

MTA Doktori értekezés tézisei

**A fenotípus, a genotípus és a környezet ellenőrzésével megvalósított
precíziós állattenyésztési kutatások**

Gáspárdy András

Budapest

2024

Tartalomjegyzék

	oldal
1. BEVEZETÉS	4.
1.1. A kutatások előzménye	4.
1.2. Az értekezés felépítése, célkitűzései	4.
2. ANYAG ÉS MÓDSZER	6.
2.1. A fenotípus ellenőrzésével megvalósított kutatásban	6.
2.1.1. A fő tejalkotók vizsgálata	6.
2.1.2. A tej elektromos vezetőképességének vizsgálata	7.
2.1.3. A kérődzés aktivitásának vizsgálata	8.
2.2. A genotípus ellenőrzésével megvalósított kutatásban	8.
2.2.1. A prion gén génikus változatossága vizsgálata	8.
2.2.2. A mtDNS kontroll régiójának vizsgálata a zaupel juh utódfajtáiban	9.
2.2.3. A mtDNS kontroll régiójának vizsgálata a székely ló rekonstruált állományában	10.
2.3. A környezet ellenőrzésével megvalósított kutatásban	10.
2.3.1. A mesterséges fénykiegészítés hatása a vérplazma melatonin koncentrációjára	10.
2.3.2. A mesterséges fénykiegészítés hatása a felszór mechanikai tulajdonságaira	11.
3. EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉSÜK ÉS LEHETSÉGES FELHASZNÁLÁSUK	12.
3.1. A fenotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában	12.
3.1.1. A fő tejalkotók energiamennyiségének esetében	12.
3.1.2. A tej elektromos vezetőképességének esetében	13.
3.1.3. A kérődzés aktivitása esetében	14.
3.2. A genotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában	16.
3.2.1. A prion gén génikus változatossága esetében	16.
3.2.2. A zaupel utódfajták közös eredete esetében	16.
3.2.3. A rekonstruált székely ló matrilineális összetétele esetében	18.
3.3. A környezet ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában	19.
3.3.1. A vérplazma melatonin koncentrációja esetében	19.
3.3.2. A felszór mechanikai tulajdonságai esetében	20.
4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK	21.
5. A TÉZISEKET ALÁTÁMASZTÓ LEGJELENTŐSEBB SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE	22.
6. IRODALOMJEGYZÉK	23.
Köszönetnyilvánítás	26.

1. BEVEZETÉS

1.1. A kutatások előzménye

Az utóbbi évtizedekben az intenzív, nagyüzemi termelés és a mesterséges, iparszerű környezet egyre megterhelőbbé vált az állati szervezetre és ez az állat gyakori megbetegedéséhez, kóros viselkedésének kialakulásához vezetett, ami már erős etikai aggályokat is felvetett (Werkheiser, 2018). Ezt az állapotot felismerve, kötelessége az emberiségnek fokozottabban, mint korábban újratemteni és megőrizni az ember és az állat közös harmóniáját. Ennek érdekében fogalmazódtak és szigorodtak meg az állatvédelmi intézkedések (Györkös és mtsai, 2008), illetőleg a terjedőben lévő precíziós állattenyésztésnek (PLF, *Precision Livestock Farming*) köszönhetően áll át a termelés folytathatóvá és állatközpontúvá, amelyben az optimalizált termelés mellett megőrződik a termelő állatok egészsége és a termelés fajlagos környezetterhelése is csökken (Komlósi, 2012).

Európában és az Egyesült Államokban aktív iparágak fejlődtek ki és működnek a PLF termeléshez kapcsolódóan. Kifejlesztett eszközök, mint például kamerák, különféle érzékelők, valós idejű helymeghatározó rendszerek sokasága áll rendelkezésre, illetőleg számítógépes programok az így nyert digitális jelek feldolgozására, a döntéshozatal előkészítésére (Kleen és Guatteo, 2023). Az utóbbi két évtizedben Magyarországon is örvendetesen megjelentek a precíziós állattenyésztés eszközei, főként nagyüzemi telepeken, ahová a nemzetközi fajták tartásához az ezeket kiszolgáló importált technológia, *knowhow* is megérkezett. A Kormány az 1456/2017. (VII. 19.) Korm. határozattal döntött a Digitális Jólét Program kibővítéséről (Digitális Jólét Program, 2019). Magyarország Digitális Agrár Stratégiája céljának teljesüléséhez szükséges, hogy a precíziós gazdálkodás – beleértve a precíziós állattenyésztést/állattartást – minél szélesebb körben alkalmazásra kerüljön.

1.2. Az értekezés felépítése, célkitűzései

A PhD fokozatom megszerzése utáni kutatómunkám precíziós állattenyésztés témakörébe sorolható eredményeimet mutatom be MTA doktori értekezésemben. Ezek önállóak, egyikük sem PhD-hallgatóimmal közösen végzett kutatások eredményei, mindemellett, saját kutatásaimba igyekeztem együttműködőket bevonni hazánkból, és külföldről is. Nagy segítséget nyújtottak ebben munkahelyem, az Állatorvostudományi Egyetemen dolgozó munkatársaim, valamint a magyar- és idegen nyelvű képzésében résztvevő szakdolgozatos hallgatóim. Így a hazai pályázati források biztosította lehetőségek mellett külföldi vizsgálatokra is alkalom nyílt, amelyek eredményeiről rangos lapokban számolhattunk be a nemzetközi nyilvánosság előtt. Társszerzők kerültek ki Ausztriából, Izraelből, Írországból, Norvégiából és Szlovéniából, és természetesen hazánkból is, összesen hat különböző intézményből.

A precíziós állattenyésztés Berckmans (2017) megfogalmazásában „*az állategyedek egészségének, jóllétének, termelésének és szaporodásának, valamint az egyedre érő környezeti hatásoknak a folyamatos, automatizált és valós idejű nyomon követése*”. Ezzel a definícióval egyetértve a benne megfogalmazott területeken folytattam le vizsgálataimat és készítettem el MTA doktori értekezésemet. Kutatásokat végeztem az egyedek egészségének és jóllétének *online* monitorozásában, kutatásokat végeztem az egyedek termelésének és az egyedeket érő környezeti hatás (és ennek következményei) monitorozásában már a 2000-es évek elejétől kezdődően. Vannak szerzők (Gengler, 2019; Miles, 2019), akik a genom-vizsgálatokat is a precíziós állattenyésztés részeként tartják nyilván, ezért, értekezésemben az állategyedek örökítő anyagát is értékeltem a genetikai diverzitás leírása és pontosabb fönntarthatósága érdekében.

A korábbiak szerint felvázolva MTA doktori értekezésem három fő részből áll. A precíziós állattenyésztési kutatásaimon belül elkülönül a fenotípus ellenőrzésével megvalósított, a genotípus ellenőrzésével megvalósított és a környezet ellenőrzésével megvalósított kutatási rész. A kutatások

állat alanyai fajok, fajtájuk és hasznosításuk szerint különbözőek; a holstein-fríz a szakosított tejhasznú szarvasmarhát, a juhajták (waldschaf, bovec, cikta) és a székely ló a vegyes hasznosítású őshonos állatokat, míg az angol telivér a szintén intenzív galopp lovat jeleníti meg. Szeretném hangsúlyozni a történelmi fajták megjelenését a dolgozatomban, hiszen a precíziós állattenyésztés nem kizárólagosan az intenzív termelési környezet sajátja.

A fenotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások célkitűzései

Az első cél a három fontos tejalkotó (tejcukor, tejfehérje és tejszír) napi energiatartalmának meghatározása volt a teljes laktáció során, hogy elsőként írjuk le ezek abszolút és relatív változásait a kimagaslóan nagy hozamú tejhasznú tehenelekben. Ennek kiszámításához a fejésenkénti *online* mért beltartalmi értékeket és a tejmenyiséget használtuk föl.

A második cél a tej nagyüzemi körülmények között, *online* módon gyűjtött elektromos vezetőképességének (EC) vizsgálata volt az egészséges és klinikai tőgygyulladással diagnosztizált tehenelekben a laktáció során. A köztük lévő különbséget, az EC genetikai paramétereit (öröklődhetőség és ismételhetőség), valamint az elektromos vezetőképességre gyakorolt apa hatást becsültük meg.

A harmadik cél a frissen ellett tehének jóllétének és általános egészségi állapotának fölmérése a kérődzési tevékenységük, a tejtermelésük és az élősúlyuk változásának követésével az „egészséges napok” és a „beteg napok” során két kóros állapot (szubklinikai hiperketonaemia, SHK és méhbetegségek, UD) bekövetkezésekor.

A genotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások célkitűzései

Az első kutatásban célunk az volt, hogy valamennyi hazai őshonos juhajtában megállapítsuk a prion haplotípusok és -genotípusok gyakoriságát, valamint a kockázati kategóriákat, és összevessük azokat a 10 évvel korábbi eredményekkel a prevenció program hatékonyságának bizonyítása érdekében. Újdonságként megállapítjuk a prion gén génikus változatosságát a káros kodonok jelenlétének precízebb kimutatása céljából. Az entrópia pontosabb és gyakorlatiasabb kifejezésére bevezettük a relatív Shannon információs indexet.

A második kutatásban hipotézisünk az volt, hogy a modern genetikai ismeretek birtokában képesek leszünk a közös gyökereket kimutatni a közös eredetűnek tartott fajtákban. Ennek értelmében vizsgáltuk a waldschaf, a bovec és cikta fajták anyai genetikai hátterét az mtDNS kontroll régiójának (CR) szekvenciasorrendje alapján, mely információ alapot teremt a zaupel fajtacsoport genetikai jellemzőinek további fenntartásához.

A harmadik kutatás célja a fenotípusos tulajdonságai alapján az ősi székely lóval azonosnak tekinthető rekonstruált állomány anyai hátterének és genetikai felépítésének vizsgálata, mely eléréséhez a mitokondriális DNS D-hurkot (kontroll régiót) elemezzük és hasonlítjuk más földrajzi régiók lovainak adataihoz.

A környezet ellenőrzésével megvalósított kutatások célkitűzései

Első célunk az ellés körüli vérplazma melatonin koncentrációjának megállapítása lóban – ugyanis még nem végeztek ilyen vizsgálatokat a vemhesség alatti vagy az ellés körüli időszak során háziállatfajokban, beleértve a lovat is. Hipotézisünk szerint a melatonin koncentráció a frissen ellett kancákban és újszülött csikóikban hasonló értékeket mutat az anya-magzat-placenta kapcsolat miatt.

Második hipotézisünk az, hogy a hosszú távú kiegészítő megvilágítás befolyásolja az éjszakai melatonintermelés intenzitását.

Második célunk annak fölmérése volt, hogy a késői vemhes telivér kancák számára biztosított kiegészítő mesterséges fénykiegészítés előidézhet-e változásokat az anyák és utódaik felszőrében az ellés idejére. Föltételeztük, hogy ez a hatás jelentős a szőr mechanikai tulajdonságaira nézve, és ahogyan a kancák reagálnak a fénykiegészítésre, ahhoz hasonlóan adnak választ a csikók is a felszőr következő vizsgált mechanikai tulajdonságaiban: szálhossz, szálátmérő, szálátmérő változás, szakítóerő, szakítószilárdság és megnyúlás.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. A fenotípus ellenőrzésével megvalósított kutatásban

2.1.1. A fő tejalkotók vizsgálata

Erre a vizsgálatra a Beit-Hashita kibucban, annak 309 izraeli holstein-fríz tehene bevonásával került sor (1996-2000). Minden tehénnek zárt laktációja és legalább 10 befejeési napja kellett, hogy legyen. Az egy apára jutó átlagos leányivadékszám 6,6 volt.

A számításokhoz felhasznált nyers adatok a következők voltak: a tehen azonosító száma, a laktáció száma, az apa azonosító száma, a napi laktóz-, fehérje- és zsírszázalék, valamint a hozzá tartozó tejhozam, ezek rögzítésének, valamint az elléseknek az időpontja. A tejcukor, a tejfehérje és a tejszír napi hozamát a százalékos értékek és a tejhozam felhasználásával számítottuk ki.

