznek. Ezzel a módszerrel a tőgy parenchymája és a tejmedence pars glandularisa látható jól. Viszont a tőgybimbófal 3 rétege nem különül el jól, valamint a tőgybimbóvégén levő képletek, mint a bimbócsatorna és a Fürstenberg-féle rosetta sem látható megfelelően (Ayadi és mtsai 2003; Santos és mtsai 2004; Fasulkov és mtsai 2014). A tőgybimbó ultrahangvizsgálatára leggyakrabban a vízfürdős módszer használják. Az eljárás lényege, hogy a tőgybimbót vízzel feltöltött tartályba merítik, majd a ultrahang-vizsgálófejet kontakt géll felhasználásával kívülről teszik a tartály falához. Ez az eljárás a legalkalmasabb a tőgybimbó valamennyi részének vizsgálatára (Cartee és mtsai 1986; Will és mtsai 1990; Húth, 2004; Santos és mtsai 2004; Klein és mtsai 2005; Seker és mtsai 2009;). A tőgybimbó vizsgálatára ismeretes még az ún. liquid technika is, amely során kívülről egy rugalmas kötést tesznek a tőgybimbóra a Fürstenberg-féle vénagyűrű magasságába, majd a bimbócsatornán át bevezetett szondán keresztül steril fiziológiás sóoldattal töltik fel a pars papillarist. A vizsgálófejet a direkt kontakt módszernél leírtak szerint használják. Ezzel a módszerrel a pars papillarist bélelő nyálkahártyát és az azon található apró elváltozásokat tudták vizsgálni (Santos és mtsai 2004).

A vizsgálatokhoz használt ultrahang-vizsgálófejek tekintetében az mondható el, hogy a tőgybimbó vizsgálatára a lineáris fejet, míg a tőgy vizsgálatára mind a lineáris-, mind a konvex-vizsgálófejet lehet használni. A tőgybimbó vizsgálatára a magasabb 5-7,5 MHz feletti frekvencia tartományt használják, amivel a tőgybimbó teljes keresztmetszete jól átlátható. Az alacsonyabb frekvenciával 5 MHz alatt a tőgyparenchyma mélyebben elhelyezkedő részeit lehet jobban vizsgálni.

A tőgy és a tőgybimbó normál ultrahangvizsgálati leírása

A tőgy mirigyállománya az ultrahangképen homogén echoszegény képletként figyelhető meg (7. kép). A parenchyma echogenitása aszerint változik, hogy az echodús kötőszövet és az echoszegény mirigyállomány milyen arányban van egymással. Az üszök és a szárazonálló tehének tőgyében a kötőszövet nagyobb aránya miatt az ultrahangkép echodúsabb. Ezzel ellentétben a tejtermelés során a mirigyes állomány mennyisége lesz nagyobb, így a tőgy ultrahangképe echoszegényebbé válik.

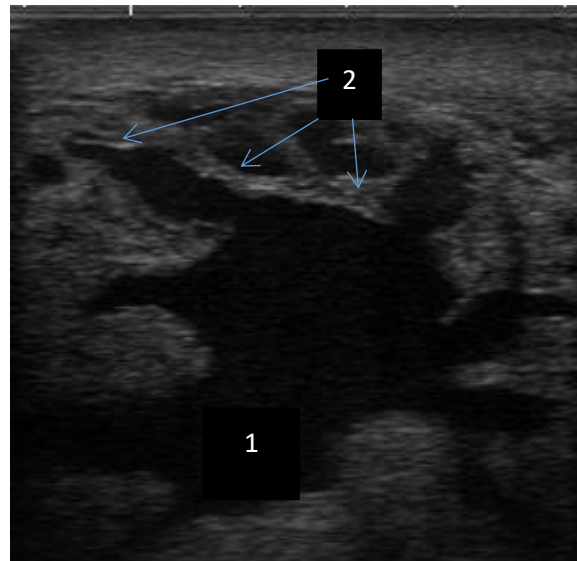
7. kép: A tőgy parenchyma ultrahangképe



Picture 7: Ultrasonography of the parenchyma of the mammary gland
(Forrás: saját kép)

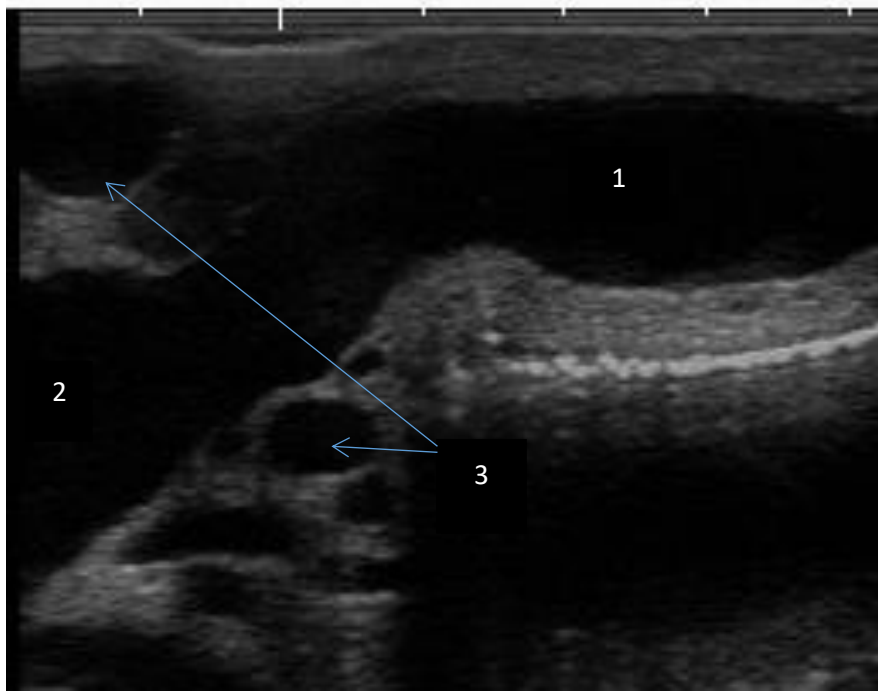
A mirigyállományban található változó nagyságú echomentes területek a vérereknek és nagyobb tejutaknak felelnek meg (8. kép) (Cartee és mtsai 1986; Franz és mtsai 2001). A tejmedence pars papillarisa és pars glandularisa echomentes képet mutat (9. kép) (Cartee és mtsai 1986; Šendaž és mtsai 1999; Ayadi és mtsai 2003) A kettő határán a nyálkahártyaredő vékony echodús képlet formájában nyúlik be a lumenbe. A tőgybimbó alapjánál a Fürstenberg-féle vénagyűrű egy nagyjából kerek keresztmetszetű echomentes képet ad (9. kép) (Šendaž és mtsai 1999; Franz és mtsai 2001).

