

21ST INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL NUTRITION AND ONE HEALTH DAY

6th November, 2024 Kaposvár, Hungary

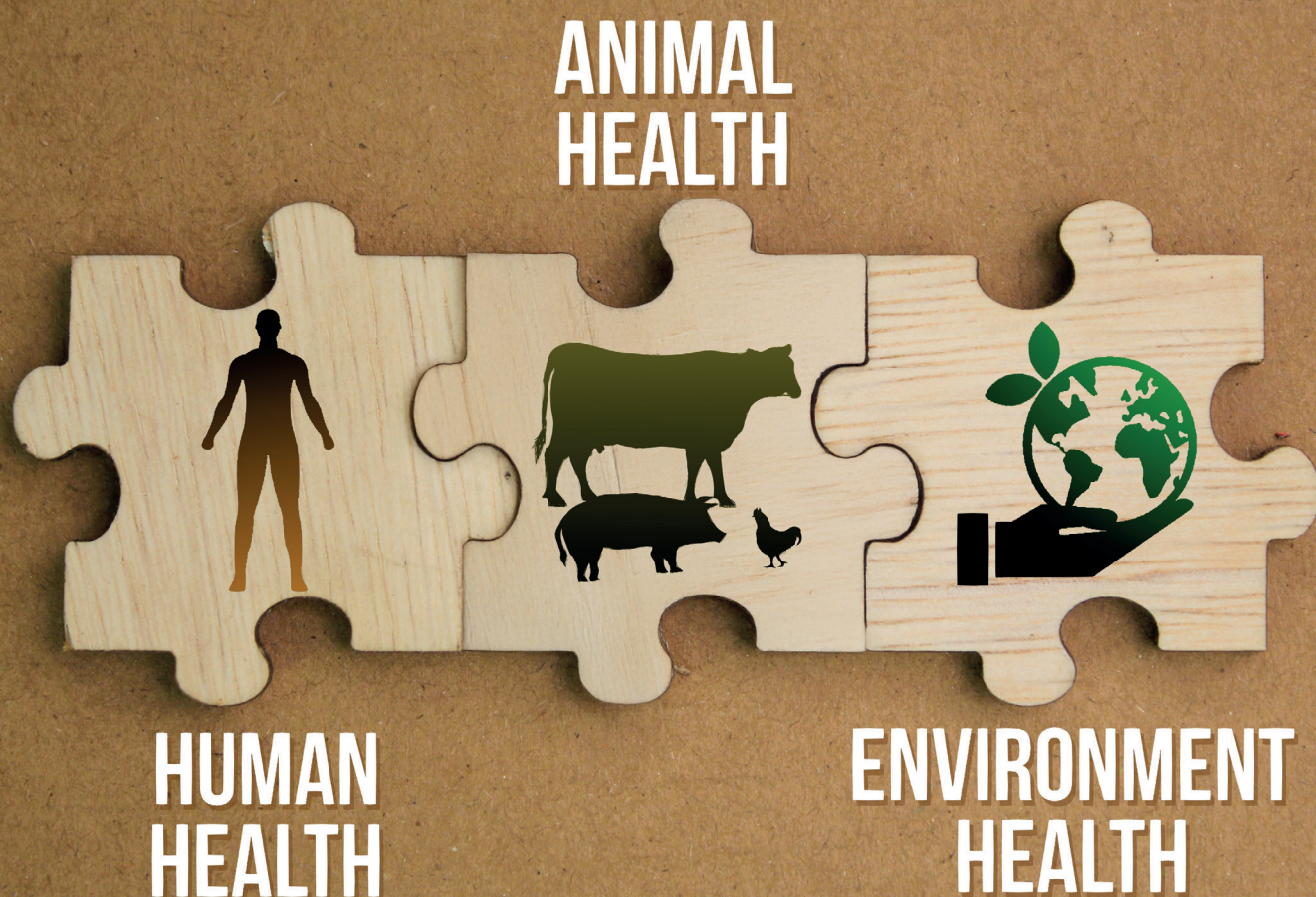
PROCEEDINGS

21. NEMZETKÖZI TAKARMÁNYOZÁSI SZIMPÓZIUM ÉS EGY EGÉSZSÉG NAP

2024. november 6. Kaposvár

TANULMÁNYOK

Gödöllő, 2024



**21st INTERNATIONAL SYMPOSIUM
ON ANIMAL NUTRITION AND ONE HEALTH DAY**

6 November, 2024 Kaposvár, Hungary

PROCEEDINGS

**21. NEMZETKÖZI TAKARMÁNYOZÁSI SZIMPÓZIUM
ÉS EGY EGÉSZSÉG NAP**

2024. november 6. Kaposvár

TANULMÁNYOK

**APPLICATION OF ONE HEALTH DAY CONCEPT IN FARM
ANIMAL NUTRITION**

**21st INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON ANIMAL NUTRITION
AND ONE HEALTH DAY**

6 November, 2024 Kaposvár, Hungary

PROCEEDINGS

Edited by

Veronika HALAS

Róbert TÓTHI

MATE Press

Gödöllő, 2024

EGY EGÉSZSÉG (ONE HEALTH) KONCEPCIÓ A HASZONÁLLATOK TAKARMÁNYOZÁSÁBAN

21. NEMZETKÖZI TAKARMÁNYOZÁSI SZIMPÓZIUM ÉS EGY EGÉSZSÉG NAP

2024. november 6. Kaposvár

TANULMÁNYOK

Szerkesztette

HALAS Veronika

TÓTHI Róbert

MATE Press

Gödöllő, 2024

Edited by | Szerkesztette

Veronika HALAS

MATE Institute of Physiology and Nutrition | MATE Élettani és Takarmányozástani Intézet

Róbert TÓTHI

MATE Institute of Physiology and Nutrition | MATE Élettani és Takarmányozástani Intézet

© Authors/Szerzők, 2024

© Editors/Szerkesztők, 2024

© Hungarian University of Agriculture and Life Sciences Institute of Physiology and Nutrition | Magyar
Agrár- és Élettudományi Egyetem
Élettani és Takarmányozástani Intézet, 2024

*This is an open access book under the terms and conditions of the Creative Commons attribution
(CC-BY-NC-ND) license 4.0.*

A folyóíratra a Creative Commons 4.0 standard licenc alábbi típusa vonatkozik:



*The authors are responsible for the legal use of the figures and illustrations
contained in this book.*

A kötetben szereplő ábrák és képek jogszerű felhasználásáért a szerzők felelnek.

Published by | Kiadja

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences | Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem
2100 Gödöllő, Páter Károly u. 1.

Under the supervision of Prof. Dr. Csaba Gyuricza

DOI 10.54597/mate.0159

ISBN 978-963-623-120-0 (pdf)

CONTENT/TARTALOM

Preface Előszó	7
Plenary Session Plenáris előadások	
Benefits of using fermentation technology in pig feeds – focus on gut health and performance Scholten, R.....	11
Preventing post weaning diarrhea in pigs by using bioactive compounds Bee, G.	27
Poster Session Poszterszekció	
Ochratoxinallal szennyezett takarmány etetésének hatása a brojlercsirke glutation redox rendszerére és lipidperoxidációs folyamataira szelénkiegészítés mellett Kulcsár, Sz., Kövesi, B., Balogh, K. M., Zándoki, E., Mézes, M. ..	43
Influence of levilactobacillus brevis on growth performance of weaned piglets under fumonisin B1 challenges Ikanya, L., Libisch, B., Keresztény, T., Olasz, F., Corral, S., Kovács, M., Halas, V.....	49
Immobilization of a fumonisin esterase with different technologies Incze, D. J., Bata, Zs., Poppe, L.	55
Az emésztésszimulációs vizsgálatok jelentősége a fumonizin mikotoxin biológiai hozzáférhetőségének meghatározásában Varga-Szatmári, V., Vargáné Visi, É., Bóta, B., Péterfi-Szabó, D., Gömbös, P., Kovács, M.	61
Rooiboskivonat védőhatása a fumonizin B1 által kiváltott oxidatív stressz és a membránlipid-összetétel esetében, patkánymájban Omeralfaroug, A., Szabó, A., Balogh, K., Schieszl, T., Bóta, B., Turbók, J., Agyarko, E., Marnewick, J. L., Sheik Abdul, N., Docrat, T. F., Masolo Biketi, T., Kovács, M.....	67
Adaptive forage strategy in Central Europe Orosz, Sz., Balogh, K. M.	79
Őszi vetésű gabona és gabona-pillangós keverékszenázsok táplálóanyag-tartalmának bendőbeli lebonthatósága Tóthi, R., Gura, J. T., Szeli, N., Hatala, M., Héja, E., Vas, Z., Szabó, L., Áprily, Sz.	87
A non-invasive method to monitor the smooth muscle activity of digestive organs in growing pigs Csötönyi, O., Béres, G., Halas, V.....	95
Nagy létszámú sertésletelepek járványvédelmének és higiéniai programjának felmérése, valamint a választási hasmenés megoldási lehetőségei a One Health koncepció tükrében – irodalmi összefoglaló Sipos, R., Molnár-Nagy, V., Könyves, L. P.	101

Fatty tissue of mangalitsa in the function of human health

Radović, Č., Radojković, D., Parunović, N., Živković, V., Stojiljković, N., Petrović, A.,
Gogić, M.111

Liszt kukac- (*Tenebrio molitor*-) liszt hatása brojlercsirke termelési paramétereire

Tóth, M., Sipiczki, I., Ancsin, Zs., Zándoki, E., Balogh, K. M., Kulcsár, Sz., Kövesi, B., Mézes, M.,
Podmaniczky, B., Balláné Erdélyi, M.119

Egy rovarfehérje-koncentrátum (*Adalapro*) etetésének hatása az étkezési tojás minőségére

Csiszér, T., Such, N., Tewelde, K. G., Kiss, B., Pál, L., Dublec, K.125

Nagy csalán (*Urtica dioica*) és gyermekláncfű (*Taraxacum officinale*) hatása tojótyúktojástermelési és tojásmínőségi paramétereire

Ancsin, Zs., Molnár, Donkó, K., Zándoki, E., Balogh, K. M., Mézes, M.,
Balláné Erdélyi, M.133

State of animal welfare in agro-food supply chains: a case of chicken farming in Kenya

Cherono, V., Szűcs, Cs.139

Preliminary assessment of BSF larval-based diets on growth performance of hybrid African catfish *Heteroclarias*

Teye-Gaga, C., Molnár, P. I., Kertész, A., Fehér, M., Bársony, P.143

PREFACE

Dear Reader,

The Department of Farm Animal Nutrition at the Hungarian University of Agriculture and Life Sciences has organized the International Symposium on Animal Nutrition for the 21st time this year. The symposium was initiated to enable Hungarian specialists to familiarize themselves with the latest research findings from both domestic and international sources, facilitating their practical application. Equally important is providing a platform for experts from Hungary and abroad — including researchers, academics, and industry professionals — to regularly convene, exchange knowledge, and share experiences in various fields of animal nutrition science.