Négy új paramétert hoztunk létre tejösszetevőnként: 1) a napi tej-, laktóz-, tejfehérje- és tejszír mennyiség teljes energiamennyisége (ADEMilk, ADELactose, ADEProtein és ADEFat; MJ), 2) a napi tej-, laktóz-, tejfehérje- és tejszír mennyiség viszonylagos energiamennyisége (RDEMilk, RDELactose, RDEProtein és RDEFat; %), valamint a tejösszetevők szerinti legmagasabb energiamennyiség elérésének 3) az ideje (TimeHRDELaktóz, TimeHRDEProtein, TimeHRDEFat; laktációs nap) és 4) a szintje (HRDELaktose, HRDEProtein, HRDEFat; %). A tej energiatartalmát elsősorban három alapvető összetevő alkotja: laktóz, fehérje és zsír. Számításunkban a főbb tejösszetevők energiatartalmaként a következőket vettük alapul: a laktózá 17,2 kJ/g, a fehérjéé 23,5 kJ/g, a zsír 39,4 kJ/g. A különböző tejkomponensekből származó abszolút napi energiamennyiség megajoule-ban (MJ) a megfelelő napi hozam (g) és az egységnyi energiatartalom (kJ/g) szorzata volt. A laktóz, a fehérje és a zsír viszonylagos napi energiamennyisége megegyezik a saját energiamennyiségük laktációs átlagától való százalékos eltéréssel. A legmagasabb relatív napi energiamennyiség elérésének átlagos időpontját az egyedekben megállapított időpontok felhasználásával számítottuk ki.

A tendenciák kimutatása érdekében a laktózból, fehérjéből és zsírból származó abszolút és relatív napi energiamennyiség változását grafikusan ábrázoljuk. A legmagasabb napi relatív energiamennyiség (TimeHRDE) ideje mediánjainak kiszámításához túlélés-elemzést alkalmaztunk.

A legmagasabb napi relatív energiamennyiség (HRDE) szintjének becsléséhez az alábbi lineáris vegyes modellt (III. típusú, ortogonális) használtuk. Az összes adat-előkészítést és -feldolgozást a STATISTICA6 (2003) programcsomaggal végeztük.

2.1.2. A tej elektromos vezetőképességének vizsgálata

A vizsgálatot az izraeli Golán-fennsík egyik nagyüzemi tehenészetében végeztük (2004-2008). A következő paramétereket válogattuk le az AfiMilk rendszerből (S.E.A. AFIKIM, 2007) és készítettük elő a számításokhoz: azonosító szám, születési idő, pedigréé (két ősi sorral), laktációk száma, ellés időpontja, napi tejhozam (MY, kg), a tej napi elektromos vezetőképessége (EC, mS; tőgy negyedek átlagaként), a tőgygyulladás diagnózisának dátuma, a tőgygyulladás diagnózisától számított idő (TMD, nap).

a) A tej napi elektromos vezetőképességének és a napi tejhozam értékelése a laktáció alatt.

Ebbe az elemzésbe azokat a teheneket (81 tehén, tulajdonságonként 8403 megfigyeléssel) vontuk be meg, amelyek egynél több laktációt teljesítettek, legalább 308 napig tejelték (44 hét), és a leggyakrabban használt három bika ivadékai. A kiválasztott tehenek közül 36 tehénben diagnosztizáltak legalább egyszer klinikai tőgygyulladást (ebből 6-ot kétszer diagnosztizáltak, összesen 1887 megfigyeléssel). A 45 egészséges tehénnek 6516 rögzített adata volt.

b) A tőgygyulladásban diagnosztizált tehenek napi elektromos vezetőképességének és napi tejhozamának értékelése a tőgygyulladás diagnózisának napja körül.

Az EC-t az a) és b) feldolgozásban általános lineáris modellel elemeztük a hatásokat.

Az EC és a MY változását Duncan post hoc teszttel ellenőriztük (Statistica, StatSoft, Inc., 2005). Az a) feldolgozásban a megfelelő heti teljesítmények összehasonlítását végeztük. A b) feldolgozásban a TMD kezdeti értékét (-7. nap) használtuk összehasonlítási alapként.

c) Az EC öröklődhetőségének (h^2) és ismételhetőségének (R) becslése a teljes tehenpopulációban.

A h^2 az additív genetikai variancia és a fenotípusos variancia aránya. Az ugyanazon állat ismétlődő tulajdonságai közötti hasonlóság mértékét ismételhetőségnek nevezzük, ami a genetikai variancia, az ideiglenes környezeti variancia és a fenotípusos variancia aránya. A pedigré 251 állatot tartalmazott. Az elektromos vezetőképesség h^2 és R értékét a Restricted Maximum Likelihood módszerrel (Meyer és Hill, 1997) becsültük meg a következő fix regressziós modell segítségével:

$$EC_{ijklmnop} = htd_i + \sum_{j=0}^3 \phi(t)_j L_{jk} + Y_l + S_m + MY_n + a_o + p_p + \varepsilon_{ijklmnop}$$

ahol,

$EC_{ijklmnop}$	- a tej elektromos vezetőképessége,
htd_i	- a mintavételi nap fix hatása (308),
L_{jk}	- a laktáció számának fix hatása (3),
ϕ_j	- a j-edik Legendre polinom fix hatása,
t	- a laktációs hónapok fix hatása (12),
Y_l	- a termelési év fix hatása (4),
S_m	- a termelési évad fix hatása (2; 1 XI-V. téli félév, 2 VI-X. nyári félév hónapjai),
MY_n	- a napi tej hatása, mint kovariáns,
a_o	- random additív genetikai hatás,
p_p	- random állandó környezeti hatás,
$\varepsilon_{ijklmnop}$	- random maradék hatás.

A genetikai paraméterek becslésére a REMLF90 szoftvert használtuk (Misztal, 1999).

2.1.3. A kérődzés aktivitásának vizsgálata

Az adatokat három tipikus izraeli farmról gyűjtöttük (2008-2009). Minden klinikai hiperketonaemiával (SHK) és/vagy méhbetegséggel (UD) diagnosztizált tehenet kiválasztottunk a vizsgálatra. Tulajdonságokként (kérődzés aktivitás, napi élősúly és napi tejmennyiség) összesen 1638 adat került feldolgozásra. A takarmányozás alapja a TMR (Total Mixed Ration) volt, amelyet központi takarmány-előállító üzem biztosított. Ebben a vizsgálatban a tehenek naponta háromszor fejlődtek a Lely Industries által gyártott Astronaut fejőrobottal, a QWES-HR program használatával karámos tartási (*loose housing, open air*) rendszerben.

A telepírányítási rendszerből (T4C szoftver) a következő adatokat válogattuk le: tejelő napok száma, napi kérődzési aktivitás (RA), napi élősúly (LW), napi tejhozam (MY), valamint a tehen azonosító száma, ellésének dátuma, laktációi száma és a RA/LW/MY felvétel dátuma. Az állatorvosi feljegyzéseket a NOAH szoftverből gyűjtöttük, beleértve a betegség nevét és a betegség diagnózisának dátumát (0 nap). Az állatok betegnek minősültek „beteg időszakuk” alatt, amely három napot tartalmazott: a betegség diagnózisának napját és az e körüli ± 1 napot. Az állatok a diagnózis napjától távolabbi (megelőző és következő) időszakokban (a -6., -5., -4. és 4., 5., 6. napon) egészségesnek számítottak.

Az adatok elemzéséhez az R statisztikai szoftver (R Core Team, 2013) egytulajdonságos vegyes hierarchikus lineáris modelljeit (nlme csomag; Pinheiro és mtsai, 2013) használtuk. Az adatok előkészítéséhez és az RA, LW és MY napi alakulásának grafikus megjelenítéséhez, valamint a diagnózis napjának átlaga és mediánja kiszámításához a Statistica szoftvert (Statsoft Inc., 2013) alkalmaztuk.

Eredményként a legkisebb négyzetek elvén számított átlagot (LSM), azok standard hibáját (SEM), valamint a hiba valószínűségét (p-érték) adjuk meg. Az SHK esetében a három vizsgált paraméter (RA, LW és MY) eredményeit egészségi állapot időszakonként mutatjuk be. Az UD esetében a szignifikáns kölcsönhatások (egészségi állapot H_i ; laktációs szakasz P_j , valamint laktációs szakasz P_j ; ellésszám csoport L_k) miatt az eredményeket tovább részletezzük az ellésszám és a laktációs szakasz szerint. Továbbá az eltéréseket (ami a „beteg időszak” átlaga és a két egészséges időszak átlaga közötti különbség) is kivetítjük a beteg tehenekben bekövetkező időbeli változások becslésére. Ezeket statisztikailag a Tukey-módszerrel igazoltuk (korrigált p-értékeket közlünk). A reziduumok normalitását, homogenitását, a modell jóságát és a torzító értékeket diagnosztikus ábrákkal ellenőriztük.

2.2. A genotípus ellenőrzésével megvalósított kutatásban

2.2.1. A prion gén génikus változatossága vizsgálata

A Magyar Juh- és Kecsketenyésztő Szövetség biológiai mintái 2013-2015. években kerültek levételre a magyar őshonos juhajték tenyészkos jelöltjeiben ($n = 352$) és a nőivarban ($n = 5401$) is, hogy teljes képet kapjunk a surlókorra való genetikai fogékonyságról. A mintákat az Agrobiogen GmbH Laboratóriumába küldtük a prion fehérje gén (PRNP gén) mutáns kodonjainak tipizálására. A feldolgozáshoz szükséges egyedi diplotípus adatokat az MJKSZ Microsoft Excel adatbázisából vettük át és a Dell statisztikai program segítségével (Dell Inc., 2015) értékeltük ki. Meghatároztuk a prion haplotípusok relatív gyakoriságát. Chi² teszt segítségével a jelenlegi állapotot (2013–2015) a korábbi állapottal hasonlítottuk össze. Fésüs és mtsai (2004, 2008) voltak, akik a magyar juhajték első vizsgálatait végezték el ezen a területen.

A génikus változatosság elemzéséhez először a következő paramétereket határoztuk meg: effektív haplotípus szám, Shannon információs index, Nei-féle haplotípus diverzitás. Megalkottuk a viszonylagos entrópia kifejezésére a relatív Shannon információs indexet ($I_{rel} \%$), ami a tényleges

Shannon-érték és az elméletileg legmagasabb Shannon-érték (egyenlő allélgyakorisági feltétel mellett) aránya. A V_{136} , H_{154} , Q_{171} és H_{171} figyelembevételével számítottuk a káros kodonok arányát (%). Majd, a genotípus gyakoriságok leírására került sor azok időbeni változása és a tényleges genetikai egyensúlyi állapot (Hardy–Weinberg), valamint a kockázati csoportok gyakorisága tekintetében. Ezeket mind a χ^2 teszttel ellenőriztük.

2.2.2. A mtDNS kontrollrégiójának vizsgálata a zaupel juh utódfajtáiban

A véletlenszerű mintavétel elkerülése érdekében a biológiai mintákat háromgenerációs törzskönyvek felhasználásával, egymástól távoli rokonságban álló egyedektől vettük a waldschaf (Ausztria, $n = 27$) és a bovec (Szlovénia, $n = 21$) fajtákban. A ciktában (Magyarország, $n = 70$) az ún. „alapító mintavételt” alkalmaztuk (Maróti-Agóts és mtsai, 2008). Ebben az esetben a mintavételt a teljes, 2000-ben újniított törzskönyv feldolgozása előzte meg (Posta és mtsai, 2019). Erre alapozva a legrégebbi családok élő nőstény képviselőitől gyűjtöttünk mintákat (4-5-6 ősi generációval). Minden biológiai minta vétele 2015 és 2017 között történt.

A DNS-t a GenElute Blood Genomic DNA Kit (Sigma-Aldrich) segítségével izoláltuk. Az egyes mintákhoz 25 μ -es PCR reakcióelegyet készítettünk. Két primerpárt használtunk a vizsgálandó szegmens amplifikálására: egy újonnan tervezett primer párt (Primer Designer 4.0 szoftver) a régió elejére, és egy másodikat Hiendleder és mtsai (1998) leírása alapján. Először a következő amplifikációs protokollt használtuk az újonnan tervezett primerekhez (MtOA_F15400 5'-ACACCCAAAGCTGAAGTTCTAC-3' és MtOA_R16087 5'-GTTGGTTTCACGCGGCATGGT-3'): kezdeti ciklus 94 °C 20 másodpercig, majd 34 ciklus 94°C-on 30 másodpercig, 62 °C-on 30 másodpercig, 72 °C-on 45 másodpercig, és a végső felszaporítási lépésben 72 °C-on 7 percig. A második amplifikációs protokoll teljes leírását publikációnkban közöljük (Gáspárdy és mtsai, 2021). A PCR-termékeket a SIGMA GenElute™ PCR Clean Up Kit-tel (Sigma-Aldrich) tisztítottuk a protokoll szerint. A BigDye® Terminator v.3.1 Cycle Sequencing Kit-et (ThermoFisher Scientific) használtuk a szekvenálási reakcióhoz a gyártó által javasolt módon. A szekvencia detektáláshoz egy ABI Prism 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems) készüléket alkalmaztunk a gyártó irányelveinek megfelelően. A szekvencia adatokat Sequencing Analysis Software 5.1 (Applied Biosystems) segítségével elemeztük, és a Sequencher™ 4.1.2 szoftverrel (Gene Codes Corp) igazítottuk. Az illesztett CR szekvenciák hossza 1180 bp lett, és megfelelt a 15437–16616 közötti referencia szekvencia pozícióinak (AF010406; Hiendleder és mtsai, 1998).