8. kép: A tejmedence és a tejutak ultrahangképe



Picture 8: Ultrasonography of the galactophore cistern and the lactiferous duct (1. galactophore cistern, 2. lactiferous duct)
(Forrás: saját kép)

**9. kép: A Fürstenberg-féle vénagyűrű ultrahangképe
(1. pars papillaris, 2. pars glandularis, 3. Fürstenberg-féle vénagyűrű)**

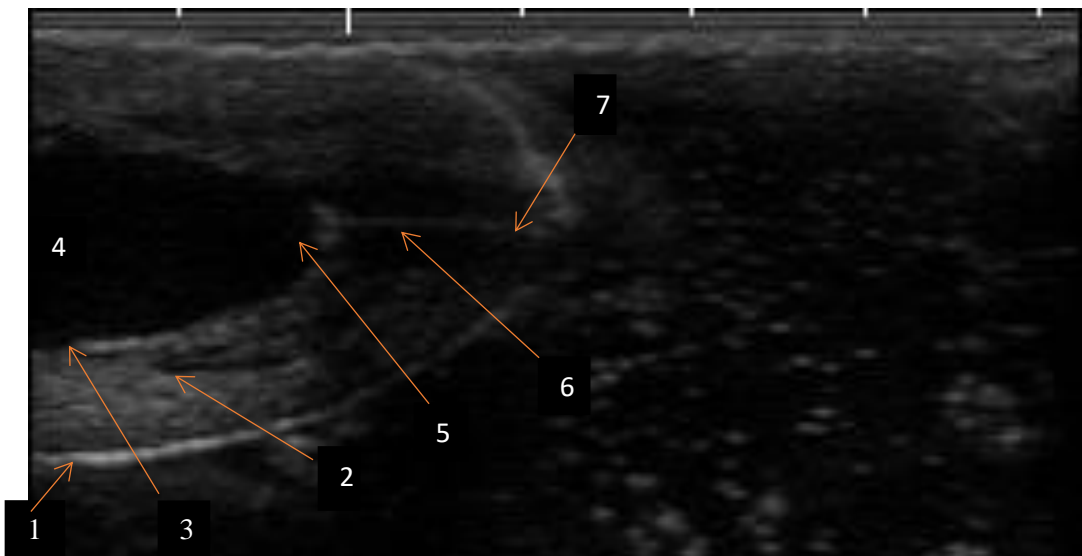


Picture 9: Ultrasonography of the venous ring of Fürstenberg (1. pars papillaris, 2. pars glandularis, 3. venous ring of Fürstenberg)
(Forrás: saját kép)

A tőgybimbó fala az ultrahangképen három rétegre különül el (10. kép). A tőgybimbófal belső rétegét a egy vékony echodús nyálkahártya alkotja (Cartee és mtsai 1986; Šendaž és mtsai 1999; Franz és mtsai 2001; Franz és mtsai 2009). A tőgybimbófal külső rétege a bőr egy vékony, világos, echodús vonalként látható. A tőgybimbófal középső rétegét képző izomzat és kötőszövet ultrahangképe homogén és echoszegény. Ebben a rétegben található vérerek kisebb-nagyobb echomentes képletként láthatók. A bimbócsatorna egy vékony, fehér echodús vonal, amit két oldalról vastag párhuzamos echoszegény réteg határol (10. kép) (Franz és mtsai 2001). A Fürstenberg-féle rosetta a pars papillaris echomentes üregébe enyhén beemelkedő echodús képletként figyelhető meg (10. kép) (Franz és mtsai 2009).

10. kép: A tőgybimbó ultrahangképe

(1. bőr, 2. izom és kötőszövet, egy vérér hosszanti átmetszete, 3. nyálkahártya, 4. a tejmedence pars papillaris, 5. a Fürstenberg-féle rosetta, 6. bimbócsatorna, 7. a bimbócsatorna külső nyílása)



Picture 10: Ultrasonography of the teat (1. skin, 2. muscle and connective tissue, longitudinal cross-section of a blood vessel, 3. mucosa of the pars papillaris, 4. lumen of pars papillaris, 5. rosette of Fürsenberg, 6. teat canal, 7. ostium papillare)

(Forrás: saját kép)

Következtetések és javaslatok

A tőgy és a tőgybimbó vizsgálatához elengedhetetlen azok anatómiai felépítésének pontos ismerete. Fontos, hogy az egyes részek vizsgálatát olyan módszerrel végezzük el, amivel az adott rész szerkezete és működése a legjobban tanulmányozható. Ezenkívül az ultrahangvizsgálat alapvető feltétele, hogy tisztában legyünk az egészséges tőgy és a tőgybimbó normál vizsgálati leletével. Így a kóros elváltozásokat kellő gyakorlat után könnyen felismerhetjük. Véleményünk szerint a jövőben elengedhetetlen lesz az ultrahang használata a tőgy egészségének vizsgálatára a tejelő szarvasmarhatelepeken.