This year, we have decided to organize a joint meeting with the annually held One Health Day. The main focus and theme of the event is *Application of the One Health Concept in Farm Animal Nutrition*. Our goal is to highlight the importance of a holistic One Health approach and its role in enhancing feed and food safety, promoting food security, preserving ecosystems, and improving animal well-being. Additionally, we aim to commemorate the 100th anniversary of the World Organisation for Animal Health, which has been instrumental in supporting the implementation of the One Health concept on a global scale.

We are pleased to welcome representatives from the Hungarian academic sector, particularly experts in veterinary medicine, as well as distinguished specialists from Switzerland and the Netherlands. The International Symposium on Animal Nutrition features presentations exploring how different feed additives and feed processing techniques can improve the health of farm animals while aligning with the principles of sustainability and One Health.

In addition to the plenary sessions, further presentations were delivered and this proceedings volume includes all papers presented at the symposium. I would like to express my sincere gratitude to all speakers for their high-quality presentations and contributions.

Our professional objectives can only be realized with adequate financial support. Therefore, I take this opportunity to extend my thanks to the University and all organizations and companies that have contributed to this year's symposium. Your support is invaluable.

I would also like to express my special appreciation to the staff of the Department of Farm Animal Nutrition for their dedication and hard work, special thanks to Dr. Róbert Tóthi and Dr. Ágnes Csivincsik.

I hope that these proceedings will serve as a valuable resource for both scientific research and practical applications in the field.

Kaposvár, November 2024

Veronika Halas, PhD
Head of Department of Farm Animal Nutrition

PLENARY SESSION



PLENÁRIS ELŐADÁSOK



BENEFITS OF USING FERMENTATION TECHNOLOGY IN PIG FEEDS – FOCUS ON GUT HEALTH AND PERFORMANCE

Ronald Scholten

Dr. FERM KFT, Budapest, Hungary

ABSTRACT

The future of modern animal husbandry is strongly influenced by several important global issues: 1) 'One Health', 2) growing world population, and 3) climate change and environmental degradation. Although progress has already been made in recent decades, more will need to be done in the coming decade(s) to meet the goals set. For future-proof animal husbandry, it is necessary to work with healthy animals, which feel well and need (almost) no antibiotics, and convert raw materials into animal protein (meat, milk, eggs) as efficiently as possible. And preferably raw materials that humans do not want to and/or cannot consume, and raw materials with the lowest possible carbon footprint. Microbial fermentation of raw materials before they are fed to animals, can play a decisive role in addressing the challenges mentioned above. The purpose of this article is to briefly describe microbial fermentation of raw materials and their effect on animal health and feed efficiency.

INTRODUCTION

Since their discovery in 1928, antibiotics have become a common way to treat infections caused by bacteria, fungi, and other microbes. While antibiotics are helpful to us, the tendency to overprescribe them is one of the reasons why the world is facing a crisis of treatment-resistant bacteria. Antimicrobial resistance (AMR) occurs when viruses, bacteria, fungi and parasites do not respond to antimicrobial treatments in humans and animals, thus allowing the survival of the microorganism within the host. A growing number of studies have shifted their attention from human factors to more serious contributing AMR factors arising from animal aspects. AMR has now emerged as a chronic public health problem globally, with the forecast of 10 million deaths per year globally by 2050 (O'Neil, 2016; Murray, 2022). 'One Health' is an integrated, unifying approach to balance and optimize the health of people, animals and the environment (Figure 1).

In the "One Health approach", attention is also paid to limiting the use of antibiotics in livestock farming, from which some of the resistant bacteria originate. Earlier research indicated that 73% of all antibiotics used worldwide are applied in farm animals, largely for food production (Van Boekel et al., 2019). This has already led to specific targets and requirements in European countries to achieve a substantial reduction in antibiotic use. The world's population is expected to increase from 7.3 billion in 2015 to 9.7 billion in

2050 (United Nations), which can be mainly attributed to growth in developing countries. To feed this growing population, food production would have to increase by 70% to 2050 (United Nations) and with this the demand for plant and animal products will increase sharply in the coming years. In addition, the projected increase in per capita income will further increase demand for foods that respond to higher incomes, such as livestock and dairy products, and vegetable oils. These livestock and dairy products are important sources of protein for humans, and plant-based ingredients are needed to produce such products. The subsequent increasing demand for proteins derived from plant-based ingredients, for both human food and animal feed, can lead to protein scarcity. There is therefore a need for a more efficient use of current ingredients and the search for alternative ingredients for humans and animals.

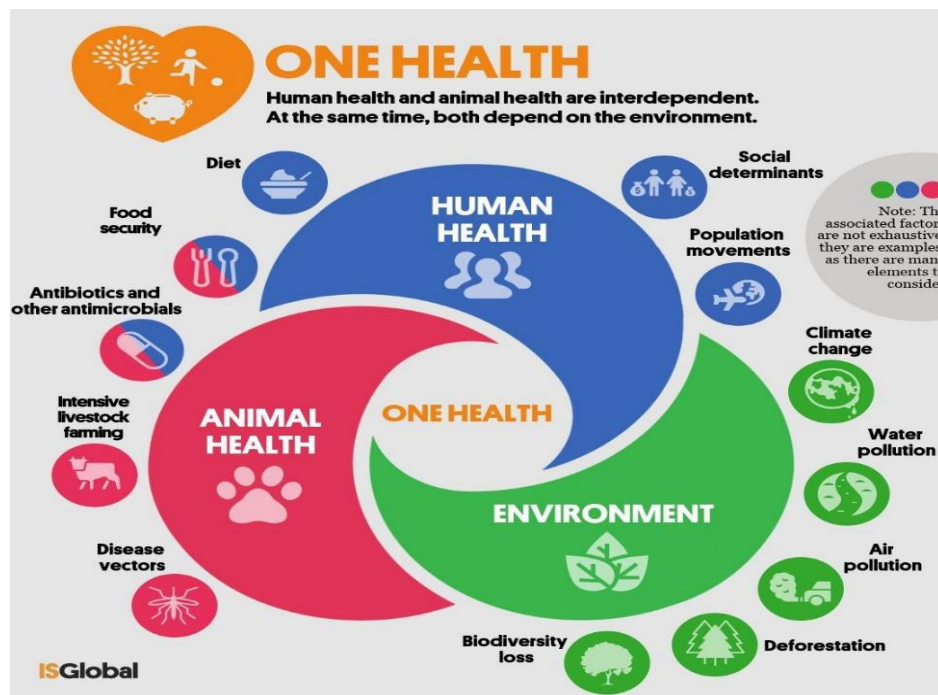


Figure 1 Interdependency of human and animal health (González, 2021)

Climate change and environmental degradation are an existential threat to Europe and the world. The European Green Deal, approved in 2020, is a set of policy initiatives by the European Commission to make the European Union climate-neutral in 2050. Livestock supply chains account for 14.5% of global greenhouse gas emissions. Cattle (beef, milk) are responsible for about two-thirds of that total (FAO, 2017). To reduce greenhouse gas emissions, it is very important to maximize feed efficiency. An absolute prerequisite for this is that the animal is healthy and feels well. From this point of view, there are great opportunities for the use of fermented raw materials.

MICROBIAL FERMENTATION

In our daily lives, we encounter all kinds of fermented products. Well-known food products are yogurt, cheese, cocoa beans, coffee beans, sour cream, pickles, sauerkraut, salami, bread, sourdough bread, wine, beer, vinegar. But bioethanol is also a product that is

released during a fermentation process (alcohol fermentation). We also know many examples of fermentation products in the agricultural sector: silage of silage of silage maize or grass, biogas, composting, synthetic amino acids, certain organic acids (including lactic acid, acetic acid, citric acid), enzymes (including phytase), vitamins, antibiotics and vaccines.

Fermentation is a process that helps break down large organic molecules via the action of microorganisms into simpler ones (Sharma et al. 2020). Fermentation is a natural way of improving vitamins, essential amino acids, anti-nutrients, proteins, feed appearance, flavours and enhanced aroma. The type of fermentation depends on its byproducts. For example, lactic acid fermentation is a type of fermentation that produces lactic acid. Alcohol fermentation produces alcohol, such as ethanol, aside from CO₂. In this paper, the focus is on “lactic acid fermentation”, because the multiplication of lactic acid bacteria, the consequent production of lactic acid and reduced pH, are all beneficial for improving gastrointestinal health.

In lactic fermentation, two types can be distinguished: 1) homofermentative form and 2) heterofermentative form (Figure 2). The main difference is that homofermentative strains produce 2 molecules of lactic acid from 1 glucose molecule, while the heterofermentative strains from 1 glucose molecule produce only 1 molecule of lactic acid and 1 molecule of acetic acid/ethanol. Depending on the purpose of the fermentation, hetero- and/or homofermentative strains can be chosen.

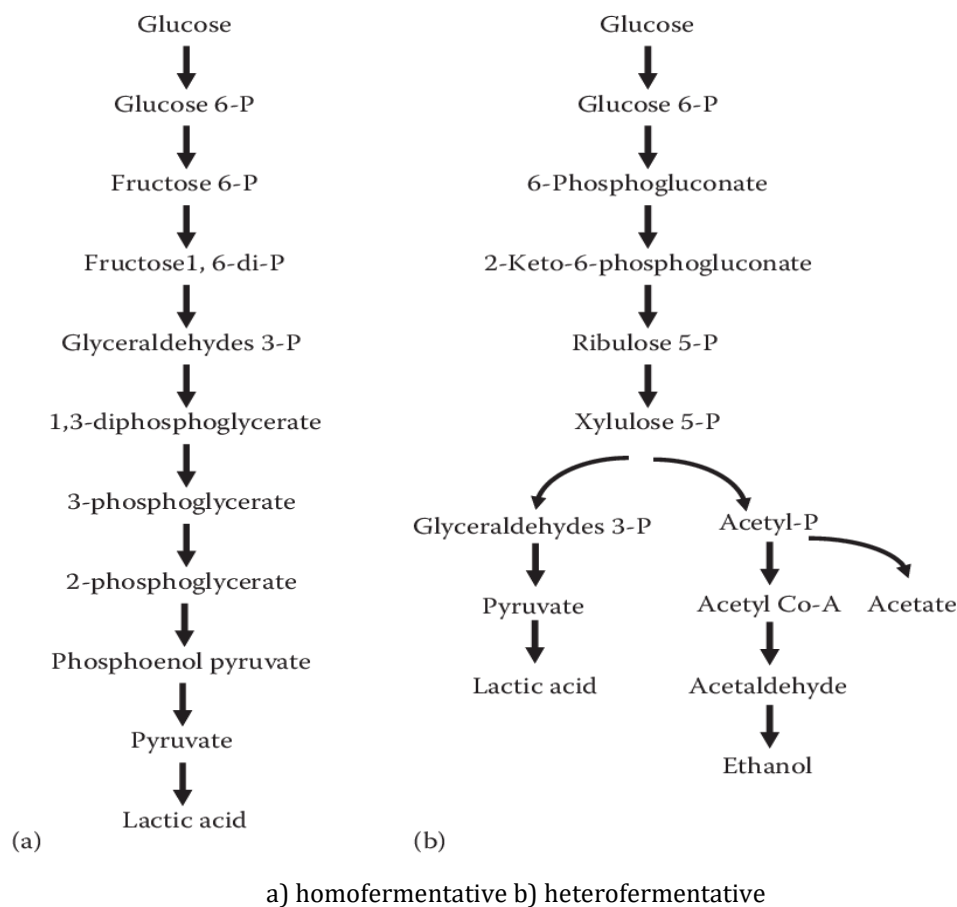


Figure 2 Lactic acid fermentation types (Kumar et al., 2015)

There are two methods of fermentation (Photo 1):

- 1) Submerged / liquid (free water is present; dry matter content 2 to 35%)
- 2) Solid-state (there is no free water available; dry matter content 45 to 65%).