A mutációk kiértékelését a Fu és Li által kifejlesztett teszttel végeztük el (Fu és Li, 1993), majd populációgenetikai értékelési módszerként a Tajima által javasolt D-tesztet (Tajima, 1989) alkalmaztuk a kimutatott mutációk elemzésére. A teljes vizsgálati minta polimorf bázishelyeinek számát a DNAsp 6.0-s szoftver segítségével határoztuk meg, majd kiszámítottuk a fajtákon belüli és a fajták közötti átlagos nukleotid eltéréseket (Rozas és mtsai, 2017). Jukes és Cantor módszerével határoztuk meg a bázishelyettesítések szekvenciákon belüli korigált számát (Jukes and Cantor, 1969). Network 10.2.00 szoftver segítségével (fluxus-engineering.com) ábráztuk a haplotípusok megoszlását (Bandelt és mtsai, 1999). A minták haplocsoportokba rendezését a GenBank-i referenciaminták alapján végeztük (A-HM236174, B-HM236176, C-HM236178, D-HM236180, E-HM236182 (Meadows és mtsai, 2005); O. musimon Muflon HM236184, O. ammon Argali HM236188, O. vignei Urial HM236186 (Hiendleder és mtsai, 2002).

2.2.3. A mtDNS kontrollrégiójának vizsgálata a székely ló rekonstruált állományában

A rekonstruált populáció egyedeiből (n=59, 39 kanca és 20 mén) vérmintákat vettünk a mitokondriális D-hurok szekvenciájának (608 bp) értékelésére 2021 januárjában.

A DNS-t a GenElute Blood Genomic DNA Kit (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) segítségével izoláltuk a gyártó utasításai szerint. Az egyes mintákhoz készített 25 µL-es PCR reakcióelegy 2,5 µL dNTP-t (10 mM), 2,5 µL 10× PCR puffert, 1,5 µL MgCl₂-t (25 mM), 2 µL primert (10 µM), 1 µL BSA-t (20 mM), 0,4 µL Taq polimerázt (5 U/µL) (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) és 10 ng DNS templátot és PCR minőségű vizet 25 µl végső térfogatig tartalmazott. A mitokondriális D-hurkot forward EqCRF 5'-AAACCAGAAAAGGGGAAAA-3' és reverz EqCRR 5'-TGGCGAATAGCTTTGTTGTG-3' oligonukleotidok segítségével amplifikáltuk (Gointella és mtsai, 2020). A következő amplifikációs protokollt alkalmaztuk: 94 °C-os kezdeti ciklus 20 másodpercig, majd ezt követte 34 ciklus 94 °C-on 30 másodpercig, 55 °C-on 30 másodpercig, 72 °C-on 45 másodpercig, és egy utolsó felszaporítási ciklust 72 °C-on 7 percig. A PCR termék várt mérete 688 bp volt. Thermal Cycler 2720 PCR berendezést (Applied Biosystem, Waltham, MA, USA) használtunk a DNS-szekvencia amplifikálására. A PCR-termékeket a SIGMA GenElute™ PCR Clean Up Kit-tel (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) tisztítottuk a protokoll szerint. A BigDye® Terminator 3.1-es verziójú Cycle Sequencing Kit-et (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) használtuk a szekvenálási reakcióhoz a gyártó ajánlásait követve. A szekvenciadetektáláshoz ABI Prism 3130XL Genetic Analyzert (Applied Biosystems, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA, USA) használtunk a gyártó útmutatásai szerint.

Az mtDNS D-hurok szekvenciáit egymáshoz illesztettük, a haplocsoportokat és a haplotípusokat MEGA 11 segítségével határoztuk meg (Tamura és mtsai, 2021). A DnaSP 6 (Rozas és mtsai, 2017) szoftvert a genetikai diverzitás indexeinek (haplotípus diverzitás, H_d és nukleotid diverzitás, π) becslésére, valamint Tajima D (Tajima, 1989) és Fu Fs (Fu, 1997) tesztjein alapuló neutralitási tesztek elvégzésére használtuk. E statisztikák kiegészítéseként a demográfiai profilra a páronkénti nukleotid-site különbségekből (*mismatch distribution*) következtettünk. A székely ló haplocsoport gyakoriságait a szakirodalomban talált adatokkal (Achilli és mtsai, 2012) egyoldali különbség teszttel, ismert számú megfigyeléssel (TIBCO Software Inc., 2020) hasonlítottuk össze.

2.3. A környezet ellenőrzésével megvalósított kutatásban

2.3.1. A mesterséges fénykiegészítés hatása a vérplazma melatonin koncentrációjára

53 angol telivér kanca-csikó párt értékeltünk ebben a vizsgálatban (2018. január 9. és 2018. április 30. között). A természetes nappalok hossza a vizsgálat megkezdésekor 7 óra és 50 perc, a vizsgálat végén 14 óra és 53 perc volt. Minden vemhes kancát nappal a legelőn tartottak, ahol ad libitum legelhetnek 16:00 óráig, majd a vizsgálati időszak alatt éjszakára egyéni bokszokba vezettek.

A kancák éjszaka, 19:00 és 05:00 között hozták világra a csikókat. Ezzel párhuzamosan került sor a vérvételre is, a kancák és csikók jugularis vénájából heparinizált vakutainerekbe. Csaknem valamennyi ellés természetes sötétségben történt. A mintákat következetesen halvány vörös fényben gyűjtöttük a természetes sötétben (< 1 lux) vagy fél sötétben, a külső természetes megvilágítás körülményeinek megfelelően (néhány állat korlátozott természetes fényhatásnak volt kitéve a mintavételi időszak utolsó 3 órájában). A kutatáshoz kiválasztott egyedek vérmintái klinikai állategészségügyi eljárások során nyert mintákból származtak, így további kutatási célú felhasználása az EU irányelv (Directive 2010/63/EU) értelmében nem minősül állatkísérletnek, így etikai engedély nem szükséges.

A mintákat 5 °C-on tároltuk a 2000 g-vel 10 percig végzett centrifugálásig, majd lefagyasztottuk. A melatonin koncentráció meghatározásához univerzális Melatonin ELISA Kit-et (ab285251, Abcam plc, Cambridge, UK) használtunk a gyártó utasításai szerint. Minden mintát két sorozatban mértünk, és

ezek átlagértékét tekintettük egyedi eredménynek. A szoptatás előtti kolosztrum minőségét is meghatároztuk Brix %-ban refraktométerrel (20 °C-on) a helyszínen, hogy megbecsüljük a kolosztrum IgG-tartalmát.

Az adatfeldolgozáshoz a következő változókat rögzítettük és számítottuk ki: a vemhesség hossza (az utolsó hágatástól az ellésig eltelt napok száma), a csikó születési súlya (a születés utáni 12 órán belül elektronikus mérleggel mérve, kg-ban), a csikó neme (az újszülött állat nemi szerve szerint: kanca csikó vagy méncsikó), a kanca súlya (csikózást megelőző egy hónapon belül becsült súly, kg-ban), kanca életkora (csikózásakor, években), a téli napfordulótól a csikózásig eltelt napok (az előző év december 21-e és az aktuális csikózás napja közötti napok száma), a csikózás órája (a csikózás pillanatának pontos ismerete alapján a születési órák adatait egymást követő kétórás időkeretekbe rendezve a statisztikai feldolgozáshoz, például 19:00-21:00, 21:00-23:00 stb.), a csikózástól a vérvételig eltelt percek (a csikózás és a vérmintavétel közötti időszak, amely 10 perctől 720 percig tartott), a nemzedék (a kanca-csikó kapcsolatban lévő állatok kategóriái: kancák vagy csikók), a kezelés (fénykezelt csoport, n = 28 kanca-csikó pár; kontrollcsoport, n = 25 kanca-csikó pár).

A fénykezelt állatok számára minden egyedi állást Luminaire Equilume Stable Light System-tel szereltek fel. Ez a lámpatest az adott természetes nappali fényt nagy intenzitású kék komponenssel (468 nm, 80 lux) napi 15 órás megvilágításra (ami megfelel a kísérlet végére jellemző természetes nap hosszának) egészítette ki. A kezelt kancák kiegészítő megvilágítása 41 nappal a csikózás számított időpontja előtt kezdődött, azzal a céllal, hogy a kancákat mielőbb újra lehessen vemhesíteni. A csikókat az anyjuk világtási csoportja szerint kódoltuk.

A melatonin koncentráció tendenciáinak kiszámításához általános hierarchikus lineáris modellt (GLM) alkalmaztunk (Statistica 14. verzió, TIBCO Software Inc., 2020). Lineáris modellünket *backward* eliminációval változtattuk, a kevésbé releváns hatások kijelölését megszüntetve. A plazma melatonin koncentrációját az ellés pillanatára és az ellés utáni 6. órára kovariáns korrekcióval becsültük. A kolosztrum fajsúlyát ugyanazzal a GLM-mel értékeltük (kivéve a generációt, ami nem volt beépítve).

2.3.2. A mesterséges fénykiegészítés hatása a felszőr mechanikai tulajdonságaira

A vizsgálat ugyanabban a telivér tenyészménésben, azonos egyedeken valósult meg mint amit a 2.3.1. fejezetben bemutattam. A felszőr mintákat (beleértve a szőrhagymát is) a lapocka tájékról gyűjtöttük a kancáktól és újszülött csikóiktól az ellés/születés után 12 órán belül, és felcímkézett zacskókban tároltuk a feldolgozásig. A csikókat ebben a kísérletben is az anyjuk világtási csoportja szerint kódoltuk a feldolgozás számára. Az egyes egyedek mintáiból 6 reprezentatív szőrszálát véletlenszerűen választottunk ki feldolgozásra, így minden mechanikai tulajdonság jellemzése közel 720 megfigyelésen alapul (ez a szám kisebb a mérési hibák és egyes minták kiugró értékeinek kizárása miatt).

Az OLYMPUS BX 51M mikroszkóp (Olympus, Austin, TX, Egyesült Államok) és az OLYMPUS Stream Motion Imaging Software (1.9.4-es verzió) segítségével az egyes szőrszálak átmérőjét három ponton vettük fel: a „bazális ponton” (az alapponton a keret alsó szélén), a „mediális ponton” (a keret közepén, 5 mm-re az alapponttól) és a szőrszál vége felé eső „apikális ponton” (a keret felső szélén, 10 mm-re az alapponttól) μm -ben. Az egyes szőrszálak megnyúlását (ΔL , μm), valamint a szakítóerőt (legnagyobb, vagy maximális terhelés, F_{max} , N) Zwick-Z005 szakítógéppel (Zwick, Ulm, Németország) és egy 20 N-os erőmérő cellával, a Zwick TestXpert 11.0 program alkalmazásával mértük. A szőrmintákat szobahőmérsékleten és 50%-os relatív páratartalom mellett vizsgáltuk.

A vizsgált mechanikai tulajdonságokat az alábbi sorrendben határoztuk meg: átlagos szőrhossz (a szőrszál átlagos hossza mm-ben); átlagos csúcsátmérő (μm -ben, a keret felső szélén mérve); átlagos

középső átmérő (μm -ben, a keret közepén mérve); átlagos apikális–mediális változás (a csúcsi és mediális átmérők közötti átlagos %-os különbség); átlagos alapátmérő (μm -ben, a keret alsó szélén mérve); átlagos apikális–bazális változás (a csúcsi és bazális átmérők közötti átlagos %-os különbség); átlagos megnyúlás (ΔL , a feszültség-nyúlás görbe lineáris rugalmas tartományában mért nyúlás μm -ben); átlagos szakítóerő (F_{max} , az átlagos maximális terhelés Newtonban (N) 10 mm/perc szakadási sebesség mellett, amelyet egy adott szőrszál elszakadásakor mértünk); átlagos szakítószilárdság (legnagyobb feszültség, TS: a maximális terhelés (F_{max}) és a legszűkebb átmérőnél (d) mért keresztmetszeti felület (A) átlagos aránya ($F_{\text{max}}/A = F_{\text{max}}/\pi \cdot (0,5 \cdot d)^2$) N/ mm^2 -ben (vagy MPa-ban)).