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

Ayadi, M., Caja, G., Such, X., Knight, C.H. (2003): Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. J. Dairy Research, 70. 1-7.

- Cartee, R.E., Ibrahim, A.K., McLeary, D.* (1986): B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188.11. 1284-1287.
- Condino, M.P., Suzuki, K., Sato, K., Hyakutake, K., Taguchi, K.* (2010): Evaluation of a milk-flow assessment technique in dairy cows with normal teat canal or stenotic teat canal. *Am. J. Vet. Res.* 71.10. 1123-1126.
- Dinç, D.A., Şendağ, S., Aydin, I.* (2000): Diagnosis of teat stenosis in dairy cattle by real-time ultrasonography. *The Vet. Record*, 147. 270-272.
- Fasulkov, I., Vasilev, N., Karadaev, M., Dineva, G.* (2014): Visualization and measurement of teat structures in black and white cows through ultrasonography. *Mac. Vet. Rev.*, 37.1. 89-93.
- Franz, S., Hofmann-Parisot, M., Baumgartner, W.* (2001): Ultrasonography of the teat canal in cows and sheep. *The Veterinary Record*, 149. 109-112.
- Franz, S., Floek, M.* (2009): Ultrasonography of the bovine udder and teat. *Vet. Clin. Norh Am. Food Anim.*, 25. 669-685.
- Guzsal E.* (1967): Háziállatok szövettana. Mezőgazdasági kiadó, Budapest, 330-333.
- Húth B.* (2004): A gépi fejhetőség javítására irányuló szelekció lehetőségei a Magyartarka fajtában. PhD dolgozat, Kaposvár.
- Klein, D., Khol, J.L., Stüger, H.P., Baumgartner, W.* (2005): Ultrasonographic measurement of the bovine teat: Breed differences, and the significance of the measurements for udder health. *J. Dairy Res.*, 72. 296-302.
- Kovács Gy.* (1961): Háziállatok anatómiája 3. Mezőgazdasági kiadó, Budapest, 262-266.
- Ózsvári L.* (2012): A tögygyulladás és a szaporasági zavarok által okozott veszteségek nagysága a hazai termelés-ellenőrzött tejhasznosítású tehénállományokban. *Holstein Magazin*, 2. 26-32.
- Santos, D.A., Vicente, W.R.R., Canola, J.C., Léga, E.* (2004): Estudo da papila mamária em fêmeas bovinas (*Bos taurus* – Linnaeus, 1758) mediante as características ultra-sonográficas em modo-B (tempo real). *Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 41.5. 349-354.
- Saratsis, Ph., Grunert, E.* (1993): Ultraschalluntersuchungen zur Abgrenzung der räumlichen Ausdehnung von Zitzenstenosen und anderen Zitzenveränderungen beim Rind. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift*, 100. 159-163.
- Seker, I., Yuker, M., Saat, N., Ozmen, O.* (2009): Relationship between California Mastitis Test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. *Australian Vet. J.*, 87.12. 480-483.
- Şendağ, S., Dinç, D.A.* (1999): Ineklerde Memenin Ultrasonografisi. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 3. 545-552.
- Simon F., Szita G., Merényi I. (szerk.)* (2000): Tögyegészség és tehéntej-minőség. Mezőgazda kiadó, Budapest, 15-30.
- Will, S., Würgau, T., Fraunholz, J., Bouabid, C., Leidl, W.* (1990): Sonographische Befunde an der Papilla mammae des Rindes. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift*, 97. 403-406.
- Zimmermann Á.* (1918): A tögybimbó szerkezetéről. *Állatorvosi Lapok*, 13. 101-104.

A SZARVASMARHA TŐGYÉNEK ÉS TŐGYBIMBÓJÁNAK ULTRAHANGVIZSGÁLATA

Irodalmi összefoglaló

Tóth Tamás¹, Kocsis Róbert², Pajor Ferenc¹, Póti Péter¹, Tőzsér János¹

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

²Magyar Tejgazdasági Kísérleti Intézet Kft.
1093 Budapest, Bakáts utca 8.
utetamas.79@gmail.com

Received – Érkezett: 16. 02. 2018.
Accepted – Elfogadva: 02.09. 2018.

Összefoglalás

A szarvasmarha tőgyének és tőgybimbójának ultrahangvizsgálatával kapcsolatos szakirodalmi ismereteket a szerzők ebben a tanulmányban foglalták össze. Ismertetik a tőgy és a tőgybimbó ultrahangvizsgálata során használt módszereket. Részletesen tárgyalják, hogy egészséges állatokon mely képleteket milyen összefüggésben vizsgáltak, illetve az ultrahangot milyen kóros elváltozások diagnosztizálására használták fel.

Kulcsszavak: szarvasmarha, ultrahang, tőgy, tőgybimbó

Ultrasonography of the mammary gland and teat in cattle A review

Abstract

The authors summarized the knowledge of the literature about the ultrasonography of the udder and teat of the cattle. They describes the methodes of the ultrasound examination. They discusses about what kind of parameters were examined in the healty cows. And what kind of abnormal lesions were diagnosed by ultrasound.