Photo 1 Liquid fermentation (left) and solid-state fermentation (right)
(Photos by the author)

Microbes always need moisture: fermentation of raw materials with a dry matter greater than 70% is very difficult/slow. In addition to moisture, microbes also have requirements for temperature, pH value, and nutrients in the medium in/on which they grow. Most fermentations are anaerobic; however, some microbes prefer aerobic circumstances.

Each microbe (lactic acid bacteria, yeasts, fungi) has a growth curve (Figure 3) to be subdivided in 4 stages: lag phase, log phase, stationary phase and decline phase. For a successful fermentation, it is crucial to keep the lag phase as short as possible. Especially when we talk about "fermentation on farm". After all, there is the risk of microorganisms present in the air and on the raw materials to be fermented. Due to the addition of moisture and heat, there is a good chance that the microbes already present on the raw materials will grow, whereas the added starter culture (inoculant) is still in the lag phase.

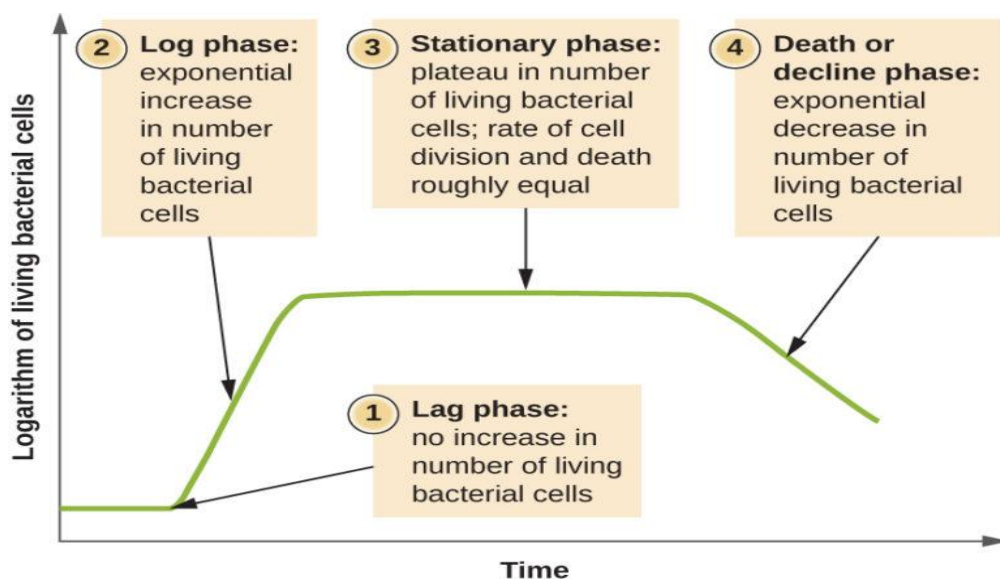


Figure 3 Growth curve of microbes can be divided into four different phases
(source: SUNY ER services, microbiology)

That is why it is important to ensure that the starter culture is already active (read: in the log phase) and thus immediately starts multiplying in the fermenter (Photo 2). A second important aspect is to ensure that the starting level of the starting culture is high enough to become the dominant microbe population. If there are already 200,000 colony-forming units of an undesirable lactic acid bacterium in the product, it is necessary to start with at least 400,000–500,000 colony-forming units of the desired starting culture (Scholten, personal communication).



Photo 2 Fermenters in laboratory versus fermenters in practice
(Photos by the author)

During the fermentation process, lactic acid bacteria grow and convert glucose into lactic acid and a small amount of acetic acid. As a result, pH value goes down. Typical values can be found in Table 1.

Table 1 Characteristics of fermented raw materials (Scholten, personal communication)

	RAW MATERIALS	
	DRY	FERMENTED ¹
Lactic acid bacteria (cfu/ml)	10 ² – 10 ⁴	10 ⁸ – 10 ⁹
Lactic acid ²	non detectable	5 – 7%
Acetic acid ²	non detectable	0.5 – 0.7%
pH value	5.5 – 6.5	3.5 – 4.0

¹fermented by lactic acid bacteria; ²recalculated to 88% dry matter

FERMENTATION AND BREAKDOWN OF ANTI-NUTRITIONAL FACTORS

Microbial fermentation is a suitable technology to break down anti-nutritional factors; as proven by dozens of published scientific papers. A decisive factor for this unique property of fermentation lies in the process conditions: temperature, moisture and time and the presence of nutrients, and lactic acid bacteria. A liquid fermentation usually takes 24 hours, while a solid-state fermentation takes an average of 72 to 96 hours. During this fermentation time, feed particles are “soaked”, and this is the first important step initiating several bioconversion processes. Such as, for example, the activation of the endogenous enzymes (*e.g.*, *phytase*, *protease*). In addition, certain lactic acid bacteria can also produce enzymes themselves. Given the fact that lactic acid bacteria multiply by a factor of 1,000 to 10,000 during the fermentation time, there is a huge bioconversion potential.

The most common anti-nutritional factors are trypsin inhibitor, glucosinolates, tannins, stachyose, raffinose, phytate-phosphorus, and non-starch polysaccharides. In the following sections of this article, the focus is on the breakdown of anti-nutritional factors in the “golden standard” soybean meal. Many scientific papers are published in which clearly is proven that microbial fermentation substantially break down the most well-known ANF’s in soybean meal: trypsin inhibitor, allergenic proteins glycinin and β -conglycinin, and the undigestible sugars stachyose and raffinose (Chen et al., 2021; Chi & Cho, 2016; Liu et al., 2022; Yan et al., 2022; Zhu et al., 2017) (Table 2, 3 and 4). Several of this ANF’s are heat-labile, which implicates they are not broken-down by the traditional toasting of soybean meal.

Table 2 Trypsin Inhibitor and pH analysis of soybean meal and fermented soybean meal (Chi & Cho, 2016)

In dry matter	SBM ¹	FSBM (fermented soybean meal) with			
		B.A. ²	L.A.	L.P.	S.C.
pH	6.80 ^b	7.56 ^a	4.52 ^e	4.72 ^d	6.43 ^c
TI (mg/g) ³	4.77 ^a	0.67 ^{cd}	0.83 ^c	0.53 ^d	1.25 ^b

Means in a column with different subscripts were significantly different ($p < 0.01$); Each value represents the mean of three replicates. ¹SBM = soybean meal, ²B.A. = *Bacillus amyloliquefaciens*, L.A. = *Lactobacillus acidophilus*, L.P. = *L. plantarum*, S.C. = *Saccharomyces cerevisiae*, ³TI = trypsin inhibitor

Table 3 Lactic acid, pH and anti-nutritional factors in soybean meal and fermented soybean meal (Yan et al., 2022)

	SBM ¹	FSBM-A ²	FSBM-B ³
pH	6.33	4.95	4.76
Lactic acid (mg/g)	10.25	110.30	106.94
Glycinin (mg/g)	160.81	63.45	58.95
β -conglycinin (mg/g)	144.87	60.38	56.34
Trypsin Inhibitor (mg/g) ³	8.39	0.34	0.21

¹SBM = soybean meal, ²FSBM-A = fermented soybean meal, SSF, 30–40C, 3-days, drying stage 180C for 20 minutes, ³FSBM-B = fermented soybean meal, 2-stage fermentation: 1) liquid, 15–30C, 72 h, followed by 2) SSF, 30–37C, 3-days, drying stage 50–60C for 48–72 hours

Chen et al. (2010) published a study on various types of soy products (Table 5). In conclusion, one can say that the two-stage fermentation (first with *Aspergillus*, then with *Lactobacillus*) results in highest trichloroacetic acid soluble protein, highest in vitro protein digestibility, highest lactic acid content and consequently lowest pH, and undetectable levels of stachyose and raffinose.

Table 4 Lactic acid, pH and anti-nutritional factors in soybean meal and fermented soybean meal (Zhu et al., 2017)

	SBM ¹	FSBM ²
TCA soluble protein (%)	1.21 ^b	12.1 ^a
Glycinin (mg/g)	150.2 ^a	27.0 ^b
β-conglycinin (mg/g)	123.2 ^a	36.1 ^b
Trypsin Inhibitor (mg/g) ³	11.2 ^a	0.3 ^b
Stachyose (%)	5.8 ^a	0 ^b
Raffinose (%)	1.8 ^a	0 ^b

^{a,b} means within a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$), ¹SBM = soybean meal, ²FSBM = fermented soybean meal

Table 5 Characteristics of different soybean products (Chen et al., 2010)

	SBM ¹	FSBM _A	FSBM _{A+L}	SPC
Crude Protein (%)	43.09 ^{2c}	47.78 ^b	47.50 ^b	61.87 ^a
TCA soluble protein (μmol/g)	65.26 ^c	110.33 ^b	1,010.32 ^a	70.26 ^c
In vitro protein digestibility (%)	87.5 ^b	85.89 ^b	92.23 ^a	87.63 ^b
pH	6.98 ^a	6.33 ^b	4.50 ^c	6.75 ^a
Lactic acid (μmol/g)	0 ^c	3.69 ^b	140.25 ^a	0 ^c
Stachyose (%)	6.39 ^a	0.42 ^c	ND ^{3d}	1.93 ^b
Raffinose (%)	1.35 ^a	0.24 ^c	ND ^{3d}	0.42 ^b

¹ SBM = soybean meal; FSBM_A = fermented soybean meal with Aspergillus; FSBM_{A+L} = fermented soybean meal with Aspergillus + Lactobacillus; SPC = soy protein concentrate., ²Values are the mean of four replicates, ³ND = non-detectable. ^{a,b,c,d} Means in the same row without the same superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

Wang et al. (2020) published a study on fermentation of soybean meal. The pH value and β-conglycinin and glycinin concentrations in FSBM were lower than in SBM. The fermentation process changed peptide size distribution of SBM. The percentage of large peptides (60kDa and higher) and middle peptides (20 to 60kDa) were lower in FSBM than in SBM, while the percentage of small peptides (20 kDa and lower) was higher (Table 6). In general, it can be said that reducing the peptide size will have a positive effect on the digestibility of protein, especially for young animals.