A szőrszál jellemzőit általános lineáris modellek (GLM) segítségével értékeltük. Kovariánsnak tekintettük a kanca életkorát, a vemhesség hosszát, a téli napfordulótól a csikózásig eltelt napokat, a kanca és a csikó súlyát. A normális eloszlást követő mechanikai tulajdonságokban a kapott eredményeket a legkisebb négyzetes átlaggal (LSM), az átlag hibájával (SEM) adjuk meg. A normalizált átlagos megnyúlás esetében geometriai átlagot, valamint a felső és alsó 95%-os konfidencia határt visszatranszformálás (eLOG $\Delta L \rightarrow \text{BACK } \Delta L$) után adjuk meg. Tukey HSD post hoc tesztjét használtuk a kategória-, kezelés- és nemzedék osztályai közötti szignifikáns különbségek kimutatására. Az összes adatot a TIBCO Statistica ver. 13. (TIBCO Software Inc., 2017) programmal készítettük elő és dolgoztuk fel.

3. EREDMÉNYEK, ÉRTÉKELÉSÜK ÉS LEHETSÉGES FELHASZNÁLÁSUK

3.1. A fenotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában

3.1.1. A fő tejalkotók energiamennyiségének esetében

A tej teljes energiatartalma a laktáció kezdeti napjaiban növekszik, a 75. napon éri el a csúcst, és onnantól a laktációs időszak végéig folyamatosan csökken. A laktógörbének hasonlóan domború alakja van, energiamennyisége a laktáció 80. napján éri el a maximumát (32 MJ). A tejszírből származó energia mennyisége a laktáció kezdetén enyhén növekszik és a 40-50. napon van a csúcsa (48 MJ), ezt követően pedig a laktáció végéig egyenes vonalú csökkenése következik be. A fehérjéből származó energiamennyiség meglehetősen lapos lefutást mutat; csúcspontját (27 MJ) a laktáció 100-110. napján éri el. A legmagasabb napi viszonylagos energiamennyiségben (HRDE; %) a laktóz, a fehérje és a zsír értékei a következők: 11,22, 10,45 és 6,80. Ez azt jelenti, hogy önmaga laktációs átlagához képest a két legnagyobb növekedés a laktóz, valamint a fehérje esetében következik be (**1. táblázat**). A zsír esetében sajátságosan igazoltan alacsonyabb a növekedés ($p < 0,001$).

A különböző tejösszetevők előállításának stratégiája nagyon érdekes. Mind az energiamennyiség, mind a relatív energiamennyiség napi maximumát először a zsír, majd a laktóz és végül a fehérje éri el. Úgy tűnik, hogy ez a sorrend állandó, és élettaninak tekinthető. Arra következtetünk, hogy sajátos mechanizmus létezik, amely meghatározza a különböző összetevők szekrécióját a különböző időpontokban, és mindegyik komponensnek meg van a maga „csúcs időszaka”. A komponensek idővel negatív és pozitív hatással vannak a másik összetevő termelődésére, amelyek így kölcsönhatásba lépnek egymással, és nem függetlenek egymástól teljesen. Továbbra is kérdés, hogy pontosan hogyan szabályozzák egymás termelődését, de megállapításaink szerint csak arra lehet következtetni, hogy van köztük összefüggés. Az étrendben található kevesebb növényi rost, valamint a vérérum nagyobb zsírsavtartalma és a korai laktáció alatti zsírmozgósítás elfogadható magyarázatot adhat a korai laktáció megnövekedett tejszírenergia-mennyiségére (Huszenicza és mtsai, 2002). A vérplazmában a magasabb szabad zsírsav-koncentráció segíti a triglicerid szintézist, ugyanis a tejhez szükséges zsírsavak, a trigliceridek a vérsírokból származnak (40-60%, Mielke, 1994). A laktóz relatív változása a legnagyobb. Eredeti funkciója az utódok tejjel való ellátásával, ugyanis ahogy

növekedett az utód, egyre több tejre volt naponta szüksége. A fehérje 104. nap körüli megnövekedett relatív jelentőségét kimutattuk. Az, hogy ez összefüggésben áll-e az újravemhesüléssel és ennek körülményeivel, további vizsgálatokat igényel.

1. táblázat: A legmagasabb napi relatív energiamennyiség (TimeHRDE) idejének mediánjai (túlélés elemzéssel) és a legmagasabb napi relatív energiamennyiség (HRDE; legkisebb négyzetes eltérés módszerével kapott) átlagai (LSM) és a varianciaanalízis eredményei

Mutatók	TimeHRDE, tejelő nap	HRDE, %	
Tejösszetevők:	medián	LSM	SEM*
Tejcukor	66	11,22	1,39
Tejfehérje	104	10,45	1,60
Tejzsír	44	6,80	1,44
Hatások:		F-érték	p-érték
Év	-	4,749	<0,001
Laktációs szám	-	44,081	<0,001
Tejösszetevők	-	423,313	<0,001
Apa (bika)	-	1,366	0,013
Hónap	-	7,837	<0,001

* standard hiba

A tanulmány mint idézett mű serkentette azon újabb kutatásokat, amelyek a tejtermeléshez szükséges tápanyagok szervezeten belüli (pl. emlőmirigyben) elérhetőségét vizsgálják. Hozzájárult az egyes tejösszetevők termeléséért felelős gének (pl. LPL gén, glükóz transzporter 1 gén) kutatásához és laktáció alatti expresszáldása mértékének megállapításához. A tejjel ürülő energia mennyiségének figyelembevétele segítheti a hatékonyabb termelésre irányuló tenyész kiválasztást.

3.1.2. A tej elektromos vezetőképességének esetében

A tőgygyulladás státuszának hatását tekintve nyilvánvalóvá vált, hogy a klinikai tőgygyulladásban szenvedő tehenekre egyszerre jellemző tejük megnövekedett elektromos vezetőképessége (EC, 9,66 vs. 9,40 mS, $p < 0,001$) és az alacsonyabb napi tejtermelése (MY, 35,2 vs. 37,4 kg, $p < 0,001$). A különböző bikáktól született lányok EC-je eltérően reagált tőgygyulladás esetén. Az A és C bika lányai tőgygyulladás esetén emelkedett EC-t mutattak, de a B bikaányaiban nem volt megfigyelhető növekedés. A laktációs hét hatása az EC-re és a MY-re is szignifikánsnak bizonyult ($p < 0,001$). Az ellés után röviddel az EC-érték általában csökken, azonban a tizenharmadik héttől lényeges különbségek mutatkoznak a masztitisz és egészséges tehenek csoportja között. Ettől kezdve azonban a masztitisz tehenek EC-je a laktáció vége felé emelkedni kezd, és a tehencsoportok közötti különbség szignifikánsná válik.

Az EC kezdeti értékének (7 nappal a klinikai masztitisz kimutatása előtt) szignifikáns ($p < 0,001$) növekedését figyeltük meg a diagnózis napján. Ez a magasabb érték a diagnózist követő 4. napig megmaradt, majd fokozatosan csökkent a normál szintre. A MY a 0. napon (diagnózis ideje) szignifikánsan ($p < 0,001$) különbözött a kezdeti értéktől, s ettől kezdve, a tejhozamban tapasztalt nagymértékű csökkenés a vizsgált időszak végéig jelentős maradt.

A következő varianciákat becsültük: additív genetikai variancia (σ_a) = 0,22460, állandó környezeti variancia (σ_p) = 0,01436 és maradék (hiba) variancia (σ_e) = 0,16460. Ezekkel a variancia komponensekkel számoltuk a tej elektromos vezetőképességének öröklődhetőségét ($h^2 = 0,5565$) és ismétlődőségét ($R = 0,5921$).

Vizsgálatunkban az EC-értékek (9,4-9,6 mS) nagyobbak voltak, mint a mások által megfigyelvek (pl. 5,36-5,44 mS; Caveró és mtsai, 2007), ami annak köszönhető, hogy a jelen értékelés főgye meg online méréseken alapult. A laktációk előrehaladásával a MY természetesen növekedett, ami magával vonja az EC emelkedését is. Eredményeink az EC napi átlagain alapulnak. A napi átlagok helyett a fejésenként gyűjtött adatok a tényleges tőgyállapot pontosabb leírását tetelezi föl. Egyetértünk az olyan vizsgálatokkal (pl. Kikkers és mtsai, 2006), amelyek az egyes tőgy negyedek fertőződésre való hajlamának megállapítására szolgálnak. Az EC abszolút értékeinek mérése mellett a fejések közötti EC-eltérés mértékének ismerete is információval bír, ami már az AfiMilk új verziójában a tőgygyulladás bekövetkezésnek előre becsülésében beépítésre került (De Mol és Ouweltjes, 2001; Kamphuis és mtsai, 2008).

Feldolgozásunkkal számszerűsítettük a tőgygyulladás idejében bekövetkező tejvesztéséget. A klinikai tőgygyulladás kimutatása előtti és utáni egy-egy hét során az EC és a MY napi alakulását tekintve az EC értékek szignifikánsan gyorsabban regenerálódtak, mint a MY szint.

Az EC öröklődhetősége földolgozásunk alapján közepes-nagynak tekinthető ($h^2 = 0,56$). Ez a h^2 -érték nagyobb, mint a mások által meghatározott 0,21-0,29 (Goodling és mtsai, 2000) vagy 0,26-0,36 (Norberg és mtsai, 2004). Ennek oka az lehet, hogy adatállományunkban három bika szerepelt, s ezek lányai egy üzemben termeltek, így a zavaró környezeti hatások csökkentek, és a három bika nagyobb genetikai varianciát mutathatott a környezeti varianciához képest. Az EC ismételtetését elsőként határoztam meg; $R = 0,59$.

3.1.3. A kérődzés aktivitása esetében

A laktáció korai szakaszában a kérődzés aktivitás (RA) fokozatos növekedése egyértelműen kimutatható, csakúgy, mint a tejtermelés (MY), ami körülbelül 40 kg-mal tetőzik. A laktáció közepén a RA, 500 perc/nap szintről a tejtermeléssel együtt enyhén, de tendenciózusan csökkenni kezd. A laktáció második szakasza az élősúly vonatkozásában előnyös, hiszen valamennyi tehén folytathatja növekedését. A laktáció 305. napjára a RA megközelíti kezdeti értékét. A laktáció legvégén a tejtermelés jelentősen csökken. A szárazra állítás előtt a tehenek általában megállnak, visszamaradnak a növekedésben. A betegség átlagos előfordulási ideje szubklinikai hiperketonaemia (SHK) és méhbetegség (UD) esetén az 54. nap (medián 14. nap), illetve a 73. nap (medián 19. nap) volt.

Az SHK esetében (**2. táblázat**) a diagnózist megelőző és az azt követő egészséges periódusok értékei a laktáció kezdetén az önfeláldozó tejhasznú tehenek jellegzetes élettani változásairól adnak tájékoztatást; ezek a kérődzés aktivitásának (takarmányfelvétel) és a tej mennyiségének jelentős növekedése, valamint testsúly csökkenése (minden változás szignifikáns, $p < 0,05$). Az egészséges és beteg napok értékei közötti minden eltérés negatívnak tűnik, azonban ez csak a kérődzés aktivitásában volt szignifikáns (-64,3 perc, $p < 0,01$).

2. táblázat: A tulajdonságok legkisebb négyzetek elvén számított napi átlagainak (LSM) összehasonlítása szubklinikai hiperketonaemia (SHK) esetén az egészségi állapot időszakai szerint

Egészségi állapot időszakai /különbség	Megfigyelések száma	Szubklinikai hiperketonaemia (SHK)					
		RA, perc		LW, kg		MY, kg	
		LSM (SEM*)	(SEM)	LSM (SEM)	(SEM)	LSM (SEM)	
Megelőző egészséges időszak	63	392 ^a	(23,5)	595 ^b	(16,6)	27,5 ^a	(2,41)
Diagnózis körüli napok	63	361 ^a	(19,6)	575 ^a	(16,4)	29,5 ^a	(2,26)
Követő egészséges időszak	63	459 ^b	(19,4)	566 ^a	(16,4)	34,6 ^b	(2,25)
különbség ¹	189	-64,3 ^{**}	(21,4)	-5,76	(4,31)	-1,57	(1,68)

RA = napi kérődzés aktivitás, LW = napi élősúly, MY = napi tejmenyiség,

* standard hiba,

^{a,b} - az eltérő betűk szignifikáns ($p < 0,05$) különbségeket jeleznek,

¹ - az egészséges és a beteg napok közötti Tukey-módszerrel igazolt különbség (**korrigált $p < 0,01$).