Keywords: cattle, ultrasound, udder, teat

A szarvasmarhák tőgyegészségének helyzete döntően befolyásolja az adott telep tejtermelésének gazdaságosságát. Ezért fontos, hogy a tőgy és a tőgybimbó bármilyen kóros elváltozása minél gyorsabban legyen diagnosztizálva. Ennek érdekében a fizikális vizsgálat mellett igénybe vették a különféle kiegészítő diagnosztikai eljárási módokat is. Fontos, hogy a kóros elváltozások mellett az egészséges tőgy és tőgybimbó különféle képleteinek szerkezetét és működését is vizsgálták. Első ilyen vizsgálómódszer a röntgensugár volt, amivel a bimbócsatorna hosszát és átmérőjét vizsgálták (*Pier és mtsai 1956; McDonald, 1968a, 1968b*). Később a radiológiai vizsgálathoz kontrasztanyagot használtak, amit a bimbócsatornán keresztül juttattak be a pars papillarisba és annak alakját, illetve falának épségét vizsgálták (*Kubicek, 1972*). Ugyancsak kontrasztanyagot használtak a tejáramlást zavart okozó szűkületek (stenosisok) méretének és helyzetének diagnosztizálásához is (*Witzig és mtsai 1984; Alaçam és mtsai 1990*).

Az élő szervezetek vizsgálatában a múlt század közepén a röntgensugár mellett megjelent egy új képalkotó diagnosztikai módszer az ultrahangvizsgálat. Az ultrahangvizsgálat egy az élőszervezeteket nem károsító, ún. non-invazív eljárási mód, amely a légyszövetek esetében jóval hatékonyabb módszer a röntgenvizsgálatnál. Az ultrahang kontrasztanyag használata nélkül alkalmas az egyes szervek mozgásának és működésének tanulmányozására. A szarvasmarhák esetében az ultrahangot a leggyakrabban a vemhességvizsgálatokra (*Vassilev és mtsai 2005; Poock és mtsai 2011; Szelényi és mtsai 2012*), illetve az ivarzási rendellenességeket okozó kóros elváltozások diagnosztizálására használják. A női nemiszervek mellett a legjobban a hasúri szervek, a recésgyomor, az oltógyomor a belek és a máj vizsgálhatók ultrahanggal (*Braun, 2003, 2009*).

A tejmirigy ultrahangvizsgálata

A XX. század közepén elvégzett első ultrahangvizsgálatokhoz A-módú ultrahanggépet és 1 MHz-es vizsgálófejet használtak, amivel a tőgy struktúráit, a bőrt, a bőralatti kötőszövetet, a tőgy lateralis és medialis szalagjait valamint a parenchymát tudták vizsgálni (*Caruolo és mtsai, 1967*). A B-módú ultrahanggéppel elvégzett első vizsgálat során a tőgybimbóban a tejáramlás zavarát tanulmányozták (*Cartee és mtsai, 1986*). A tőgy és a tőgybimbó ultrahangvizsgálatára számos módszert dolgoztak ki. A direkt kontakt módszerrel a tőgyparenchymája és a pars glandularis látható a legjobban. Ennél az eljárásnál a vizsgálófejet közvetlenül a tőgy vagy a tőgybimbó bőrére helyezik. A vizsgálófej és a bőr közé kontakt gélt tesznek (*Ayadi és mtsai 2003; Santos és mtsai 2004; Braun és mtsai 2008; Fasulkov és mtsai 2014*). A tőgybimbó szerkezetének vizsgálatára a legalkalmasabb a vízfürdős módszer. Ebben az esetben a tőgybimbót egy vízzel feltöltött tartályba helyezik, majd a kontaktgéllal bekent vizsgálófejet kívülről teszik a tartály falához (*Cartee és mtsai 1986; Will és mtsai 1990; Húth, 2004; Santos és mtsai 2004; Klein és mtsai, 2005; Seker és mtsai 2009*). A Standoff módszer alkalmazásakor a tőgybimbóra egy géllal töltött latex óvszert húznak, majd az óvszerre kívülről teszik rá a kontakt géllal bekent vizsgálófejet. Ezzel az eljárással a tőgybimbó középső része vizsgálható jól (*Gleeson és mtsai 2002; Santos és mtsai, 2004*). Valamint a pars papillarist bélelő nyálkahártya és az azon található apró elváltozások vizsgálatára a legalkalmasabb a liquid technika. Ennél a módszerrel kívülről egy rugalmas kötést tesznek a tőgybimbóra a Fürstenberg-féle vénagyűrű magasságában, majd a bimbócsatornán át bevezetett szondán keresztül steril fiziológiás sóoldattal töltik fel a pars papillarist. A vizsgálófejet a direkt kontakt módszernél leírtak szerint használták. Ezzel a módszerrel a pars papillarist bélelő nyálkahártyát és az azon található apró elváltozásokat tudjuk vizsgálni (*Santos és mtsai 2004*). A vizsgálatokhoz használt ultrahang-vizsgálófejek tekintetében az mondható el, hogy a tőgybimbó vizsgálatára a lineáris fejet, míg a tőgy vizsgálatára mind a lineáris-, mind a konvex-vizsgálófejet lehet használni. A tőgybimbó vizsgálatára a magasabb 5-7,5 MHz feletti frekvencia tartományt használják, amivel a tőgybimbó teljes keresztmetszetében jól látható. Az alacsonyabb frekvenciával – 5 MHz alatt - a tőgy szövet mélyebb területét lehet jobban vizsgálni.