Table 6 Chemical composition of soybean meal (SBM) and fermented soybean meal (FSBM) (as-fed basis; Wang et al., 2020).

	SBM	FSBM
pH	6.5	4.9
Glycinin (mg/g)	89.7	38.7
β-conglycinin (mg/g)	72.8	42.3
Peptide size distribution (%)		
60 kDa and higher	25.3	8.9
20 to 60 kDa	49.4	45.1
20 kDa and lower	25.3	46.0

SBM = soybean meal; FSBM = fermented soybean meal

DEVELOPMENT IN ANIMAL PERFORMANCE IN RECENT DECADES

Due to better nutrition, better genetics, better husbandry conditions, and better management skills, there has been a huge increase in animal performance in recent decades (Figure 4). However, this leads to the fact that more and more is asked of the animals, while on the other hand more and more preventive measures (including antibiotics, zinc oxide, coccidiostats) are prohibited / limited by law. This requires a huge effort to come up with a holistic approach to further improve animal health, welfare, and performance.

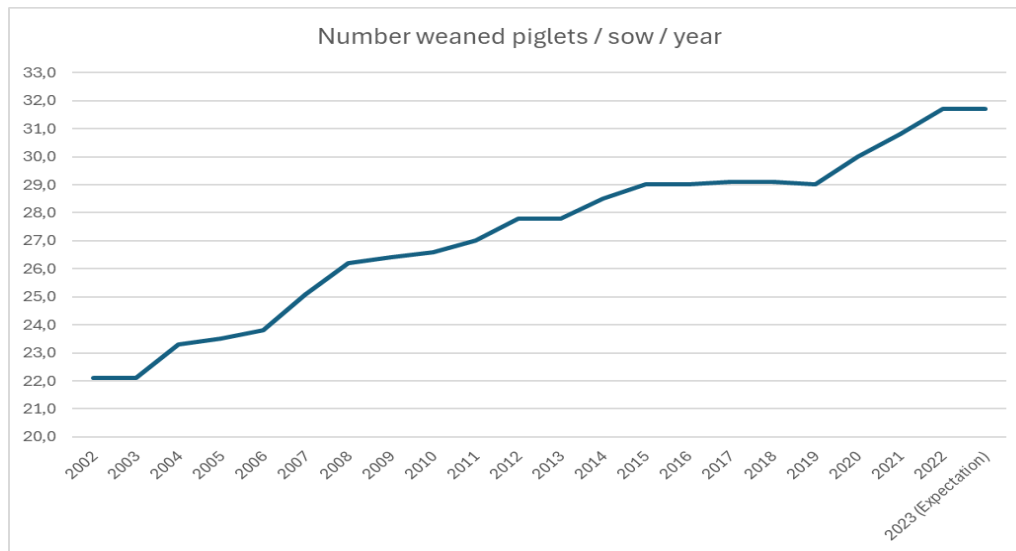


Figure 4 Development of the number of weaned piglets per sow per year in the Netherlands (Agrimatie, 2023)

FERMENTATION AND GASTROINTESTINAL HEALTH

In various countries (e.g. the Netherlands, Denmark) action programmes are being implemented to significantly reduce the use of antibiotics. Up to now in Dutch pig farming, the use of antibiotics has decreased by about 75% compared to 2009. However, especially in young animals, gastrointestinal disorders are an important cause of antibiotic use.

It is generally accepted that:

- gastrointestinal health is a key factor for a healthy animal with good production and is the basis for animal welfare;
- Microbiota play an important role in maintaining gastrointestinal health;
- Villus height (VH) to Crypt depth (CD) ratio is an important parameter for the absorptive capacity of the small intestine in both pigs and poultry;
- Higher VH:CD ratio means higher absorption of nutrients.

After weaning, villus shortening and crypt deepening in the small intestine of piglets often occur within a few days. Sufficient feed intake directly after weaning seems to prevent undesirable changes of the morphology in the small intestine. Diet formulation might influence gastrointestinal morphology, physiology, and microbiology. Scholten et al. (2002) studied the effects of adding fermented wheat (0 versus 45%) to liquid diets on gastrointestinal characteristics in weaned piglets. The result of that study indicates

that feeding a partly fermented liquid diet to weaning piglets may be a concept to prevent undesirable changes in mucosal architecture after weaning (Table 7).

Table 7 Morphological characteristics in first segment small intestine of weaned piglets fed a liquid diet with 0% (FERM-0) or 45% (FERM-45) fermented wheat (Scholten et al., 2002).

	FERM-0 ¹	FERM-45
Villus height (µm)	287 ^a	360 ^b
Crypt depth (µm)	255	242
VH : CD ratio	1.1 ^a	1.5 ^b

^{a,b} means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$), ¹ FERM-0: 45% non-fermented wheat, FERM-45: 45% fermented wheat

Wang et al. (2007) studied the effect of lactic acid fermented soybean meal (FSBM) on growth performance, intestinal microflora and morphology of weaned piglets (Figure 5 and 6). The addition of 10% FSBM in the diets of piglets improved ($p < 0.05$) the growth performance (data not shown), increased ($p < 0.05$) the numbers of intestinal lactobacilli, decreased ($p < 0.05$) the numbers of intestinal enterobacteria and increased ($p < 0.05$) the villus height (not shown) and villus height to crypt depth ratio at the small intestine mucosa compared to the control group.

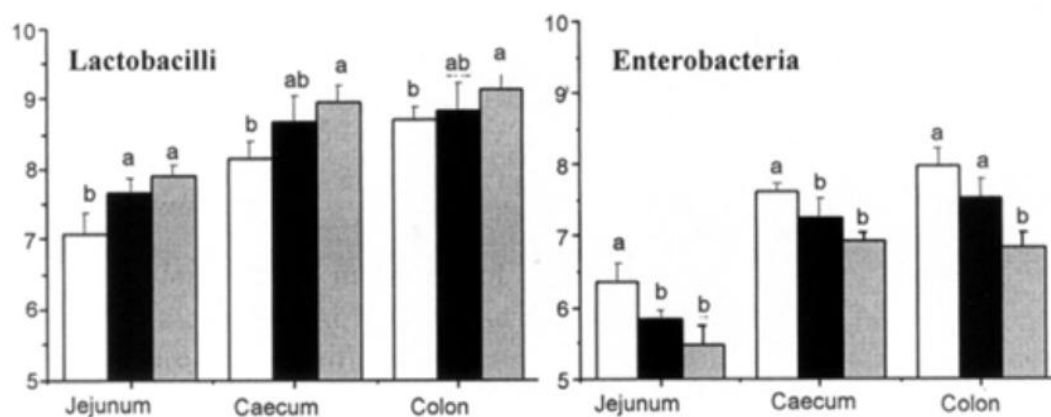


Figure 5 Effect of diet (white: control; black: 5% FSBM; grey: 10% FSBM) on the numbers of lactobacilli and enterobacteria (log cfu/g) in the content from jejunum, caecum and colon of piglets ($n = 12$) (Wang et al., 2007)

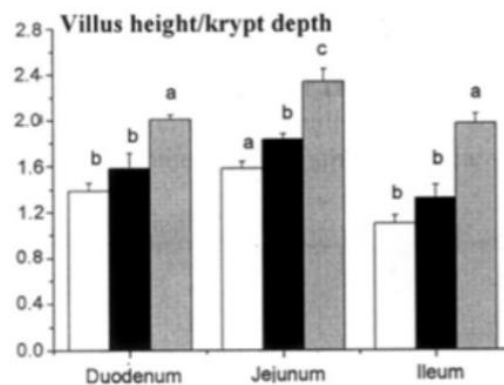


Figure 6 Effect of diet (white: control; black: 5% FSBM; grey: 10% FSBM) on the morphology of the villus height/crypt depth at different sites of small intestine (Wang et al., 2007)

Liu et al. (2022) conducted a weaned piglet trial in which they looked at the effect of replacing 12% soybean meal with soy protein concentrate (8.08%), fish meal (8.32%), or fermented soybean meal (9.74%). As shown in Table 8, the average daily gain (ADG) of piglets fed FSBM was significantly higher than those fed the other three treatments, and the gain feed ratio (G/F) ratio of piglets fed FSBM was higher than the CON and SPC groups. Also, piglets fed FSBM had the highest apparent total tract digestibility of gross energy and crude protein compared with the other three treatments. Piglets fed FSBM had significantly greater villus height, lower crypt depth and greater ratio villus height/crypt depth (Table 8).

The effect of feeding dry feed (DF), non-fermented liquid feed (NFLF), and fermented liquid feed (FLF) to growing pigs on aspects of gastrointestinal ecology was investigated by Canibe & Jensen (2003). Five pigs from each diet were sacrificed at an average body weight of 112 kg and digesta from the gastrointestinal tract (GI-tract) was obtained to examine variables describing some aspects of the gastrointestinal ecology. Fermented liquid feed contained high levels of lactic acid bacteria (9.4 log cfu/g) and lactic acid (approximately 169 mmol/kg), and low levels of enterobacteria ($P < 0.001$ for feed intake). The results from the present study indicate that feeding FLF may be a valid feeding strategy to decrease the levels of enterobacteria and increase the levels of lactic acid bacteria in the GI-tract of growing pigs (Table 9).

FERMENTATION AND GROWTH PERFORMANCE

Muniyappan et al. (2023) investigated the effects of soybean meal fermented by *Enterococcus faecium* as a replacement for soybean meal on growth performance and apparent total tract digestibility of weaned pigs. The four diets (SBM, 3, 6 and 9% FSBM) were formulated using fermented soybean meal to replace 0, 3, 6 and 9% of soybean meal, respectively. The trial lasted for 42 days. As can be seen from Figures 7 and 8, supplemental FSBM increased ($P < 0.05$) the body weight (BW) of piglets at days 7, 21 and 42 and ADG at days 1–7, 8–21, 22–42 and 1–42, and average daily feed intake (ADFI) at days 8–21, 22–42 and 1–42 and G/F at days 1–7, 8–21 and 1–42, and crude protein, dry matter, and gross energy digestibility at day 42, and lowered ($P < 0.05$) diarrhoea at days 1–21 and 22–42 (data not shown). Overall, using fermented soybean meal of piglets improves the health and performance of piglets.