Az UD esetében a szignifikáns kölcsönhatások ($H_i:P_j$, valamint $P_j:L_k$) miatt az eredményeket tovább részletezzük az ellésszám és a laktációs szakasz szerint. Az értékek az első laktációs fázisban nagyjából a korábban (SHK) szemléltetett élettani helyzetet tükrözik (minden tulajdonságban, $p < 0,05$) a tehenek ellésszámától függetlenül. A tulajdonságok változásai a későbbi laktációs szakaszokban azonban jelentéktelenek maradtak. Ugyanakkor, az először ellett, méh megbetegedéssel diagnosztizált tehenek súlyának csökkenése (-4,80 kg, $p < 0,05$) a beteg napok alatt nem jár együtt a kérődzésben töltött percek és a tejtermelés számottevő csökkenésével; hanem épp ellentétesen. Azonban, a többedszerre ellett UD-tehenek kérődzés aktivitásának szignifikáns csökkenése (-43,7 perc, $p < 0,01$) az első laktációs szakasz beteg napjaiban szintén nem társul élősúlyuk és tejtermelésük igazolt csökkenésével.

Mindkét vizsgált patológiás állapotban a tehenek a napi RA-ban (SHK és UD) és LW-ban (UD) szignifikáns csökkenést mutattak. Ezek a laktáció egy bizonyos szakaszára jellemzőek: a szubklinikai ketózis leggyakrabban a közvetlen ellés utáni időszakban vagy a korai laktációs szakaszban figyelhető meg (Demelash és mtsai, 2005). A metritis előfordulásának is jellemző időszaka az ellés utáni időszak (Kahn, 2005). A ketonaemiás tehenek tejtermelése mérsékelten csökken a kóros energiahiány minimalizálása érdekében (Fleming, 2002). Ez a jelenség megerősíti azt a feltételezést, hogy a ketózis „önkorlátozó betegség” lehet. Különösen az izraeli magas termelésű holstein-fríz tehenekben nagy a valószínűsége annak, hogy az ellést követően a test tartalékai a tejtermelésben hasznosulnak, ami ketonaemiát és/vagy „alutáplált ketózt” eredményez. Moallem és mtsai (2002) a súlyos méhbetegségekre jellemző étvágycsökkenés jeleként említették az abrakfelvétel csökkenését, ami magyarázhatja esetünkben is a kérődzés aktivitásának igazolt csökkenését a többször ellett tehenekben. Gáspárdy és mtsai (2015) azt találták, hogy szubklinikai tőgygyulladásban lévő izraeli holstein-fríz tehenekben az egészséges időszakokhoz képest a beteg időszakban statisztikailag igazoltan szintén rövidül a kérődzéssel töltött idő ($p < 0,001$), továbbá csökken az élősúly ($p = 0,018$) és a tejtermelés ($p < 0,001$).

A kérődzési tevékenység nyomon követése fontos információkat szolgáltat a takarmányozást, az önkéntes takarmányfelvételt, a legeltetés minőségét és mennyiségét (legeltetési állattartásban), az anyagcsere folyamatokat, az időjárás hatásokat, valamint a tehen étvágyát befolyásoló betegségeket illetően. Ezért a kérődzés ellenőrzése mint előjelző módszer felhasználhatóságának maximalizálása érdekében további kutatásokra van szükség, nagyobb mintákon. További cél a kérődzési aktivitás és más betegségek összefüggéseinek vizsgálata is.

3.2. A genotípus ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában

3.2.1. A prion gén génikus változatossága esetében

A 2013–2015 években egységesen az ARQ haplotípus a leggyakoribb (49,81-74,93%), ezt követte az ARR (14,19-45,81%). Az ARH (kivéve a tejelő cigáját, ahol ez 9,93%) és a VRQ haplotípusok előfordulása nem tekinthető érdeminek. A cikta fajtában a legrezisztensebb haplotípus (ARR) a kívánatosnál jóval ritkább, mind a korábbi (2004), mind a jelen elemzésben. Megállapítható, hogy a racka haplotípusokban is jelentős változások következtek be; a legmarkánsabban és legkedvezőbben a gyimesi racka fajtában ($p < 0,001$).

A génikus változatosság jellemzéseként az effektív haplotípus számban a legnagyobb variabilitást a fehér racka populációban (3,96), a legalacsonyabbat pedig ciktában (1,69) találtuk. A Shannon információs index értékei jól korrelálnak az effektív haplotípus számmal. A relatív Shannon információs index (I_{rel} %) értékei nagy tartományban (46,3 és 90,3 között) és időben inkább növekvő mértékben változtak. Nei-féle haplotípus diverzitás értéke 0,1459 és 0,3393 között alakult, ezek követték az effektív haplotípus számban talált tendenciákat. Összességében, a káros kodonok aránya alacsonynak (<30%) tűnik, és idővel javulni látszik, kivéve a cikta fajtát. A fekete racka ezen értékei (26,8%; 2013–2015) kissé kedvezőbbek a fehér racka értékeinél (30,4%; 2013–2015), amely ellentmondani látszik a fehér racka magasabb ARR és alacsonyabb ARQ gyakoriságával.

A genotípusok tekintetében a cikta populációk között nem volt szignifikáns különbség ($p = 0,083$) az idő múlásával, sőt a kevésbé kedvező ARQ/ARQ genotípus gyakorisága 10%-kal nőtt. Ezzel egyidejűleg szignifikáns javulás következett be a cigája és a különböző racka populációkban ($p < 0,001$ minden esetben). A χ^2 teszt igazolta, hogy a magyar őshonos juhajták aktuálisan vizsgált populációi teljes Hardy–Weinberg genetikai egyensúlyban vannak ($p \approx 1,000$ minden esetben).

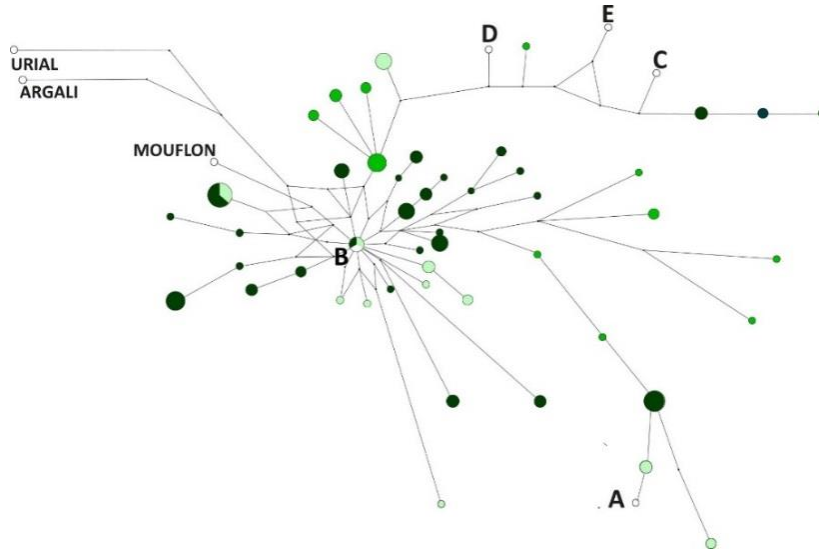
Nagyszámú mintavételi állományon elvégzett vizsgálataink igazolják, hogy a magyar őshonos juhajták eltérő surlókérral szembeni örökletes rezisztenciával rendelkeznek, ezek közül a cikta a legalacsonyabbal. A fajta kockázati besorolása (különösen az ARR haplotípus tekintetében) nem javult. Ugyanakkor, a többi fajtában a surlókór-rezisztencia szelekciója határozottan sikeres volt. Azt találtuk, hogy a prion gén génikus változatossága, entrópiája átmenetileg növekedhet a szelekciós folyamat megkezdését követően. A végső cél a prion haplotípusok entrópiájának csökkentése az ARR haplocsoport kizárólagos rögzítése mellett. A relatív Shannon információs index (I_{rel} %) érzékenyebb, mint a Shannon információs index és különösen előnyös, ha nem azonos haplotípus (allél, STR) számokat kell összehasonlítani (Gáspárdy és mtsai, 2014). Ezt jól szemlélteti a ciktában, hogy a haplotípusok számának növekedése (3-ról 5-re) ellenére az ARQ elsöprő túlsúlya miatt az entrópia csökkent (72,3-ról 46,3%-ra). A kártékony kodonok aránya (%) hasznos mutatója lehet a felszámolási programnak.

3.2.2. A zaupel utódfajták közös eredete esetében

Az egyedenkénti mutációk átlagos száma azt mutatja, hogy a waldschaf (2,56) és bovec (2,48) juhmintákban gyakoribb a mutáció, mint a ciktában (1,54). A ciktára jellemző a legnagyobb diverzitás, hiszen itt található a legtöbb átlagos nukleotid eltérés (21,251) és a legváltozatosabb nukleotid diverzitás ($18,02 \times 10^{-3}$). Ezt a fajtát a waldschaf, majd a bovec juh követi létszamarányosan csökkenő diverzitással.

A waldschaf és bovec juhok összehasonlításában az átlagos nukleotid eltérések száma 18,773 volt; a waldschaf és a cikta között ennél nagyobb, de a legnagyobb a bovec és a cikta között jelentkezett. A fajták közötti megosztott mutációk aránya a waldschaf és a bovec között volt a legnagyobb (36%) és a cikta és a bovec között a legkisebb (26%).

A haplotípusok teljes száma a teljes vizsgálati populációban 49 volt, az azonosított haplocsoportok száma négy. A haplocsoportok közül a legnépesebb a B (35 haplotípussal) volt, ezt követte az A (10 haplotípussal). Kimutattuk a D és C haplocsoportok megjelenését is, amelyek egy (egyetlen bovec egyeddel), illetve három haplotípust (hat cikta egyeddel) tartalmaztak (1. ábra).



1. ábra: A három rokonfajta kapcsolata a CR haplotípusai és haplocsoportjai szerint. A waldschaf minták – világoszöld, a bovec minták – zöld, a cikta minták – sötétzöld színnel jelöltek. A fehér szín a különböző referenciamintákat: A-HM236174, B-HM236176, C-HM236178, D-HM236180, E-HM236182 (Meadows és mtsai, 2005); O. musimon Mouflon HM236184, O. ammon Argali HM236188, O. vignei Urial HM236186 (Hiendleder és mtsai, 2002) mutatja. A körök mérete arányos a haplotípusonként megfigyelt egyedek számával.

A fajták azonosságát támasztja alá a Tajima D-teszt értéke (-0,914, $p > 0,10$), valamint a Fu és Li's D* és F* tesztek értéke (1,217, $p > 0,10$ és 0,562, $p > 0,10$). Ezen értékek szerint a fajták között a polimorf helyek számában és a páronkénti átlagos nukleotid eltérések számában korlátozott a különbség. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a vizsgált zaupel leszármazottak közössége genetikai egyensúlyi helyzetben van, az ettől való eltérés nem veszélyezteti, és nincs a közösség demográfiai bővülését támogató erő. Ugyanakkor, e közös populációban az érzékenyebb Fu-féle Fs statisztika (-3,296, $p = 0,013$) szignifikáns negatív értéke egy térbeli expanziót követő idegen génbeáramlást mutat. Az Fs statisztika értéke esetünkben alacsonynak tekinthető, hiszen több hasonló juhkutató klaszterekben ez az érték a negatív tartományon belül nagyobb mértékben csökken, és jóval kisebb hibavalószínűséggel: pl. -7,48 ($p = 0,001$, Liu és mtsai 2016), -10,88 ($p < 0,001$, Guo és mtsai 2005), a cikta és a cigája között -41.261 ($p < 0,001$, Gáspárdy és mtsai (2022), és -76,28 ($p < 0,001$, Sulaiman és mtsai. 2011).

Emellett munkánk felhívja a figyelmet az „alapító mintavétel” módszer mellett a matrilineáris vonalak (családok) fenntartására és a családon belüli szelekció fontosságára. Az anyai oldal fokozott hangsúlyozását az is indokolja, hogy a nőstények nagyobb arányban vannak jelen, mint a hímek, és hosszabb ideig maradnak tenyésztésben, így nagyobb letéteményesei lehetnek a genetikai diverzitás megvalósításának és fenntartásának. A tanulmányban nyert 118 új szekvenciát a GenBank nyilvános adatbázisában letétbe helyeztük a MW427961-MW428078 számokon. Az egyedi eredményekről tájékoztattuk a tenyésztőket és javasoltuk a MJKSZ-nek a családok kódolását az országos törzskönyvben.