A tőgy és a tőgybimbó részeinek normál ultrahangos leírása

Számos cikk foglalkozott az egészséges tőgy és tőgybimbó szerkezetének vizsgálatával. Az ultrahangvizsgálattal a tőgy mirigyállománya homogén echoszegény képet adott. A tőgy echogenitásának mértéke aszerint változik, hogy az echodús kötőszövet és az echoszegény parenchyma milyen arányban van egymással (*Cartee és mtsai 1986; Franz és mtsai 2009*). A tőgyvéna (v. mammae) közvetlenül a bőr alatt elhelyezkedő széles echomentes képlet, aminek a

lumenében a véna faláról kiinduló 1-2 mm hosszú echodús véna billentyűk (valvulae venosae) láthatók. (Braun és mtsai 2008, 2012). A tejmedence pars glandularisa és a pars papillarisa echomentes képet mutat (Cartee és mtsai 1986; Šendaž és mtsai 1999; Ayadi és mtsai 2003). A tejmedence két részének határán egy vékony echodúsabb nyálkahártya redő képez szűkületet, valamint itt található a nagyjából kerek keresztmetszetű echomentes képlet a Fürstenberg-féle vénagyűrű (Šendaž és mtsai, 1999; Franz és mtsai 2009; Fasulkov és mtsai 2014). A tőgybimbó fala az ultrahangképen három rétegre különül el. A tőgybimbófal külső rétegét a vékony, világos, echodús bőr képezi. A tőgybimbófal középső rétege az izomzat és kötőszövet, ami egy vastag, homogén echoszegény réteget alkot. Ebben a rétegben a véretek kisebb-nagyobb echomentes képletként láthatók. A nyálkahártya, ami a tőgybimbófal belső rétegét alkotja egy vékony echodús vonal formájában látható (Cartee és mtsai 1986; Šendaž és mtsai 1999; Franz és mtsai 2009; Fasulkov és mtsai 2014). A bimbócsatorna egy vékony, fehér echodús vonal, amit két oldalról vastag párhuzamos echoszegény réteg határol (Franz és mtsai 2001). A Fürstenberg-féle rosetta a pars papillaris echomentes üregébe enyhén beemelkedő echodús képletként látható (Franz és mtsai 2009).

Az egészséges tőgy és tőgybimbó ultrahanggal vizsgált paramétere

A leggyakrabban az egészséges tőgybimbó bimbócsatorna hosszát és átmérőjét, a tőgybimbófal vastagságát, a pars papillaris átmérőjét illetve területét, a tőgybimbó átmérőjét, a tőgybimbóvég területét, a pars glandularis átmérője illetve területét vizsgálták. A szerzők azt vizsgálták, hogy fent említett paraméterek méretei és méretváltozásai hogyan alakulnak az egyes fajták, az életkor, a laktáció, a tejhozam, a tőgynegyedek vagy a fejés függvényében.

A szarvasmarhafajták vizsgálata során a svájci barna, a holstein-fríz, a szimentáli és a szimentáli-vörös-tarka keverék fajták a bimbócsatorna hossza és átmérője szignifikánsan ($P \leq 0,001$) különbözött egymástól. Viszont a tőgybimbófal vastagsága a svájci barna és a holstein-fríz fajtáknál azonos volt, de a szimentáli és szimentáli-vörös-tarka keverék fajták mérési adatai szignifikánsan ($P \leq 0,05$) különböztek egymástól és a másik két fajtától is (Klein és mtsai 2005). Ezzel ellentétben Seker és mtsai (2009) nem talált szignifikáns ($P < 0,001$) különbséget a holstein-fríz, a svájci barna és a szimentáli fajták között a bimbócsatorna hossza, a tőgybimbófal vastagsága és tőgybimbó átmérője tekintetében. A tehenek életkorának vizsgálata során a 3,9 évesnél fiatalabb tehenek rendelkeztek a legrövidebb bimbócsatornával, míg a 7 évnél idősebbek bimbócsatornája szignifikánsan ($P < 0,001$) a leghosszabb volt (Celik és mtsai 2008). A tejhozammal kapcsolatban Celik és mtsai (2008) megállapították, hogy a legkevesebb tejet termelő tehenek bimbócsatorna hossza volt a leghosszabb. Ayadi és mtsai (2003) a tejmedence területe és a termelt tej mennyisége között pozitív igen szoros korrelációt ($r=0,92$) mutatott. A laktáció vizsgálata során voltak, akik egy laktáción belül vizsgálták a tőgybimbó-paraméterek változását, amely során Stádnik és mtsai (2010) megállapították, hogy a bimbócsatorna hossza, a tőgybimbóvég területe és a tőgybimbófal vastagsága a laktáció második felében (150. laktációs nap után) szignifikánsan ($P < 0,05-0,0001$) magasabb volt, mint a laktáció első felében. Mások a különböző laktációs számú tehenek összehasonlításakor nem talált szignifikáns ($P < 0,05$) eltérést a bimbócsatorna átmérője és a tőgybimbófal vastagsága (Szencziová és mtsai 2013) valamint a bimbócsatorna hossza és a pars papillaris átmérője (Seker és mtsai, 2009) között. A tehenek négy tőgybimbójának bimbócsatorna hossza, a tőgybimbóvég szélessége, a tőgybimbófal vastagsága és a pars papillaris átmérője szignifikánsan ($P < 0,001$) nem tér el egymástól (Weiss és mtsai 2004; Celik és mtsai 2008; Stojnovic és mtsai 2012). Paulrud és mtsai (2005) a hátsó tőgynegyedeknél 5-10%-kal hosszabb bimbócsatornát mért, mint az elülsőknél. A fejés hatását a tőgybimbók egyes paramétereinek