Table 8 Effect of diets supplied with soy protein concentrate, fish meal, or fermented soybean meal on growth performance, diarrhoea rate, apparent total tract digestibility, intestinal morphology of weaned piglets (Liu et al., 2022)

	CON ¹	SPC	FM	FSBM
Initial body weight (kg)	6.74	6.73	6.74	6.72
Day 0–14				
ADG (g) ²	277 ^c	302 ^{bc}	334 ^{ab}	346 ^a
ADFI (g) ³	457	477	504	504
G/F ⁴	0.61 ^b	0.63 ^b	0.68 ^a	0.69 ^a
Diarrhoea rate (%)	5.95 ^a	2.86 ^b	4.29 ^{ab}	2.14 ^b
Day 0–14				
ATTD GE ⁵	77.17 ^c	79.36 ^b	79.71 ^b	81.04 ^a
ATTD CP ⁵	72.20 ^c	75.49 ^b	74.79 ^b	77.79 ^a
Villus height (µm) ⁶	445.51 ^b	490.54 ^{ab}	496.21 ^{ab}	515.03 ^a
Crypt Depth (µm)	372.96 ^a	344.05 ^b	347.81 ^b	339.06 ^b
VH/CD ratio	1.20 ^b	1.44 ^a	1.43 ^a	1.53 ^a

¹CON = basal diet with soybean meal, SPC = basal diet with 12% SBM replaced by soy protein concentrate, FM = basal diet with 12% SBM replaced by fish meal, FSBM = basal diet with 12% SBM replaced by fermented soybean meal. ²ADG = average daily gain. ³ADFI = average daily feed intake. ⁴G/F = growth to feed ratio. ⁵ATTD apparent total tract digestibility, GE = gross energy, CP = crude protein. ⁶Measured at day 28, 4 piglets per treatment, values are from the duodenum section small intestine. ^{a,b,c} Mean values within a row with different letters differ at $p < 0.05$

Table 9 Microbial counts (log cfu/g) along the gastrointestinal tract of pigs fed the experimental diets (Canibe & Jensen, 2003)

Bacterial counts in GIT (log cfu/g)	Dry Feed	Liquid Feed (non-fermented)	Liquid Feed (fermented)
Lactic Acid Bacteria			
Stomach	< 5.4 ^a	7.9 ^b	9.0 ^c
Distal small intestine	< 6.3 ^a	< 6.5 ^a	7.2 ^b
Enterobacteria			
Stomach	3.8 ^a	5.7 ^b	< 3.2 ^c
Distal small intestine	5.5 ^a	6.6 ^b	< 4.1 ^c

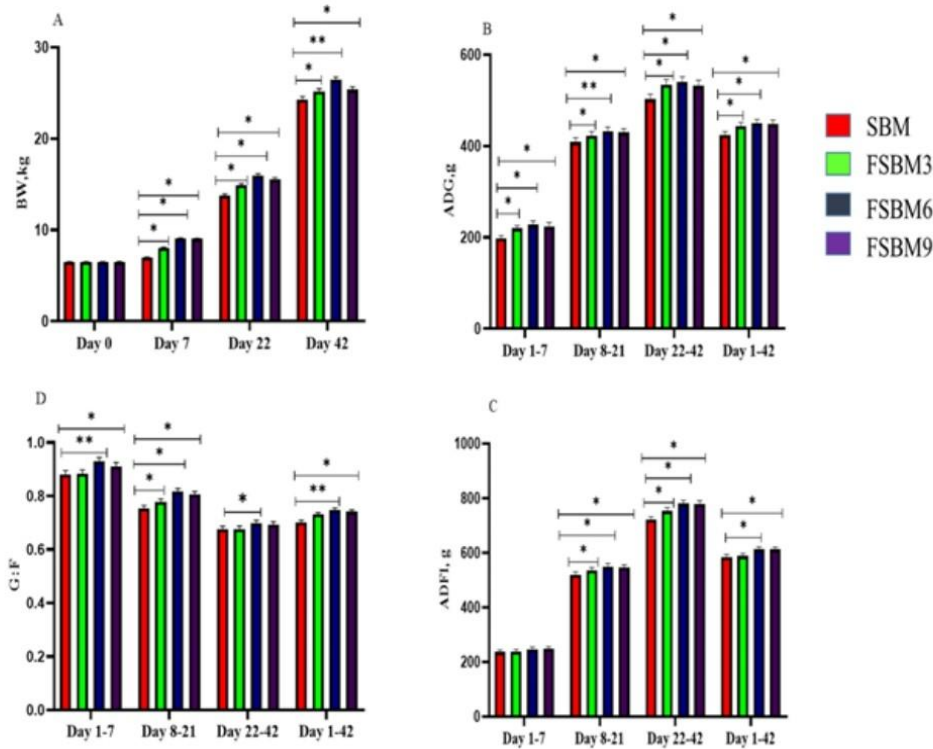


Figure 7 Effect of fermented soybean meal (FSBM) on growth performance in piglets. A) Body weight (BW), B) Average Daily Gain (ADG), C) Average Daily Feed Intake (AFDI), D) Gain to Feed ratio (G:F). * $P < 0.05$ ** $P < 0.001$ (Muniyappan et al., 2023)

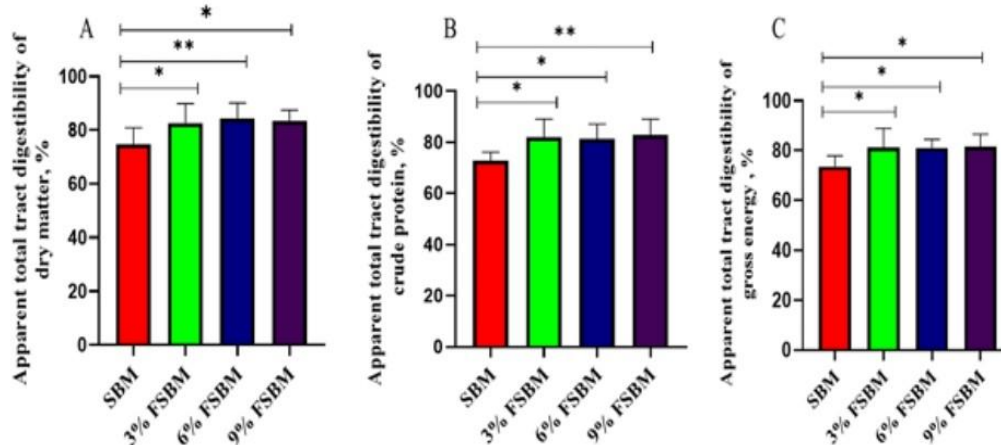


Figure 8 Effect of fermented soybean meal (FSBM) on apparent total tract digestibility in piglets. A) Dry Matter (DM), B) Crude Protein (CP), C) Gross Energy (GE). * $P < 0.05$ ** $P < 0.001$ (Muniyappan et al., 2023)

Fan et al. (2022) evaluated the effects of dry feed and liquid feed including fermented mixture on growth performance and nutrient digestibility in weaning pigs. The three dietary treatments (all non-pelleted diets) were: 1) a standard dry feed as the control (CON), 2) a control diet supplemented with antibiotics (AB), and 3) a liquid feeding with a fermented diet (LFD). The liquid feeding diet, having the same composition and proportion of each ingredient as the control diet, was prepared by storing the dietary cereals (corn, soybeans, etc.) and water (1:0.5, wt/wt) in a closed tank at 26–30 °C with enzymes

and bacteria, and then adding the remaining dietary ingredients immediately before feeding. The whole trial lasted 42 days. The results showed liquid feeding group significantly increased ($p < 0.05$) average daily gain, average daily feed intake, and final body weight compared to the other two dietary groups (Table 10). The digestibility of crude protein, ether extract, ash, gross energy, Ca, and P also improved in the liquid feeding group (data not shown). In addition, microbiota measurement suggested an increase in *Lactobacillus* content and a decrease in *Escherichia coli* in the caecal and colonic digesta of piglets in the liquid feeding group (data not shown). In conclusion, the combination of liquid feeding + fermented feedstuffs seem to be a good alternative for the use of antibiotics, as shown by higher feed efficiency and better growth performance in the piglets.

Table 10 Effects of liquid feeding of fermented diet on growth performance and diarrhoea of weaned piglets (Fan et al., 2022)

	CON	CON + AB	LFD
Number of piglets	66	66	66
Days 1-14			
ADG (g) ³	117.4 ^b	152.9 ^a	166.5 ^a
ADFI (g) ³	252.5 ^b	276.5 ^{ab}	302.9 ^a
F/G ³	2.22 ^a	1.83 ^b	1.84 ^b
Diarrhoea rate (%)	11.0	8.8	9.6
Days 1-42			
ADG (g) ³	341.1 ^b	369.6 ^b	454.1 ^a
ADFI (g) ³	539.9 ^b	589.1 ^b	685.6 ^a
F/G ³	1.59	1.59	1.51
Diarrhoea rate (%)	9.7	6.8	6.8

^{a,b} means in a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$); CON = standard dry feed; CON + AB = control + antibiotics; LFD = liquid feeding with fermented feedstuffs; ³ADG: average daily gain, ADFI = average daily feed intake, F/G = feed to gain ratio

CONCLUSIONS

Microbial fermentation is a technology with enormous potential to provide a solution to today's challenges in animal protein production. Fermentation of raw materials reduces the use of antibiotics and is a good alternative to other additives (*e.g. zinc oxide*). Fermentation breaks down anti-nutritional factors in raw materials, without the need to use high-energy demanding techniques such as extruders or expanders. In addition, the heat-stable ANFs are also largely phased out by fermentation. Degradation of ANFs improves feed efficiency and makes it possible to better value certain (protein-rich) raw materials in feeds for monogastric animals. Finally, fermentation also contributes to reducing the carbon footprint. On the one hand, because of the better feed efficiency, but on the other hand also because of the upgrading of raw materials that are normally not or minimally included in rations for monogastric animals. Think of fibre-rich raw materials.

REMARKS

Given the limited space in this article, there are only studies on the effect of fermented soybean meal in pigs listed. However, dozens of articles have appeared in the literature with other fermented raw materials (e.g. rapeseed meal, sunflower meal, cereals, peas, cottonseed meal, wheat semolina, soya hulls), as well as with other animal species (broilers, laying hens, calves, shrimps, aqua).