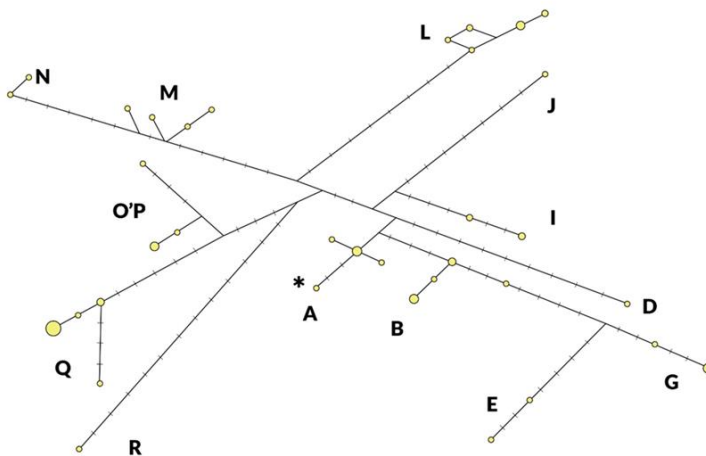
3.2.3. A rekonstruált székely ló matrilineális összetétele esetében

Az 59 rendezett, hiányok nélküli szekvenciában a nukleotidok száma 605 volt, ebből 537 változatlan (monomorf) és 68 változó (polimorf) hely. A nukleotid diverzitás (π) 0,02232 volt, a nukleotid eltérések átlagos száma (k) 13,503. A vizsgálati populációban összesen 34 haplotípust azonosítottunk az eddig leírt 83-ból. A haplotípus diverzitás (H_d) 0,966 volt.

Az ismert 18 haplocsoportból 13 van jelen a rekonstruált székely ló populációban legalább egy képviselővel. Hasonlóan alacsony számú képviselővel találtuk meg az A (5), D (1), E (2), G. (4), I (4), J (1), M (4), N (2), O'P (4) és R (1) haplocsoportokat. Kivételként a Q, L és B haplocsoportok nagyobb számú (15, 9 és 7) reprezentánssal. A J haplocsoportban azonosított egyedet az összehasonlításban a J–K haplocsoporthoz tartozóként szerepeltetjük (2. ábra).

2. ábra: A székely lóban kimutatott haplocsoportok (A–R) és haplotípusok (sárga körök) megoszlása (n = 59).

A körök mérete arányos a haplotípusonként megfigyelt egyedek számával. A haplotípusokat összekötő szakaszokon keresztezett vonalak jelzik a köztük lévő mutációk számát. A csillag azt a haplotípust jelöli, amely megegyezik a GenBankban (Xu és Arnason, 1994) közzétett Equine Reference Sequence, NC001640 jelű szekvenciával.



Megállapítottuk, hogy a vizsgált székely ló állomány a CR alapján közel fele arányban keleti eredetű, amelyet kisebb mértékben egészít ki az európai és közel-keleti lovakra jellemzőbb anyai háttér. Ezt különösen az összehasonlításban szereplő lovakénál gyakoribb Q haplocsoportja erősítette meg ($p < 0,006$). A rekonstruált székely ló állomány genetikai sokféleségét a polimorf helyek és haplotípusok magas száma is mutatja. Ezt megerősíti továbbá a magas haplotípus diverzitás ($H_d = 0,966$) és nukleotid diverzitás ($\pi = 0,02232$). Az alkalmazott tesztek becsült értékei azonban minden esetben negatívak voltak (Tajima D teszt, Fu és Li F^* teszt, valamint Fu F_s statisztikája -0,26556, -0,44723 és -6,566) és nem szignifikánsak ($p > 0,10$). Csak a Fu F_s statisztika mutatott nagyobb negatív értéket és bizonyult szignifikánsnak ($< 0,001$). Ez utóbbi a ritka haplotípusok, vagy a közelmúltbeli szelektív mutációk bőségére utal. Ehhez képest a teszt szignifikáns pozitív értéke genetikai beszűkülésről tájékoztatna. A CR páronkénti nukleotid különbségeinek mintázata felhasználható a rekonstruált székely lóállomány jelenlegi demográfiai összetételének (*status praesens*) megállapítására, inkább, mintsem a múltbeli populációnövekedés kimutatására. Ebből kifolyólag azt a következtetést vonhatjuk le, hogy ezeknek az állatoknak egyike sincs olyan szoros anyai rokonságban egymással. A székely ló D-hurok szekvenciáit a GenBank-ban (nyilvántartási azonosító: OL445148-OL445206) helyeztük letétbe dokumentálás céljával és hozzáférést biztosítva másoknak további kutatáshoz.

Bízunk abban, hogy a most megszerzett közvetlen molekuláris genetikai ismeretekkel elkezdődhet az a szelekciós munka, amely hozzájárul a székely ló fenntartható tenyésztéséhez és hasznosításához.

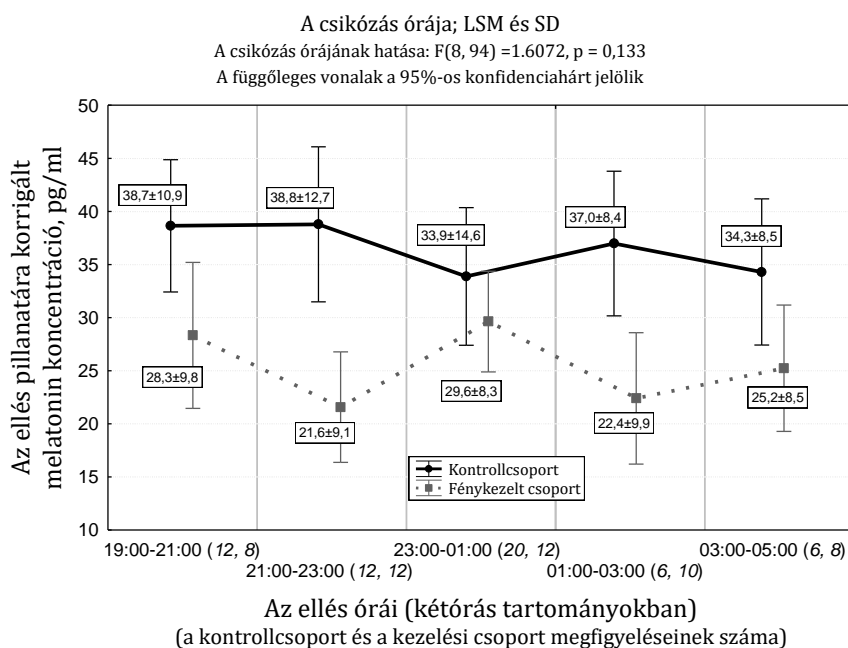
3.3. A környezet ellenőrzésével megvalósított kutatások vonatkozásában

3.3.1. A vérplazma melatonin koncentrációja esetében

A csikózástól a vérvételig eltelt percek szignifikánsan jelzik előre a melatonin koncentrációt a kezelés ($p = 0,038$) és a nemzedék ($p = 0,020$) hatásokban. A csikózástól a vérvételig eltelt percek függvényében a melatonin koncentráció eltérő kezdeti értékről indul, és eltérő intenzitással csökken a kezelés hatás osztályaiban. A kontrollcsoport kezdeti értékei magasabbak voltak ($y_{\text{kontroll}} = 36,34 - 0,0315 * x$, $p < 0,001$), mint a fénykiegészítésben részesült csoport értékei ($y_{\text{fénykezelt}} = 25,86 - 0,0192 * x$, $p < 0,023$). Idővel azonban mindkét csoportban csökkentek, és a 12. óra végére közel azonos szinteket értek el. A nemzedék hatás osztályaiban meg lehetett állapítani, hogy az anyák melatonin koncentrációja magasabb szintről indult és erőteljesebben csökkent ($y_{\text{kanca}} = 34,58 - 0,0358 * x$, $p < 0,001$), mint a csikóiké ($y_{\text{csikó}} = 27,63 - 0,0186 * x$, $p < 0,001$).

Mind a nemzedék, mind a kezelés hatása statisztikailag szignifikánsnak ($p = 0,009$, illetve $< 0,001$) bizonyult a vérplazma melatonin koncentrációjára. A csikózást követő 6. órára korrigált melatonin feltűnően alacsonyabb koncentrációt ért el a csikónemzedékekben és a fénykiegészítésben részesített állatokban ($20,85$ és $18,96 \text{ pg mL}^{-1}$), mint az anyai generációban és a kontroll állatokban ($22,86$ és $24,75 \text{ pg mL}^{-1}$). A melatonin koncentráció és egyben a köztük lévő különbségek nagyobbak, ha az összehasonlítást az ellés pillanatára becsült értékeken végezzük ($27,63$ és $25,86 \text{ pg mL}^{-1}$, illetve $34,58$ és $36,35 \text{ pg mL}^{-1}$).

A **3. ábrán** látható az ellés időpontjára korrigált vérplazma melatonin koncentráció megoszlása a csikózási órák szerint. Sem a kontroll, sem a fénykezelésben részesített csoport értékei nem mutatnak igazolt változást a vizsgált éjszakai időszakban.



3.1. ábra: Az ellés pillanatára korrigált melatonin koncentráció a csikózás órájának függvényében

Ezek az eredmények összhangban vannak azzal a ténnyel, hogy a szüléskor a placenta a megnövekedett plazma melatonin fő extrapineális forrása (Hardeland és mtsai, 2017). A kísérlet alapot szolgáltatott a melatonin további vizsgálatára. Elyert újabb pályázat segítségével a melatonin koncentráció vemhesség alatti nyomon követését a szamár és juh fajokban elvégeztük és megkezdjük az eredményeink publikálását.

3.3.2. A felszőr mechanikai tulajdonságai esetében

A kancák rövidebb szőrűek voltak, mint a csikók ($p < 0,05$), a csikók közül pedig a fénykezelt kancákból született csikók szőrzete kimutathatóan rövidebb volt, mint a kontrollcsikóké ($p < 0,05$). Az anyák és az utódaik alapi szálátmérője között jelentős különbség mutatkozott (41,6 vs. 88,9 μm , $p < 0,001$). Ami még fontosabb, a kezelésen belül is jelentkezett szignifikáns ($p = 0,006$) különbség: a bazális szálátmérő a kontroll állatokban 68,0, a fénykezelt állatokban 62,5 μm . Az apikális és a bazális átmérők közötti különbség a nemzedékek szerint beigazolódott. A változás mértéke kancákban -28,0%, csikókban 26,5% volt. Lényegesek a kategóriaosztályok értékei, annak ismeretében, hogy a kezelés:nemzedék kölcsönhatás nem volt szignifikáns ($p = 0,563$). A kancaszőr vékonyodása intenzívebb volt a kezelt csoportban, mint a kontrollban (-31,1 vs. -24,6%), és a csikószőr megvastagodása kevésbé volt kifejezett a fénykezelt, mint a fényel nem kezelt kancákból születettek csoportjában (24,4 vs. 28,6%). Ez a különbség szignifikánssá válik, amennyiben kategórián belül csak a kancákat vetjük egymással össze ($p = 0,024$). A kancák szőrének csikózás kori alapátmérőjét negatívan és szignifikánsan befolyásolja a téli napforduló óta eltelt idő (béta = -0.4807, $p = 0,002$). Ez a körülmény összefüggésbe hozható a vedléssel.

Az átlagos szakítóerőt mindhárom hatás befolyásolja. A kontroll állatok és a csikók felszöre lényegesen ellenállóbb, mint a fénykezelt állatoké, illetve a kancáké. A kategóriát tekintve jelentős különbség van a kontroll- és a kezelt kancák csikói között, ám nincs különbség a kontroll- és a kezelt kancák között. A kategória és a generáció hatása szignifikáns volt az átlagos szakítószilárdságra is. Elgondolkodtató, hogy az anyák fénykezeltése valóban befolyásolja a csikó szőrének minőségét, gyengíti azt. Ezt a jelenséget igazolja a szignifikáns kezelés:nemzedék kölcsönhatás ($p = 0,002$ és $p = 0,004$).

3.4. táblázat: Az átlagos szakítóerő (F_{max}) és az átlagos szakítószilárdság (TS) eredményei

Hatás	n	Átlagos szakítóerő, N		n	Átlagos szakítószilárdság, MPa	
		LSM	SEM		LSM	SEM
Kategória:		$p < 0,001$			$p < 0,001$	
Kontroll kancák	29	0,098 ^a	0,0130	28	64,9 ^a	7,899
Kontroll kancák csikói	30	0,272 ^c	0,0130	30	121,6 ^b	7,911
Fénykezelt kancák	26	0,085 ^a	0,0138	26	70,8 ^a	8,289
Fénykezelt kancák csikói	28	0,178 ^b	0,0134	28	82,2 ^a	8,111
Kezelés:		$p < 0,001$			$p = 0,062$	
Kontroll állatok	59	0,185 ^b	0,0095	58	93,3	5,791
Fénykezelt állatok	54	0,131 ^a	0,0100	54	76,5	6,029
Nemzedék:		$p < 0,001$			$p < 0,001$	
Kancák	55	0,091 ^a	0,0092	54	67,9 ^a	5,578
Csikók	58	0,225 ^b	0,0090	58	101,9 ^b	5,406

^{a-c} - eltérő betűk szignifikáns különbségeket mutatnak (Tukey-féle $p < 0,05$)

A lóban elvégzett néhány korábbi szőrvizsgálathoz képest jelen vizsgálatban a szőr újabb jellemzőit elemeztük részletesen. Megállapítottuk, hogy a kiegészítő fény a téli napfordulót követően, kancákon a vemhesség utolsó 41 napjában alkalmazva jelentősen befolyásolta a szőr mechanikai tulajdonságait, különösen a csikók esetében, ahol ez a szőr hosszának és átmérőjének, valamint a maximális terhelésének és szakítószilárdságának csökkenéséhez vezetett. A kísérlet eredményei felhívják a figyelmet és segítik a szakembereket a mesterséges fénykiegészítést annak összetett rendszerében körültekintően felhasználni. Az eredményeinek jelentős része az oktatási tananyag részét képezi, valamint a lovak szőrkontönsének újabb szempontokból is történő vizsgálata kutatási területünket képezi.

4. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Elsőként határoztam meg a fő tej alkotók napi viszonylagos energiamennyiségét, ennek alakulását és sorrendiségét a laktáció során *online* mért adatokból nagy tejtermelésű holstein-fríz állományban. Megállapítottam, hogy a főbb tejösszetevők szintézisének az intenzitása sajátos sorrendet követ: a laktáció legkorábbi szakaszában a legfontosabb vegyülettípus a zsír (44. tejelő nap, legmagasabb napi relatív energiamennyiség (HRDE) 6,8%). Később, a tejelésben töltött második hónap után a laktóz (66. tejelő nap, HRDE 11,22%), majd a laktáció harmadik hónapját követően a fehérje (104. tejelő nap, HRDE 10,45%) kap viszonylagos prioritást.

2. Elsőként állapítottam meg, hogy a laktáció alatt bármikor klinikai tőgygyulladással diagnosztizált nagy tejtermelésű tehenek tejeinek elektromos vezetőképessége a laktáció tizenharmadik hetétől szignifikánsan meghaladja az egészséges társaik értékeit. Továbbá, elsőként állapítottam meg a tej fejes alatt mért elektromos vezetőképességének öröklődhetőségét ($h^2 = 0,56$) és ismételhetőségét ($R = 0,59$) tejhasznú tehénállományban.

3. Elsőként mutattam ki a kérődzés *online* szerzett aktivitásának és a szubklinikai hiperketonaemia és méh megbetegedés közötti kapcsolatot. A szubklinikai hiperketonaemia esetében az egészséges és beteg napok értékei közötti különbség a kérődzés aktivitásában szignifikáns volt (-64,3 perc, $p < 0,01$). A méh megbetegedéssel diagnosztizált esetekben a többedszerre ellett tehenek kérődzés aktivitása szignifikánsan csökkent (-43,7 perc, $p < 0,01$) az első laktációs szakasz beteg napjaiban.

4. Elsőként értékeltem a magyar őshonos juhajtákban a prion gén változatait a génikus változatosság - részben az általam bevezetett relatív Shannon indexre és a káros kodonok arányára alapozottan - kimutatásával. Az effektív haplotípus számot tekintve megállapítottam, hogy ennek a fehér rackában található a legnagyobb (3,96) és a cikttában pedig a legkisebb (1,69) értéke. A relatív Shannon információs index ($I_{rel} \%$) értékei nagy tartományban (cikta 46,3-tól fehér racka 90,3-ig) változtak, egymással összehasonlíthatóan, és pontosabban írták le a prion gén változatainak entrópiáját, mint az eredeti Shannon index. A Nei-féle haplotípus diverzitás értéke 0,1459 (cikta) és 0,3393 (fehér racka) között alakult, ezek követték az effektív haplotípus számban talált tendenciákat. A káros kodonok aránya alacsony ($< 30\%$) és idővel javulni látszó, kivéve a cikta fajtát. Ez önálló mutatónak tekinthető, mert a fehér racka káros kodonjainak aránya úgy vett fel magasabb értéket (30,4%) szemben a fehér rackával (26,8%), hogy egyúttal a kizárólag kedvező kodonokat hordozó ARR haplotípus aránya is magasabb (34,48%) volt, mint a fekete rackáé (30,87%).

5. A zaupel juh három utódajtáját (waldschaf, bovec és cikta) a mtDNS kontroll régiója alapján elsőként összehasonlítva kimutattam, hogy a cikttára jellemző a legnagyobb genetikai diverzitás (legtöbb átlagos nukleotid eltérés: 21,251 és legváltozatosabb nukleotid diverzitás: $18,02 \cdot 10^{-3}$). A teljes vizsgálati populációban elvégzett Tajima D-teszt (-0,914, $p > 0,10$), Fu és Li D^* és F^* tesztjei ($D^* = 1,217$, $p > 0,10$ és $F^* = 0,562$, $p > 0,10$) nem adtak szignifikáns értékeket, vagyis a három leszármazott fajta történeti elkülönülése nem okozott genetikai sodródást. Ugyanakkor, az érzékenyebb Fu-féle F_s statisztika szignifikáns enyhén negatív értéke ($F_s = -3,296$, $p = 0,013$) a haplotípusok gyakorisága alapján mérsékelt idegen génbeáramlást, az idő és a földrajzi távolódás függvényében megkezdődő genetikai szegregációt jelez. A fajták eltérő anyai összetételét a cikta és a bovec fajtákban elsőként azonosított C és D haplocsoportok megjelenése is okozza.

6. A székely ló fajtarekonstruált állományában elsőként végeztem molekuláris genetikai vizsgálatot. Meghatároztam a fajtának a hipervariábilis D-hurok szekvenciára alapozott diverzitását (a ló 18 haplocsoportjából 13-at (A, D, E, G, I, J, M, N, O'P, R, Q, L és B)) mutattam ki az új haplocsoportnomenklátúra szerint. Megállapítottam az összetett anyai hátterét, miszerint a rekonstruált állomány jelentős mértékben ázsiai eredetű (45,8%), az európai és közel-keleti lovakra jellemző haplocsoportok kisebb arányban (28,8, illetve 25,4%) jelennek meg.

7. Elsőként vizsgáltam a postpartum vérplazma melatonin koncentrációt kancákban és csikóikban mesterséges fénykiegészítés alkalmával. Megállapítottam, hogy a csikók születéskori melatonin szintje alacsonyabb az anyjuk elléskori értékeinél (27,63 vs. 34,58 pg mL⁻¹, p = 0,009). Igazoltam, hogy a vemhesség végén alkalmazott kiegészítő megvilágítás a kancákban és utódaikban is a kontrollnál alacsonyabb elléskori melatonin koncentrációhoz vezet (25,86 vs. 36,35 pg mL⁻¹, p < 0,001). Továbbá, az elléskori vérplazma melatonin koncentráció értékei nem mutatnak igazolt változást a csikózás órája szerint vizsgált éjszakai időszakban.

8. Elsőként elemeztem a felszőr átmérőjének és mechanikai tulajdonságainak (fajlagos nyúlás, átlagos szakítóerő és átlagos szakítószilárdság) változását a vemhes kanca mesterséges fénykiegészítésének függvényében. Igazoltam az átlagos apikális-mediális szálátmérő változás alapján, hogy a vemhes kancák 41 napos kiegészítő megvilágítása a kancák szőrének intenzívebb vékonyodását (-31,1%, p = 0,024) okozza a kontrollhoz (-24,6%) képest. A fénykiegészítés következményeként csikók szőrének szakítóereje (0,178 vs. 0,272 N, p < 0,001) és szakítószilárdsága (82,2 vs. 121,6 N/mm², p < 0,001) igazoltan gyengül a kontrollhoz képest.

5. A TÉZISEKET ALÁTÁMASZTÓ LEGJELENTŐSEBB SAJÁT KÖZLEMÉNYEK JEGYZÉKE

Gáspárdy, A., Schwartz, Z., Zöldág, L., Verese gyházy, T., Fekete, S. (2004): Changes in daily energy amounts of main milk components (lactose, protein and fat) during the lactation of high yielding dairy cows. ACTA VETERINARIA HUNGARICA 52:(4) pp. 457-467.

Gáspárdy, A., Ismach, G., Bajcsy, Á. Cs., Veress, Gy., Márkus, Sz., Komlósi, I. (2012): Evaluation of the on-line electrical conductivity of milk in mastitic dairy cows. ACTA VETERINARIA HUNGARICA 60:(1) pp. 145-155.

Gáspárdy, A., Efrat, G., Bajcsy, Á. Cs., Fekete, S. Gy. (2014): Electronic monitoring of rumination activity as an indicator of health status and production traits in high-yielding dairy cows. ACTA VETERINARIA HUNGARICA 62:(4) pp. 452-462.

Gáspárdy A, Holly V, Zenke P, Maróti-Agóts Á, Sáfár L, Bali Papp Á, Kovács E (2018): The response of prion genic variation to selection for scrapie resistance in Hungarian indigenous sheep breeds. ACTA VETERINARIA HUNGARICA, 66:4, 562-572.

Gáspárdy, A., Berger, B., Zabavnik-Piano, J., Kovács, E., Annus, K., Zenke, P., Sáfár, L., Maróti-Agóts, Á. (2021): Comparison of mtDNA control region among descendant breeds of the extinct Zaupe l sheep revealed haplogroup C and D in Central Europe. VETERINARY MEDICINE AND SCIENCE, 7, 2330-2338.

Gáspárdy, A., Wagenhoffer, Zs., Fűr linger, D., Halmágyi, M., Bodó, I., Maróti-Agóts, Á. (2023): Matrilineal Composition of the Reconstructed Stock of the Szekler Horse Breed. AGRICULTURE, 13(2):456.

Gáspárdy, A., Gallagher, G., Bartha, B., Cseh, S., Fekete, S. Gy., Somoskői, B. (2023): Plasma melatonin concentration during the early post-partum period in Thoroughbred mares and their foals. ACTA VETERINARIA HUNGARICA, 71(2), 119-127.

Gáspárdy, A., Gallagher, G., Bartha, B., Haaland, H., Fekete, S. Gy. (2024): The effect of supplemental lighting during the late gestation period on post-partum mechanical properties of mare and foal guard hair. VETERINARY SCIENCES, 11(1):49.

6. IRODALOMJEGYZÉK

- Achilli A, Olivieri A, Soares P, Lancioni H, Hooshiar Kashani B, Perego, UA, Nergadze SG, Carossa V, Santagostino M, Capomaccio S, Felicetti M, Al-Achkar W, Penedo MCT, Verini-Supplizi A, Houshmand M, Woodward SR, Semino O, Silvestrelli M, Giulotto E, Pereira L, Bandelt H-J, Torroni A (2012) Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 109:2449–2454.
- Bandelt H, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16:37–48.
- Berckmans D (2017) General introduction to precision livestock farming. *Anim. Front.* 7(1):1–11.
- Cavero D, Tolle KH, Rave G, Buxade C, Krieter J (2007) Analysing serial data for mastitis detection by means of local regression. *Livest. Sci.* 110(1-2):101-110.
- Dell Inc. (2015) Dell Statistica (data analysis software system), version 13. <http://www.software.dell.com>.
- Demelash B, Etana D, Fekadu B, (2005) Prevalence and risk factors of mastitis in lactating dairy cows in Southern Ethiopia. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 3(3):189–198.
- De Mol RM, Ouweltjes W (2001) Detection model for mastitis in cows milked in an automatic milking system. *Prev. Vet. Med.* 49(1-2):71–82.
- Digitális Jólét Program (2019) Digitális Jólét Program, Magyarország Digitális Agrár Stratégiája, 2019-2022. 2019. augusztus. <https://digitalisjoletprogram.hu/files/24/2e/242e263bd2b441f6f30cf400e06e1e4a.pdf> (hozzáférés: 2024.04.11.)
- Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj> (hozzáférés: 2022.04.02).
- Fésüs L, Zsolnai A, Horogh G, Anton I (2004) A juhok surlókérdője 2. Prion genotípus gyakoriságok hazai őshonos állományainkban. *Magy. Allatorvosok.* 126:670–675.
- Fésüs L, Zsolnai A, Anton I, Sáfár L. (2008) Breeding for scrapie resistance in the Hungarian sheep population. *Acta Vet. Hung.* 56:173–180.
- Fleming SA (2002) Ketosis of ruminants (acetonaemia). In *Large animal internal medicine* (ed. Smith, B.P.), 3rd ed., Mosby, Inc., St. Louis, Missouri. pp. 1241–1247.
- Fu YX, Li WH (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics.* 133(3):693–709.
- Fu YX (1997) Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics.* 147:915–925.
- Gáspárdy A, Kukovics S, Anton I, Zsolnai A, Komlósi I (2014): Hazai cigája változatok biokémiai és DNS polimorfizmusainak áttekintő vizsgálata. *Állattenyésztés és Takarmányozás.* 63:123–135.
- Gáspárdy A, Efrat G, Ari M, Harnos A, Bajcsy Ács, Fekete SGy (2015): A kérődzés aktivitásának online követése szubklinikai tőgygyulladásban szenvedő tehenekben. *Magy. Allatorvos.* 137(4):283–291.
- Gáspárdy A, Berger B, Zabavnik-Piano J, Kovács E, Annus K, Zenke P, Sáfár L, Maróti-Agóts Á (2021) Comparison of mtDNA control region among descendant breeds of the extinct Zaupel sheep revealed haplogroup C and D in Central Europe. *Vet. Med. Sci.* 7:2330–2338.
- Gáspárdy A, Zenke P, Kovács E, Annus K, Posta J, Sáfár L, Maróti-Agóts Á (2022) Evaluation of maternal genetic background of two Hungarian autochthonous sheep breeds came from different geographical directions. *Animals.* 12(3):218.
- Gengler N (2019) Symposium review: Challenges and opportunities for evaluating and using the genetic potential of dairy cattle in the new era of sensor data from automation. *J. Dairy Sci.* 102:5756–5763.
- Giontella A, Sarti FM, Cardinali I, Giovannini S, Cherchi R, Lancioni H, Silvestrelli M, Pieramati C (2020) Genetic Variability and Population Structure in the Sardinian Anglo-Arab Horse. *Animals.* 10:1018.