változását a szerzők egy része az idő függvényében vizsgálta. Az egészséges teheneken leggyakrabban elvégzett vizsgálat során ultrahanggal megmérték a tőgybimbókat a fejés előtt, majd különböző idő elteltével a fejés után. A fejés előtt mért értékeket vették kiindulási, alap értéknek és azt vizsgálták, hogy ezek hogyan változnak a fejés után. A fejés hatására a bimbócsatorna hossza 10-32,9%-kal (Húth 2004; Szenciová és mtsai 2013; Strapák és mtsai 2017), a bimbócsatorna átmérője 9%-kal (Strapák és mtsai, 2017), a tőgybimbóvég és a záróizom területe 10%-kal (Húth, 2004), a tőgybimbófal vastagsága 15,6-18%-kal nőtt meg (Stádnik és mtsai 2010). A pars papillaris átmérője közvetlenül a fejés után az elülső tőgybimbóknál átlagosan 24,2%-os, a hátulsóknál 25,8%-os csökkenést mértek (Stojnovic és mtsai 2012). A fejés után eltérő idővel megismételt vizsgálatok alapján Strapák és mtsai (2017), valamint Szenciová és mtsai (2013) azt állapították meg, hogy a bimbócsatorna hossza 120 perc elteltével 3,6-14,9%-kal volt nagyobb, mint fejés előtt, Húth (2004) azt tapasztalta, hogy 2 óra eltelté után mért érték csaknem megegyezett a fejés előttivel. Volt olyan vizsgálati eredmény ami azt mutatta, hogy 8 óra elteltével is szignifikánsan ($P < 0,05$) hosszabb volt a bimbócsatorna fejés előtti méréshez képest (Nejijenhuis és mtsai 2001). A bimbócsatorna fejés hatására megnőtt átmérője 2 óra alatt az eredeti értékre alakult vissza (Fasulkov és mtsai 2014; Strapák és mtsai 2017). A tőgybimbóvég és a záróizom megnövekedett területe is 2 óra alatt a kiindulási értékre állt vissza (Húth, 2004). A tőgybimbófal vastagsága a fejés után csökkent, de ez a csökkenés olyan lassan ment végbe, hogy 1 óra elteltével még szignifikánsan ($P < 0,001$) nagyobb volt, mint a fejés előtt (Fasulkov és mtsai 2014), ezzel szemben Nejijenhuis és mtsai (2001) azt tapasztalták, hogy csak 6 óra elteltével csökkent a tőgybimbófal vastagság annyira, hogy már szignifikánsan ($P < 0,05$) nem tért el a kiindulási értéktől. A pars papillaris megkisebbedett átmérőjénél a szignifikáns ($P < 0,001$) különbség a 2 órás mérésnél is fenn állt (Fasulkov és mtsai 2014). A fejés hatásának vizsgálatával foglalkozó szakirodalom másik része azt vizsgálta, hogy a tőgybimbó-paraméterek hogyan változnak a különféle fejőgépek és vákuumhatások függvényében. A fejés után a bimbócsatorna hossza, a pars papillaris átmérője és a tőgybimbófal vastagsága nem különbözött szignifikánsan ($P < 0,001$) a különböző vákuum szintek esetében (Gleeson és mtsai 2004; Spanu és mtsai 2008), míg a tőgybimbócsúcs átmérője fejés után szignifikánsan ($P < 0,05$) nagyobb volt a magasabb vákuumértékek esetében (Hamann és mtsai 1993).

A tőgy és a tőgybimbó gyulladásának és kóros elváltozásainak ultrahangvizsgálata

A tőgygyulladás esetén a tőgy parenchymája inhomogénné válik, az echogenitása a gyulladást kiváltó kórokozótól függ. Echodúsabb képet kapunk, ha az interstitiumban a gyulladással sejtek száma megnő valamint akkor, ha a tej a tejutakban koagulál és sejt tartalma megnő (Franz és mtsai 2009). A tejutak mellett a tejmedence glandularis és papillaris részének is fokozódik az echogenitása (Javadi és mtsai 2011). A gázképző kórokozók hatására a parenchyma echogenitása csökken. Ilyenkor a tőgy mirigyállományában kisebb-nagyobb echomentes gázhalmozatok is láthatók (Flöck és mtsai 2006; Franz és mtsai 2009). Tályogképződés esetén a mirigyállományban többnyire kerek változó nagyságú echoszegény képlet látható, amit egy jól kirajzolódó, echodúsabb tok vesz körül (Flöck és mtsai 2006). A bőralatti kötőszövetben kialakult ödéma a szövetközi folyadék tartalmat megnöveli és ennek hatására az echogenitás csökken (Franz és mtsai 2009). A tőgygyulladás során vizsgált tőgybimbó-paraméterek azt állapították meg, hogy az egészséges tőgygyulladásnál a bimbócsatorna hossza szignifikánsan ($P \leq 0,001$) nagyobb, míg az átmérője szignifikánsan ($P \leq 0,05$) kisebb volt, mint a beteg tőgybimbó esetében (Klein és mtsai 2005). Ezzel szemben más szerző nem talált különbséget az egészséges és a beteg tőgybimbók között a bimbócsatorna hosszában (Hamana és mtsai 1994). A tőgybimbó kóros elváltozásai közül számos

cikk foglalkozik a tejáramlási zavarok ultrahangvizsgálatával. A tejutakban a tej áramlását zavarhatják a nyálkahártyájából kiinduló növedék, a tejalvadékok, az idegen testek, a genny vagy a tejsipoly is (Dinç és mtsai 2000; Verkatesan és mtsai 2016). A rendellenes tejáramlást okozó szűkületeket (stenosis) ultrahanggal a bimbócsatornában lehet a legnehezebben diagnosztizálni. A tőgybimbó pars papillarisában kialakult stenosis, ultrahanggal jól vizsgálható (Stocker és mtsai 1989; Dinç és mtsai 2000). A leggyakoribb tejáramlási zavart a tőgybimbó pars papillarisában a Fürstenberg-féle rosettánál és a Fürstenberg-féle vénagyűrűnél kialakult szövetszaporulatok okozzák (Saratsis és mtsai 1993). A stenosis okozó szövetszaporulat ultrahangos képe legtöbbször echodús, de néha echoszegény (Dinç és mtsai 2000). A tőgybimbó-paraméterek közül a bimbócsatorna hossza nőtt a tejáramlási zavar esetén, ez a növekedés akkor volt a legnagyobb, amikor a kiváltó okok közül a tejáramlás zavarát a bimbócsatorna repedése okozta (Geishauser és mtsai 2000). A tejáramlási zavarú tőgybimbók és a kontroll egészséges tőgybimbók bimbócsatorna hossza és átmérője, valamint a tőgybimbó vég átmérője nem különbözött egymástól (Querengässer és mtsai 2001).