REFERENCES

- Agrimatie (2023): <https://agrimatie.nl/ThemaResultaat.aspx?subpubID=2290&themaID=2272&indicatorID=2086§orID=2262>
- Canibe, N., & Jensen, B. B. (2003): Fermented and nonfermented liquid feed to growing pigs: Effect on aspects of gastrointestinal ecology and growth performance. *J. Anim. Sci.* 81(8), 2019–2031. DOI: <https://doi.org/10.2527/2003.8182019x>
- Chen, C. C., Liu, Y., Wang, Z. F., Li, Z., & Zhang, H. (2010): Evaluating nutritional quality of single stage- and two stage-fermented soybean meal. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 23(5), 598–606. DOI: <https://doi.org/10.5713/ajas.2010.90341>
- Chen, Y., Zhang, L., & Li, Y., (2021): Nutritional quality improvement of soybean meal by *Bacillus velezensis* and *Lactobacillus plantarum* during two-stage solid-state fermentation. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-021-01184-x>
- Chi, S. Y., & Cho, J. H. (2016): Improvement of bioactivity of soybean meal by solid-state fermentation with *Bacillus amyloliquefaciens* versus *Lactobacillus* spp. and *Saccharomyces cerevisiae*. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.12.002>
- Fan, Y., Zhang, X., & Li, T. (2022): Diets fermented with bacteria and enzymes in China improve growth performance and health of weaned piglets. *Agriculture*, 12, 1984. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture12121984>
- FAO (2017): <https://www.fao.org/family-farming/detail/en/c/1634679/>
- Green Deal Europe (2020): https://commission.europa.eu/strategy-and-policy/priorities-2019-2024/european-green-deal_en
- Kumar, P., Singh, P., & Verma, A. K. (2015): Natural and cultured buttermilk. In Puniya, A. K. (Ed.), *Fermented Milk and Dairy Products* (pp. 203–225), USA: CRC Press/ Taylor and Francis.
- Liu, X., Zhang, Y., & Li, Z. (2022): Effects of a new fermented soya bean meal on growth performance, serum biochemistry profile, intestinal immune status and digestive enzyme activities in piglets. *J. Anim. Physio. Anim. Nutr.* 106(5), 1046–1059. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.13649>
- Muniyappan, M., Kumar, S., & Rath, R. (2023): Effects of fermented soybean meal supplementation on the growth performance and apparent total tract digestibility by modulating the gut microbiome of weaned piglets. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30698-6>
- Murray (2022): Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)
- O'Neill, J. (2013): Review on Antimicrobial Resistance. Tackling Drug-Resistant Infections Globally. Available from: https://amr-review.org/sites/default/files/160525_Final%20paper_with%20cover.pdf
- Scholten, J., Gausling, R., & Bertram, H. C. (2002): Fermented wheat in liquid diets: effects on gastrointestinal characteristics in weanling piglets. *J. Anim. Sci.*, 80(5), 1179–1186. DOI: <https://doi.org/10.2527/2002.8051179x>

- Sharma, P., Sharma, S., & Kumar, S. (2020): Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods, *Fermentation*, 6, 106. DOI: <https://doi.org/10.3390/fermentation6040106>
- SUNY ER services Microbiology. <https://courses.lumenlearning.com/suny-microbiology/chapter/how-microbes-grow/>
- United Nations, <https://www.un.org/en/global-issues/population>
- Van Boeckel, T. P., Pires, J., Silvester, R., Zhao, C., Song, J., & Criscuolo, N. G. (2019): Global trends in antimicrobial resistance in animals in low- and middle-income countries. *Science*, 365(6459), eaaw1944. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.aaw1944>
- Wang, N. F., Chen, Q., Le, G. W., Shi, Y. H., & Sun, J. (2007): Effect of lactic acid fermented soybean meal on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weaned piglets. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 16(1), 75–85. DOI: <https://doi.org/10.22358/jafs/66728/2007>
- Wang, X., Zhang, Y., Li, Z., & Zhang, P. (2020): Dietary fermented soybean meal replacement alleviates diarrhea in weaned piglets challenged with enterotoxigenic *Escherichia coli* K88 by modulating inflammatory cytokine levels and cecal microbiota composition. *BMC Veterinary Research*, 16, 245. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02466-5>
- Yan, L., Li, H., Zhang, Q., & Wang, X. (2022): Fermented soybean meal increases nutrient digestibility via the improvement of intestinal function, anti-oxidative capacity and immune function of weaned pigs. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2022.100557>
- Zhu, X., Li, Y., Zhang, L., & Wang, Q. (2017): Effects of soybean meal fermented by *L. plantarum*, *B.subtilis* and *S.cerevisiae* on growth, immune function and intestinal morphology in weaned piglets. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0809-3>



PREVENTING POST WEANING DIARRHEA IN PIGS BY USING BIOACTIVE COMPOUNDS

Giuseppe Bee

Swine Research Group, Agroscope, 1725 Posieux, Switzerland

ABSTRACT

Post-weaning diarrhea (PWD) is a significant challenge in pig production, driven by physiological, immunological, and microbiological disruptions during the weaning transition. Conventional management strategies, such as antibiotics and zinc oxide, face increasing regulatory and environmental constraints, highlighting the need for alternative solutions. Tannins, plant-derived polyphenols with antimicrobial, gut-modulating, and anti-inflammatory properties, have emerged as a promising tool for mitigating PWD. In vitro studies demonstrate tannins' ability to enhance intestinal barrier integrity, reduce pathogenic bacterial adhesion, and suppress inflammatory responses, addressing key drivers of PWD. Additionally, their modulation of gut microbiota fosters a healthier microbial balance. While experimental and mechanistic studies support tannins' efficacy, further research is needed to optimize their application and address variability in their effects. Tannins offer a sustainable, natural alternative to conventional prophylactics, potentially improving piglet health and productivity while aligning with environmental and regulatory goals.

INTRODUCTION

The weaning phase is one of the most critical periods in a pig's life, where significant physiological, nutritional, and environmental changes occur. This transition from a milk-based diet to solid feed is often accompanied by disruptions in gut physiology, immunity, and microbiota, resulting in post-weaning diarrhea (PWD) (Guevarra et al., 2018; Tang et al., 2022). The condition is characterized by frequent watery faces, weight loss, and dehydration, leading to high piglet mortality rates. Traditionally, PWD has been managed using antibiotics and pharmacological levels of zinc oxide. However, the growing global concerns regarding antimicrobial resistance and the environmental impact of zinc oxide have necessitated the development of alternative solutions. Bioactive compounds, particularly tannins, have emerged as a promising strategy for mitigating PWD. These plant-derived polyphenols exhibit antimicrobial, gut-modulating, and anti-inflammatory properties, providing a natural and sustainable alternative to conventional prophylactic measures (Girard & Bee, 2020).

This short review synthesizes findings from experimental studies and mechanistic investigations to evaluate the potential of tannins in PWD prevention. The discussion integ-

rates evidence from recent research, including studies on chestnut tannins and harmonized in vitro digestion models, with practical insights into their application in piglet diets.

PATHOPHYSIOLOGY OF POST-WEANING DIARRHEA

Post-weaning diarrhea has a multifactorial etiology, encompassing physiological, immunological, and microbiological disturbances. This complexity renders its effective management a significant challenge. The weaning process introduces significant and abrupt changes to the gastrointestinal tract (GIT) as piglets undergo a dietary transition from a predominantly milk-based diet to one based on solid feedstuffs. This dietary shift occurs concurrently with social and environmental stressors, which collectively place substantial demands on the digestive and immune systems of the piglets. Consequently, the physiological adjustments that are necessary during this phase frequently exceed the capacity of the piglets to maintain intestinal homeostasis, thereby creating an environment favorable to diarrhea.

One of the most significant changes that occurs following weaning is the disruption of intestinal morphology and function. The small intestine, which plays a critical role in digestion and nutrient absorption, undergoes transient structural alterations, including villous atrophy and crypt hyperplasia. The reduction in absorptive surface area caused by villous atrophy impairs the intestine's ability to effectively process nutrients. Concurrently, crypt hyperplasia, which involves an increase in the number of immature cells in the intestinal crypts, represents a compensatory mechanism to replace the damaged villous cells. However, this regeneration often occurs at the expense of functional maturity, resulting in an immature epithelial layer that cannot fully support digestive or absorptive processes (Tang et al., 2022).

In addition to these structural changes, there is a marked reduction in the activity of brush border enzymes, which are essential for nutrient digestion. The diminished activity of enzymes such as lactase and sucrase aggravates malabsorption, leading to the accumulation of undigested nutrients in the intestinal lumen (Heo et al., 2013). This accumulation creates an osmotic imbalance, where water is drawn into the gut lumen, contributing to the watery feces characteristic of PWD. The presence of undigested nutrients serves to further encourage microbial fermentation in the hindgut, thereby contributing to increased production of toxic by-products, including branched-chain fatty acids, indole, phenols, ammonia, and biogenic amines, within the GIT (Heo et al., 2013).

The difficulties associated with nutrient absorption are worsened by disturbances in intestinal permeability, which is frequently referred to as "leaky gut." During the weaning period, the intestinal epithelial barrier becomes compromised, allowing the translocation of toxins and antigens into the bloodstream. This increased permeability is associated with a reduction in the expression of tight junction proteins, such as Zonula Occludens and Claudin, which are critical for maintaining the integrity of the intestinal barrier. As the barrier function weakens, the risk of systemic inflammation and secondary infections rises, further complicating the clinical management of PWD (Hu et al., 2013).

Gastric function also plays a significant role in the pathophysiology of PWD. The transition from liquid to solid feed is associated with a reduction in gastric acid production, leading to an elevated gastric pH. The elevated pH environment reduces the stomach's ability to prevent ingested pathogens from surviving, creating favorable conditions for their proliferation. Gastric stasis or the slowing of stomach emptying, is another challenge during this period. The delayed passage of food through the stomach can lead to bacterial overgrowth and fermentation, increasing the microbial load of pathogens that enter the small intestine (Heo et al., 2013).

Microbiological changes during weaning are another critical component of PWD. The gut microbiota, which is responsible for maintaining a healthy microbial balance and protecting against pathogens, is significantly altered. Beneficial bacteria such as *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* are often diminished, while opportunistic pathogens, including enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), proliferate. Enterotoxigenic *Escherichia coli* is particularly problematic, as it adheres to intestinal epithelial cells using fimbrial adhesins such as F4 and F18. Once adhered, ETEC secretes heat-labile and heat-stable enterotoxins, disrupting the normal electrolyte transport. These toxins stimulate the secretion of chloride ions while inhibiting sodium absorption, leading to excessive water secretion into the intestinal lumen and the onset of diarrhea (Buddle & Bolton, 1992; Pluske et al., 2002).

The immunological impact of weaning also plays a critical role in the development of PWD. The removal of maternal antibodies provided through milk leaves piglets immunologically vulnerable. The immature immune system struggles to respond effectively to the sudden influx of environmental and dietary antigens, resulting in increased susceptibility to infection. This is further complicated by the upregulation of pro-inflammatory cytokines, which contribute to the inflammation and damage observed in the intestinal epithelium (De et al., 2017; Hu et al., 2013). The inflammatory response impairs gut permeability, creating a vicious cycle where the compromised barrier allows further infiltration of pathogens, perpetuating the condition.

In regions where pathogenic pressures are high, such as on farms with suboptimal hygiene practices, the prevalence of ETEC-related PWD is particularly concerning. Studies have shown that ETEC is responsible for up to 43% of PWD cases in Swiss pig farms, highlighting the pathogen's significant role in disease prevalence (Schubnell et al., 2016). The high shedding rates of ETEC in infected piglets contribute to its rapid spread within herds, emphasizing the need for targeted interventions that can interrupt its pathogenesis.