- Goodling RC, Rogers GW, Cooper JB, Rune B (2000) Heritability estimates for electrical conductivity of milk and correlations with predicted transmitting abilities for somatic cell scores. *J. Dairy Sci.* 83(Suppl.1):71(Abstr.)
- Guo J, Du LX, Ma YH, Guan WJ, Li HB, Zhao QJ, Li X, Rao SQ (2005) A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Anim. Genet.* 36(4):331–336.
- Györkös I, Borka Gy, Kovács K (2008) Az állatvédelem etikai értékei. *Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia.* 4(Különszám):117–127.
- Hardeland R (2017) Melatonin – More than just a pineal hormone. *Biomed. J. Sci. Tech. Res.* 1(4):994–997.
- Hiendleder S, Lewalski H, Wassmuth R, Janke A (1998) The Complete Mitochondrial DNA Sequence of the Domestic Sheep (*Ovis aries*) and Comparison with the Other Major Ovine Haplotype. *J. Mol. Evol.* 47:441–448.
- Hiendleder S, Kaupé B, Wassmuth R, Janke A (2002) Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* 269:893–904.
- Huszenicza Gy, Fébel H, Gáspárdy A, Gaál T (2002) A nagy tejtermelésű tehén takarmányozásának, tejtermelésének és szaporodóképességének kapcsolata. Irodalmi áttekintés 1. Az ellés utáni időszak anyagforgalmi jellemzői. *Magy. Allatorvos.* 124(12):719–725.
- Jukes TH, Cantor CR (1969) Evolution of protein molecules. In *Mammalian protein metabolism*, III. Munro, H.N., (ed.), Academic Press, New York, USA. pp. 21–132.
- Kahn CM (2005) *The Merck veterinary manual*. N.J., Merck & Co Inc., web page accessed on 21st of February 2010: <http://www.merckvetmanual.com>. (hozzáférés: 2010.04.20.)
- Kamphuis C, Pietersma D, Van der Tol R, Wiedemann M, Hogeveen H (2008) Using sensor data patterns from an automatic milking system to develop predictive variables for classifying clinical mastitis and abnormal milk. *Comput. Electron. Agric.* 62(2):169–181.
- Kikkers BH, Ozsvári L, Van Eerdenburg FJCM, Bajcsy ACs, Szenci O (2006) The influence of laterality on mastitis incidence in dairy cattle – Preliminary study. *Acta Vet. Hung.* 54(2):161–171.
- Kleen JL, Guatteo R (2023) Precision Livestock Farming: What Does It Contain and What Are the Perspectives? *Animals.* 13:779.
- Komlósi I (2012) A precíziós állattenyésztés elvi szempontjai. *Acta Agraria Debreceniensis. Journal of Agricultural Sciences.* 49:201–202.
- Liu J, Ding X, Zeng Y, Yue Y, Guo X, Guo T, Chu M, Wang F, Han J, Feng R, Sun X, Niu C, Yang B, Guo J, Yuan C (2016) Genetic Diversity and Phylogenetic Evolution of Tibetan Sheep Based on mtDNA D-Loop Sequences. *PLoS ONE*, 11(7):e0159308.
- Maróti-Agóts Á, Zöldág L, Solymosi N, Egyed B (2008) Effect of different sampling methods on cattle mtDNA phylogenetic studies. In Book of Abstracts of the 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production. Book of abstracts No. 14 (2008) Vilnius, Lithuania 24–27 August 2008. Animal Genetics Session 15, Poster 49, Wageningen Academic Publishers: Wageningen, The Netherlands. pp. 130.
- Meadows JRS, Li K, Kantanen J, Tapio M, Sipos W, Pardeshi V, Gupta V, Calvo JH, Whan V, Norris B, Kijas JW (2005) Mitochondrial sequence reveals high levels of gene flow between sheep breeds from Asia and Europe. *J. Hered.* 96:494–501.
- Meyer K, Hill WG (1997) Estimation of genetic and phenotypic covariance functions for longitudinal or 'repeated' records by Restricted Maximum Likelihood. *Livest. Prod. Sci.* 47(3):185–200.
- Mielke H (1994) Physiologie der Laktation. In: *Euter und Gesäugekrankheiten*. (eds. K. Wendt, H. Bosted, H. Mielke, H.W. Fuchs) Gustav Fischer Verlag, Jena, Stuttgart. 46–120.
- Miles Ch (2019) The combine will tell the truth: On precision agriculture and algorithmic rationality. *Big Data & Society.* 6(1):1–12.
- Misztal I (1999) REMLF90 Manual. <http://num.ads.uga.edu/pub/blupf90/docs/blupf90.pdf>. (hozzáférés: 2008.07.30.)

- Moallem U, Gur P, Shpigel N, Maltz E, Livshin N, Yacoby S, Antman A, Aizinbud E (2002) Graphic monitoring of the course of some clinical conditions in dairy cows using a computerized dairy management system. *Isr. J. Vet. Med.* 57(2):43–64.
- Norberg E, Rogers GW, Goodling RC, Cooper JB, Madsen P (2004) Genetic Parameters for Test-Day Electrical Conductivity of Milk for First-Lactation Cows from Random Regression Models. *J. Dairy Sci.* 87(6):1917–1924.
- Pinheiro J, Bates D, DebRoy S, Sarkar D, the R Development Core Team (2013) nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version. 2011;3(1):111.
- Posta J, Kovács E, Tempfli K, Sáfár L, Gáspárdy A (2019) A kis létszámban átmentett cikta juh származási adatainak értékelése különös tekintettel a családokra. *Magy. Allatorvosok.* 141(3):171–180.
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, URL <http://www.R-project.org/>
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Delbarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large datasets. *Mol. Biol. Evol.* 34:3299–3302.
- S.A.E. AFIKIM (2007) AfiMilk – Health Control, <http://www.afimilk.com/SiteFiles/1/83/1052.asp> (hozzáférés: 2008.06.09.)
- StatSoft, Inc. (2003) STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com
- StatSoft Inc. (2005) STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. <http://www.statsoft.com>
- StatSoft Inc. (2013) STATISTICA (data analysis software system), version 12. www.statsoft.com
- Sulaiman Y, Wu C, Zhao C (2011) Phylogeny of 19 Indigenous Sheep Populations in Northwestern China Inferred from Mitochondrial DNA Control Region. *Asian J. Anim. Vet. Adv.* 6(1):71–79.
- Tajima F (1989) Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics.* 123:585–595.
- Tamura K, Stecher G, Kumar S (2021) MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Mol. Biol. Evol.* 38:3022–3027.
- TIBCO Software Inc. (2017) Statistica (Data Analysis Software System); Version 13. <http://tibco.com>
- TIBCO Software Inc. (2020) Data Science Workbench, Statistica version 14. <http://tibco.com>
- Werkheiser I (2018) Precision Livestock Farming and Farmers’ Duties to Livestock. *J. Agric. Environ. Ethics.* 31:181–195.
- Xu X, Arnason U (1994) The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: Extensive heteroplasmy of the control region. *Gene.* 148:357–362.

Köszönetnyilvánítás

MTA doktori értekezésem elkészítésében nyújtott kutatói háttér biztosításáért köszönetet mondok munkahelyem, az Állatorvostudományi Egyetem vezetőinek, munkatársainak, így elsősorban Sótonyi Péter rektor úrnak és a korábbi közvetlen munkahelyi feletteseimnek. Közülük kiemelten a már közülünk eltávozott Bozó Sándornak és Bodó Imrének, akiktől az értekezésem témáit is érintő nagyüzemi szarvasmarhatenyésztés, illetőleg a történelmi állatfajták megőrzése szakmai ismereteit szereztem meg. És természetesen munkatársaimnak, akikkel együttműködve folytattam le vizsgálataimat.

Szeretném köszönetemet kifejezni annak a két tenyésző egyesületnek, amelyek szervezésében valósíthattam meg vizsgálataimat. A Magyar Juh- és Kecsketenyésztő Szövetség és a Székely Lovat Tenyésztők Egyesülete munkatársai, közülük név szerint Sáfár László és ifj. Bodó Imre bocsátották rendelkezésemre a szükséges alap adatokat. A külföldi együttműködés kapcsán Gal Wisenek és Alex Dornak, az S.A.E. Afikim szakembereinek, Rik Van Der Tolnak és Arjen Van Der Kampnak, a Lely Industries szakembereinek, akik segítettek a megfelelő tehenészetek kiválasztásában és a tanulmányokhoz szükséges adatokat leválogatásában.

Továbbá, hálámat fejezem ki az állattartó üzemekben dolgozó hazai és külföldi kollégáknak és az állattartó gazdáknak a segítségnyújtásért, akik rendelkezésemre álltak és mindent megtettek annak érdekében, hogy az értékeléseket elvégezhessek. Az izraeli vizsgálatok megvalósulásában a Jonatan moshav és a Beit-Hashita kibuc dolgozóinak, valamint David Perinek (Moshav Gilat), Yaqov Korennek (Moshav HaYogev) és Erez Slawnak (Moshav Nitzanei Oz) is, akik készek voltak megosztani a gazdasággal kapcsolatos információikat. Köszönettel tartozom az ausztriai, szlovéniai és írországi együttműködésért Beate Bergernek (ÖNGENE - Österreichische Nationalvereinigung für Genreserven landwirtschaftlicher Nutztiere), Jelka Zabavnik-Pianonak (Veterinarska Fakulteta Univerza v Ljubljani) és Barbara Murphynek (School of Agriculture and Food Science at University College Dublin).

Nem utolsó sorban köszönöm a magyar- és idegen nyelvű képzésében résztvevő szakdolgozatos hallgatóimnak, akik azon túl, hogy bizalommal felkerestek szorgalmasan járultak a háromoldalú kutatások pilléreinek építéséhez, és egyúttal a későbbi közlemények társszerzőivé váltak.

Vizsgálataimat pályázati források is biztosították. Megköszönöm az Európai Mezőgazdasági Vidékfejlesztési Alapnak (EMVA) és a Vidékfejlesztési Minisztériumnak (VM) a 17/2012. (II.29.) VM rendelet (ÚMVP 214.C intézkedés) 8. § „Tájékoztatás és ismeretterjesztés célprogramjában” szerint „Genetikai erőforrások megőrzése intézkedés keretében a védett őshonos és veszélyeztetett mezőgazdasági állatfajták megőrzésére beadott pályázatunk elfogadását (azonosító 2081807051, 2013-2017). Az Emberi Erőforrások Minisztériumnak (EMMI) az általuk biztosított „Kutató Kar” minősítéssel járó támogatásait (KK-UK - kutatásfejlesztés „Génrezerv állományok korszerű fenntartását megalapozó populációgenetikai kutatások”, 2014 és 3.6.3-VH-2_PO/12740-1/2019). Az Európai Unió támogatását, és az Európai Regionális Fejlesztési Alap (ERFA) társfinanszírozását (VEKOP-2.3.2.-16-2016-00012, „A Kárpát-medencei őshonos haszonállatfajok, -fajták és -ökotípusok XXI. századi génbanki stratégiájának tudományos megalapozása és fejlesztése”). Valamint a tudományos utánpótlás erősítése céljával nyújtott támogatásért az Európai Uniónak és az Európai Szociális Alapnak (ESZA) (AZ EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00005).