A tőgy és a tőgybimbó 3D- és Doppler ultrahangvizsgálata

Az ultrahanggépek legújabb generációi közé tartozó 3D-ultrahanggal a vizsgált szervről háromdimenziós képet tudunk készíteni, amivel a tőgy és a tőgybimbó egyes részeit – a bimbócsatornát, Fürstenberg-féle rosettát, tejmedence pars glandularisát és pars papillarisát – térben lehet vizsgálni (Franz és mtsai 2004, 2006). illetve a Doppler- vizsgálati móddal a szervekben a folyadékok áramlását tudjuk vizsgálni. A tőgy vizsgálatokor a hagyományos ultrahanggal vizsgálva azonos echomentes képletekként megfigyelhető vérerek és a nagyobb tejutak a Doppler segítségével könnyen elkülöníthetők egymástól (Braun, 2008).

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

- Alaçam, E., Dinç, D.A., Güler, M., Elma, E. (1990): Vorkommen und röntgenologische Untersuchungen verschiedener Zitzenveränderungen bei Milchkühen. Deutsche Tierärztl. Wochenschrift 97. 523-525.
- Ayadi, M., Caja, G., Such, X., Knight, C.H. (2003): Use of ultrasonography to estimate cistern size and milk storage at different milking intervals in the udder of dairy cows. J. Dairy Research, 70. 1-7.
- Braun, U. (2003): Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. The Veterinary Journal, 166. 112-124.
- Braun, U., Hoegger, R. (2008): B-mode and Doppler ultrasonography of the milk vein in 29 healthy Swiss braunvieh cows. Veterinary Record, 163. 47-49.
- Braun U. (2009): Ultrasonography of the liver in cattle. Vet. Clin. Food Anim., 25. 591-609.
- Braun, U., Foster, E. (2012): B-mode and colour Doppler sonographic examination of the milk vein and musculophrenic vein in dry cows and cows with a milk yield of 10 and 20 kg. Acta Veterinaria Scandinavica, 54:15. 1-5.
- Caruolo, E.V., Mochrie, R.D. (1967): Ultrasonograms of lactating mammary glands. J. Dairy Sci. 50. 225-230.

- Cartee, R.E., Ibrahim, A.K., McLeary, D.* (1986): B-mode ultrasonography of the bovine udder and teat. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 188.11. 1284-1287.
- Celik, H.A., Aydin, I., Colak, M., Sendag, S., Dinc, D.A.* (2008): Ultrasonographic evaluation of age related influence on the teat canal and the effect of this influence on milk yield in Brown Swiss cows. *Bull. Vet. Inst. Pulawy*, 52. 245-249.
- Dinç, D.A., Şendağ, S., Aydin, I.* (2000): Diagnosis of teat stenosis in dairy cattle by real-time ultrasonography. *The Vet. Record*, 147. 270-272.
- Fasulkov, I., Vasilev, N., Karadaev, M., Dineva, G.* (2014b): Visualization and measurement of teat structures in black and white cows through ultrasonography. *Mac. Vet. Rev.*, 37.1. 89-93.
- Flöck, M., Winter, P.* (2006): Diagnostic ultrasonography in cattle with diseases of the mammary gland. *The Veterinary Journal*, 171. 314-321.
- Franz, S., Hofmann-Parisot, M.M., Baumgartner, W.* (2004): Evaluation of three-dimensional ultrasonography of the bovine mammary gland. *Am. J. Vet. Res.*, 65.8. 1159-1163.
- Franz, S., Hofmann-Parisot, M.M., Baumgartner, W.* (2006): 3D-Sonographie beim Rind: Darstellung der Zitzenstrukturen. *Tierärztl. Prax.*, 34. 73-76.
- Franz, S., Floek, M.* (2009): Ultrasonography of the bovine udder and teat. *Vet. Clin. Norh Am. Food Anim.*, 25. 669-685.
- Geishhauser, T., Querengässer, K.* (2000): Investigations of teat canal length in teats with milk flow disturbances. *J. Dairy Sci.*, 83. 1976-1980.
- Gleeson, D.E., O'Callaghan, E.J., Rath, M.V.* (2002): Effect of milk on bovine teat tissue as measured by ultrasonography. *Irish Veterinary Journal*, 55. 628-632.
- Gleeson, D.E., O'Callaghan, E.J., Rath, M.V.* (2004): Effect of liner design, pulsator setting, and vacuum level on bovine teat tissue changes and milking characteristics as measured by ultrasonography. *Irish Veterinary Journal*, 55.5 289-296.
- Hamana, K., Motomura, Y., Yasuda, N., Kamimura, S.* (1994): Bovine teat morphology and ultrasonic tomography related to milk quality and bacteria. In *Proceedings 18th World Buiatrics Congress: 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics*, Bologna, Olaszország, 377-380.
- Hamann, J., Mein, G.A., Wetzel, S.* (1993): Teat tissue reactions to milking: effects of vacuum level. *J. Dairy Sci.*, 76.4 1040-1046.
- Húth B.* (2004): A gépi fejhetőség javítására irányuló szelekció lehetőségei a Magyartarka fajtában. PhD dolgozat, Kaposvár.
- Javadi, T., Acorda, J.A.* (2011): Ultrasound features and echo mean values of udder and teat in dairy cows with mastitis. *Philipp J. Vet. Anim. Sci.* 37.2. 167-176.
- Klein, D., Khol, J.L., Stüger, H.P., Baumgartner, W.* (2005): Ultrasonographic measurement of the bovine teat: Breed differences, and the significance of the measurements for udder health. *J. Dairy Res.*, 72. 296-302.
- Kubicek, J.* (1972): Die röntgenologische Darstellung der Zitze des Rindes. Beitrag zur Klinik der Milchabflußstörungen. *Tierärztliche Umschau*, 27. 119-124.
- McDonald, J.S.* (1968a): Radiographic method for anatomic study of the teat canal: changes with lactation age. *Am. J. Vet. Res.*, 29. 1207-1210.
- McDonald, J.S.* (1968b): Radiographic method for anatomic study of teat canal: observations on 22 lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.*, 29. 1315-1319.
- McDonald, J.S.* (1975): Radiographic method for anatomic study of the teat canal: changes between milking periods. *Am. J. Vet. Res.*, 36. 1241-1242.
- Neijenhuis, F., Klungel, G.H., Hogeveen, H.* (2001): Recovery of cow teat after milking as determined by ultrasonographic scanning. *J. Dairy Sci.* 84. 2599-2606.