In conclusion, the pathophysiology of PWD is a multifaceted process involving disruptions to intestinal structure, function, and microbiota, compounded by immune system immaturity and stress-induced vulnerabilities. These changes collectively create an environment that supports the proliferation of pathogens like ETEC, whose toxins drive the electrolyte imbalances and fluid loss that characterize PWD. Understanding these interconnected mechanisms is essential for developing effective prevention and treatment strategies that address the root causes of the condition.

THE ROLE OF TANNINS IN THE PREVENTION OF POST-WEANING DIARRHEA

Due to their diverse chemical composition, tannins, which are plant-derived polyphenolic compounds, have received considerable attention in recent years. Their potential for alleviating the challenges associated with PWD in piglets has become an area of significant interest. Their multifunctional properties, including antimicrobial, antioxidant, and gut-modulating effects (Maugeri et al., 2022; Mueller-Harvey, 2006), position them as a promising alternative to antibiotics and pharmacological levels of zinc oxide in the prevention of PWD. By targeting multiple aspects of the condition's pathophysiology, tannins offer a comprehensive approach to maintaining gut health and reducing the impact of pathogens such as ETEC.

The antimicrobial effects of tannins are among their most well-documented properties, rendering them especially valuable in environments susceptible to pathogenic challenges. Tannins exert their antimicrobial action through three primary mechanisms: disruption of bacterial cell membranes, denaturation of bacterial proteins, and interference with microbial enzymatic activity (Scalbert, 1991). In the context of ETEC-related PWD, tannins have been demonstrated to be particularly effective at preventing bacterial adhesion to the intestinal epithelium. As previously mentioned, ETEC relies on fimbrial F4 or F18 adhesins to attach to glycoprotein receptors on the intestinal brush border. Tannins have been shown to bind to these receptors or fimbrial structures, preventing ETEC from adhering to the epithelial cells and thereby interrupting its pathogenesis and reducing the bacterial load in the gut (Girard & Bee, 2020).

Beyond their direct antimicrobial effects, tannins also modulate the gut microbiota, fostering a healthier balance of microbial populations. Studies have shown that tannins reduce the abundance of pathogenic bacteria such as ETEC and *Clostridium perfringens* while promoting beneficial species like *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*. This modulation of the microbiota contributes to enhanced gut resilience, as beneficial microbes compete with pathogens for nutrients and adhesion sites, produce antimicrobial metabolites and stimulate the host's immune response. The ability of tannins to shift the gut microbiota toward a more favorable composition is particularly important during the weaning period when disruptions to the microbial ecosystem are common (Puljula et al., 2020).

Another crucial function of tannins in preventing PWD is their potential to alleviate the inflammatory response in the intestinal tract. Tannins have anti-inflammatory properties due to their ability to inhibit the production of pro-inflammatory cytokines, including tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 (Ekambaram et al., 2022). These properties help maintain the structural and functional integrity of the intestine, thereby facilitating a more rapid recovery from disturbances caused by the weaning process and pathogen exposure.

The benefits of tannins extend to their influence on the digestibility and utilization of nutrients. Although tannins have been the subject of criticism due to their protein-binding properties, which can reduce protein digestibility, recent studies indicate that these effects are dose-dependent and can be managed through the formulation of a care-

fully designed diet. Furthermore, the interaction of tannins with dietary proteins may result in a reduction in the availability of nutrients for pathogenic bacteria, thereby limiting their growth and activity in the gut. This selective inhibition of pathogenic bacteria without disturbing beneficial microbes highlights the potential of tannins as a dietary tool. One of the most compelling demonstrations of tannins' efficacy is evidenced by studies examining the effects of chestnut tannin extracts on weaned piglets. In an experiment conducted by Girard et al. (2020), the effects of dietary supplementation with chestnut tannin extracts were investigated in piglets experimentally infected with ETEC F4. This study found that piglets receiving a chestnut extract rich in hydrolysable tannins exhibited significantly lower fecal scores, indicative of reduced diarrhea severity, compared to untreated controls (Figure 1). Additionally, ETEC shedding in the feces was markedly reduced in the tannin-supplemented group, demonstrating the antimicrobial properties of tannins against key pathogens associated with PWD. Beyond their impact on diarrhea, tannin supplementation was associated with improved growth performance, as evidenced by a 20% increase in feed intake and a 34% improvement in average daily gain compared to the control group (Figure 2). These findings underscore the dual benefits of tannins in enhancing health outcomes and supporting productivity in weaned piglets.

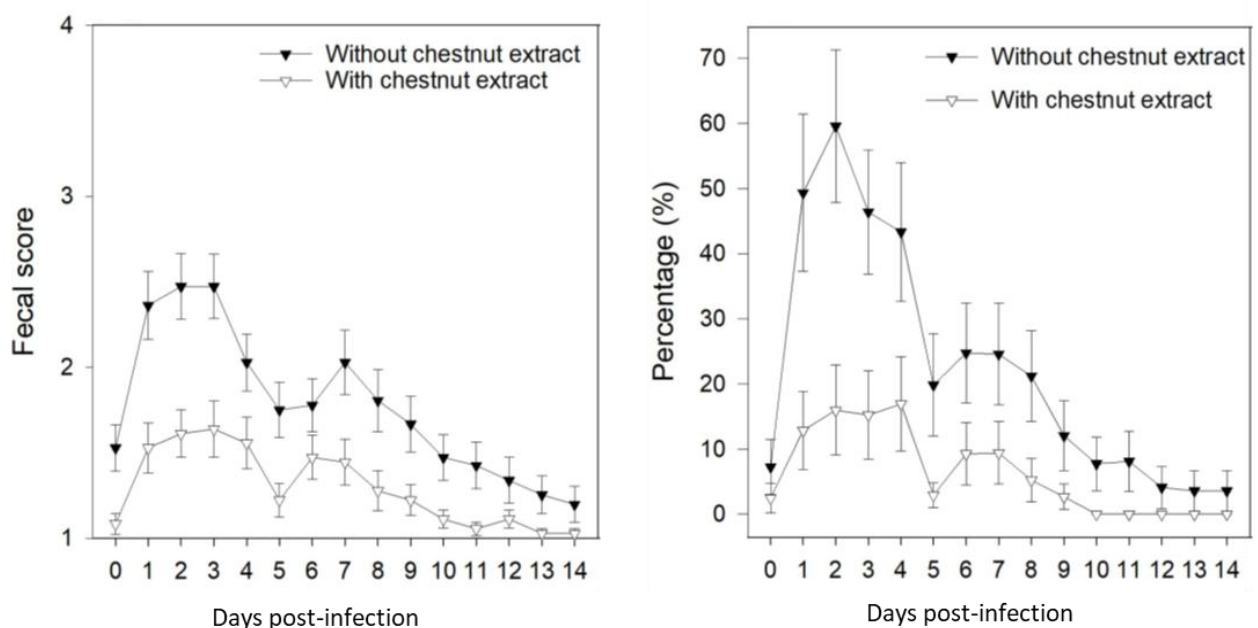


Figure 1 Effects of chestnut extract supplementation on the fecal score and the percentage of piglets with diarrhea from days 0–14 post-infection. Fecal scores ≥ 3 were termed diarrhea. Pigs (N = 36) in the unsupplemented group had *ad libitum* access to a control standard starter diet, which was formulated according to the Swiss feeding recommendations for pigs (Agroscope, 2017). Pigs (N = 36) in the chestnut extract supplemented group had *ad libitum* access to the chestnut extract supplemented diet, in which wheat straw in the unsupplemented diet was substituted for with 2% chestnut extract (Silvafeed Nutri P/ENC for Swine; Italy). P-values for the main effects: chestnut extract supplementation: $P < 0.001$; Time: $P < 0.001$ for each; source: Girard et al. (2020)

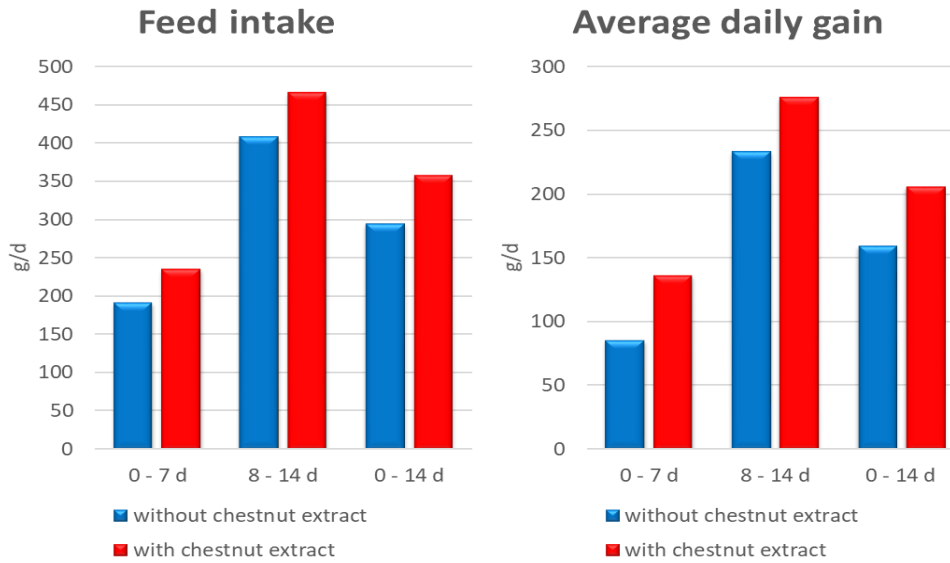


Figure 2 Feed intake (g/day/pen) and average daily gain (g/day) from days 0–7, 8–14, and 0–14 post-infection of piglets with *ad libitum* access to an unsupplemented starter diet or a starter diet supplemented with 2% chestnut extract. In the chestnut extract-supplemented diet, 2% chestnut extract (Silvafeed Nutri P/ENC for Swine, Italy) replaced wheat straw from the unsupplemented diet. P-values for the main effects: chestnut extract supplementation: $P \leq 0.04$; Time: $P < 0.001$ for each; source: Girard et al. (2020)

In conclusion, tannins play a multifaceted role in the prevention of PWD by targeting its key pathophysiological mechanisms. Through their antimicrobial effects, modulation of gut microbiota, enhancement of intestinal barrier function, and anti-inflammatory properties, tannins can provide comprehensive protection against the disruptions caused by weaning. Their ability to simultaneously address pathogen load, gut health, and nutrient utilization makes them an invaluable tool in the pursuit of sustainable and effective PWD management strategies.