- Paulrud, C.O. (2005): Basic concepts of the bovine teat canal. *Vet. Res. Commun.*, 29. 215-245.
- Pier, A.C., Schalm, O.W., Hage, T.J. (1956): A radiographic study of the effects of mechanical milking and machine vacuum on the teat structures of the bovine mammary gland. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 129.8. 347-351.
- Poock, S.E., Wilson, D.J. (2011): A review of the use of ultrasound for reproductive purposes in beef cattle. *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle August 31-September 1. Joplin, MO.*
- Querengässer, J., Geishauser, T., Querengässer, K., Bruckmaier, R., Fehlings, K. (2002): Investigations on milk flow and milk yield from teats with milk flow disorders. *J. Dairy Sci.* 85. 810-817.
- Rambadu, K., Sreenu, M., Suresh Kumar, R.V., Rao, T.S.C. (2008): Ultrasonography of the udder and teat in buffaloes: a comparison of four methods. *Buffalo Bulletin*, 27.4. 269-273.
- Santos, D.A., Vicente, W.R.R., Canola, J.C., Léga, E. (2004): Estudo da papila mamária em fêmeas bovinas (*Bos taurus* – Linnaeus, 1758) mediante as características ultra-sonográficas em modo-B (tempo real). *Brazilian J. Vet. Res. Anim. Sci.*, 41.5. 349-354.
- Seker, I., Yüker, M., Saat, N., Özmen, O. (2009): Relationship between California Mastitis Test score and ultrasonographic teat measurements in dairy cows. *Australian Vet. J.*, 87.12. 480-483.
- Şendağ, S., Dinç, D.A. (1999): İneklerde Memenin Ultrasonografisi. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 3. 545-552.
- Spanu, C., Reinemann, D.J., Momont, H., Cook, N., Ruegg, P.L., Bade, R.D. (2008): Ultrasonic assessment of teat tissue congestion. *ASABE Meeting Presentation*, 083805.
- Stádnik, L., Louda, F., Bezdíček, J., Ježková, A., Rákos, M. (2010): Changes in teat parameters caused by milking and their recovery to their initial size. *Archiv Tierzucht*, 53.6. 650-662.
- Stojnovič, M., Alagič, D. (2012): Machine milking and dairy changes of cow's teat condition. *Acta Agri. Slovenica*, 3. 303-307.
- Stocker, H., Bättig, M., Duss, M., Zähler, M., Flückiger, M., Eicher, R., Rüschi, P. (1989): Die Abklärung von Zitzenstenosen beim Rind mittels Ultraschall. *Tierärztl. Prax.*, 17. 251-256.
- Strapák, P., Strapáková, E., Rušinová, M., Szencziová, I. (2017): The influence of milking on the teat canal of dairy cows determined by ultrasonographic measurements. *Czech. J. Anim. Sci.* 62.2 75-81.
- Szencziová, I., Strapák, P., Stádnik, L., Ducháček, J., Beran, J. (2013): Relationship of udder and teat morphology to milking characteristics and udder health determined by ultrasonographic examinations in dairy cows. *Ann. Anim. Sci.*, 13.4. 783-795.
- Vassilev, N., Yotov, S., Dimitrov, F. (2005): Incidence of early embryonic death in dairy cows. *Trakia J. Sci.*, 3.5. 62-64.
- Verkatesan, M., Sumathi, D., Selvaraj, P., Vijayarani, K., Nambi, A.P. (2016): Comparison of clinical and ultrasonographic diagnosis of milk flow disorders in hand milking dairy cows. *Indian Vet. J.*, 93.8. 72-74.
- Weiss, D., Weinfurter, M., Bruckmaier, M. (2004): Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87. 3280-3289.
- Will, S., Würgau, T., Fraunholz, J., Bouabid, C., Leidl, W. (1990): Sonographische Befunde an der Papilla mammae des Rindes. *Deutsche Tierärztl. Wochenschrift*, 97. 403-406.
- Witzig, P., Hugelshofer, J. (1984): Abklärung von Zitzenstenosen beim Rind mit Hilfe des Dopplerkontrastströntgens. *Schweizer Arch. Tierheilkunde*, 126. 155-163.