MECHANISTIC INSIGHTS FROM *IN VITRO* STUDIES

The mechanistic effects of tannins on GIT health and pathogen mitigation have been extensively studied using *in vitro* models. These controlled experimental setups, including harmonized digestion models and Ussing chambers, offer critical insights into how tannins interact with the GIT and their potential to prevent PWD (Reggi et al., 2020; Yu et al., 2020). By simulating the physiological environment of the piglet's gut, these studies provide valuable data on tannins' impact on intestinal integrity, and their role in modulating gut function.

The use of Ussing chambers has illuminated how tannins affect intestinal barrier function. These models allow researchers to measure parameters such as trans-epithelial electrical resistance (TEER), which is an indicator of epithelial barrier integrity. In experiments involving digested chestnut tannins, we observed a significant increase in TEER values, suggesting that tannins strengthen the intestinal barrier (Figure 3; Tretola et al. (2022)). A tighter epithelial barrier is crucial in preventing the translocation of pathogens, toxins, and other harmful substances from the gut lumen into systemic circulation.

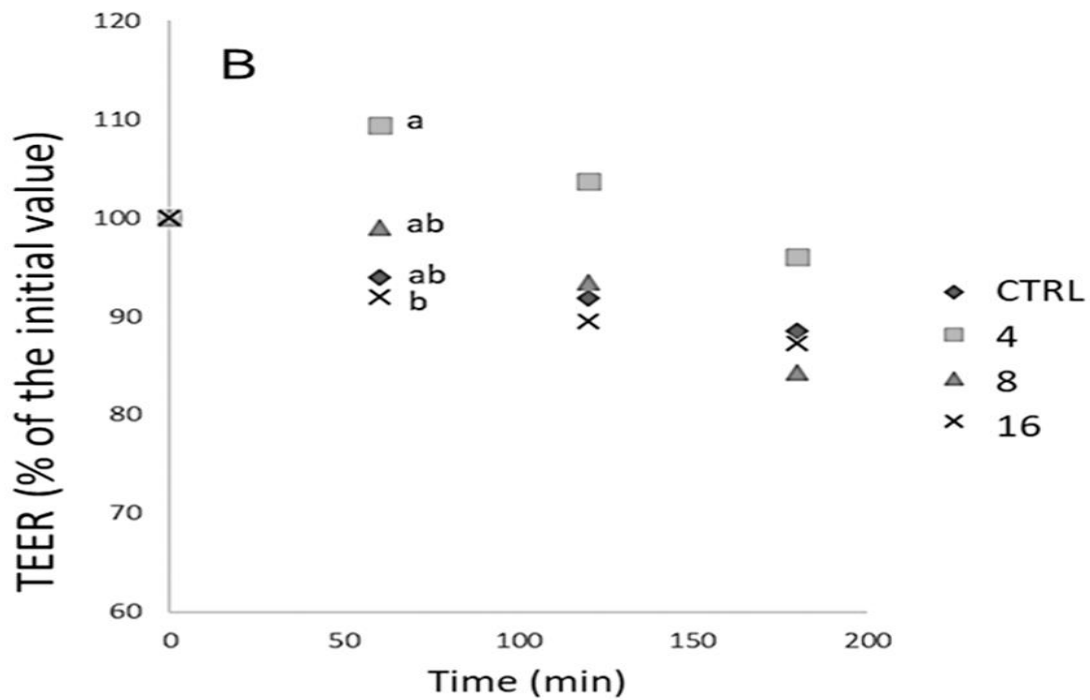


Figure 3 Changes in trans-epithelial resistance (TEER; expressed as % of the basal TEER) induced by luminal application of three dilutions (4 = 1:4; 8 = 1:8; 16 = 1:16) of digested chestnut extracts (v/v) (sample to apical Kreb's Ringier buffer) to the porcine intestinal mucosa. Different letters indicate a significant ($P < 0.05$) statistical difference. Data for each dilution were obtained in five ($n = 5$) independent experiments (source: Tretola et al. (2022))

The ability of tannins to modulate tight junction proteins, such as Zonula Occludens 1 and Occludin, has also been confirmed through *in vitro* studies (Yu et al., 2020). These proteins are essential for maintaining the cohesion of epithelial cells, forming a selective barrier that regulates the passage of molecules between the gut lumen and the bloodstream. When intestinal tissues are exposed to digested tannin extracts, an upregulation of tight junction protein expression is observed, correlating with improved barrier integrity (Figure 4). This effect is particularly evident in tissues compromised by stressors such as indomethacin, a nonsteroidal anti-inflammatory drug known to weaken tight junctions. In the presence of tannins, the damage caused by indomethacin is mitigated, demonstrating the restorative potential of tannins under adverse conditions (Figure 5; Tretola et al. (2022)). The digestion and bioavailability of tannins have also been explored using the harmonized *in vitro* digestion model INFOGEST (Brodkorb et al., 2019). This model simulates the digestive processes that occur in the stomach and small intestine allowing researchers to assess how tannins are broken down and their metabolites are formed. Studies have shown that tannins undergo significant degradation during digestion, with the majority of their bioactivity localized to the gut. The polyphenolic metabolites produced during tannin degradation retain gut-modulating properties, suggesting that even after partial breakdown, tannins continue to exert beneficial effects (Tretola et al., 2023).

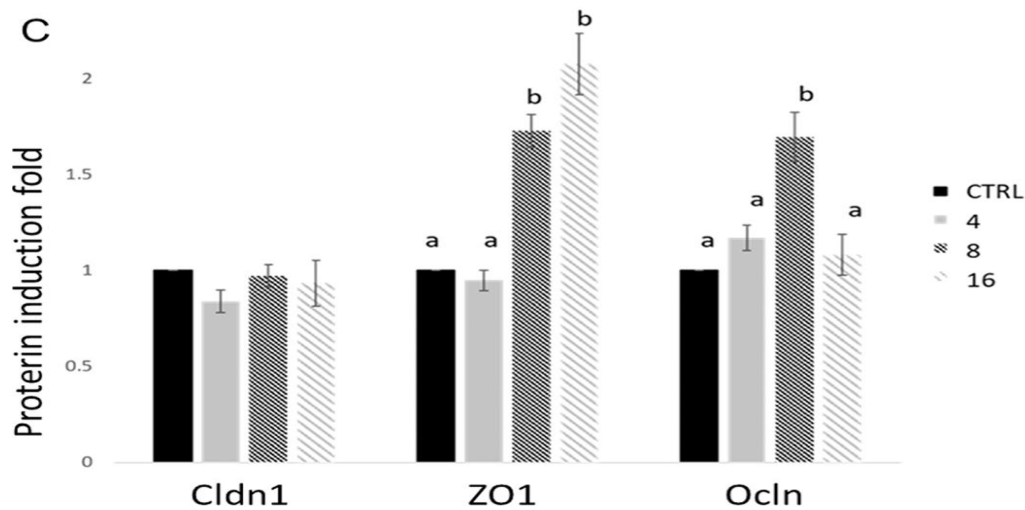


Figure 4 Tight junction protein induction fold in tissue incubated for 180 min with three digested chestnut extracts (CHEs) dilutions (4 = 1:4; 8 = 1:8; 16 = 1:16 v/v sample to apical Kreb's Ringier buffer). CLDN1: claudine-1; ZO1: zonula occludens-1; OCLN: occludin. Data are LS-means $\pm$ standard deviations. Data were obtained by at least five independent experiments. ^{ab} Different superscripts indicate a significant ($P < 0.05$) statistical difference (source: Tretola et al., 2022)

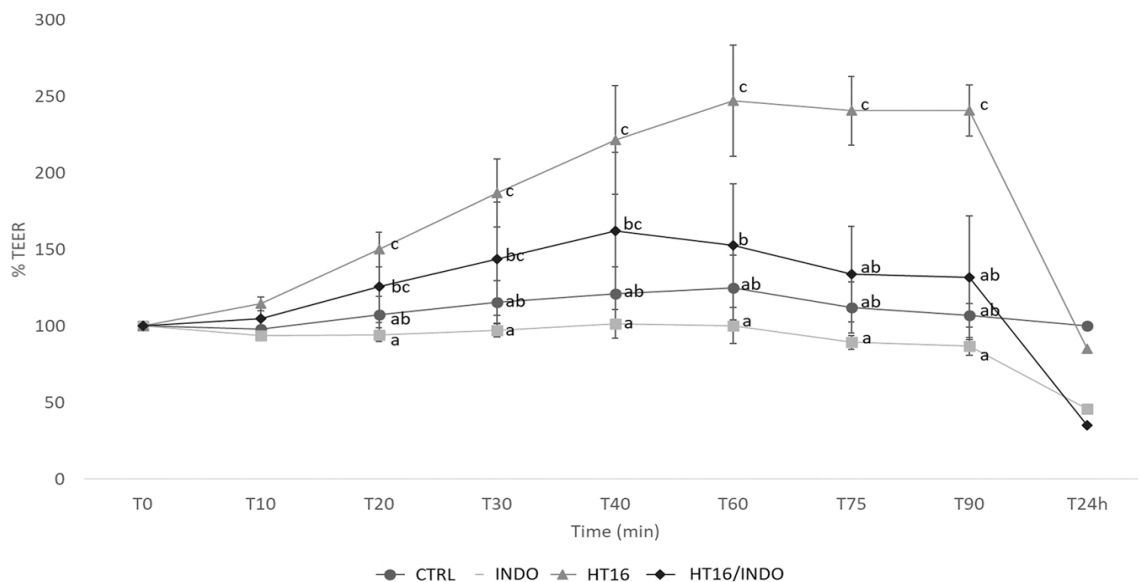


Figure 5 Effect of indomethacin (INDO, 250 μ M) on the barrier function of pig jejunum and protection by digested CHE at a 1:16 dilution (v/v) (sample to apical Kreb's Ringier buffer). 16/INDO = digested CHE diluted 1:16 (v/v) (sample to apical Kreb's Ringier buffer) in the presence of indomethacin; 16 = digested CHE diluted 1:16 (v/v). ^{abc} Different superscripts indicate a significant ($P < 0.05$) statistical difference (source: Tretola et al., 2022)

Interestingly, the ability of tannins to complex with dietary proteins has implications for their activity in the gut. *In vitro* experiments assessing protein digestibility have demonstrated that tannins reduce the enzymatic breakdown of proteins (Figure 6) by binding to them and/or inhibiting proteolytic enzymes (Tretola et al., 2022). While this interaction may reduce protein digestibility, it may also, as previously suggested, limit the availability of proteins to pathogenic bacteria, effectively starving them and inhibiting their growth.

Finally, the anti-inflammatory properties of tannins have been elucidated through *in vitro* experiments measuring cytokine production. In response to inflammatory stimuli,

including bacterial toxins, tannins reduce pro-inflammatory cytokines such as tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6), alleviating epithelial inflammation. This anti-inflammatory effect reduces the damage to intestinal tissues caused by excessive immune activation, allowing for faster recovery of gut homeostasis (Piazza et al., 2022).

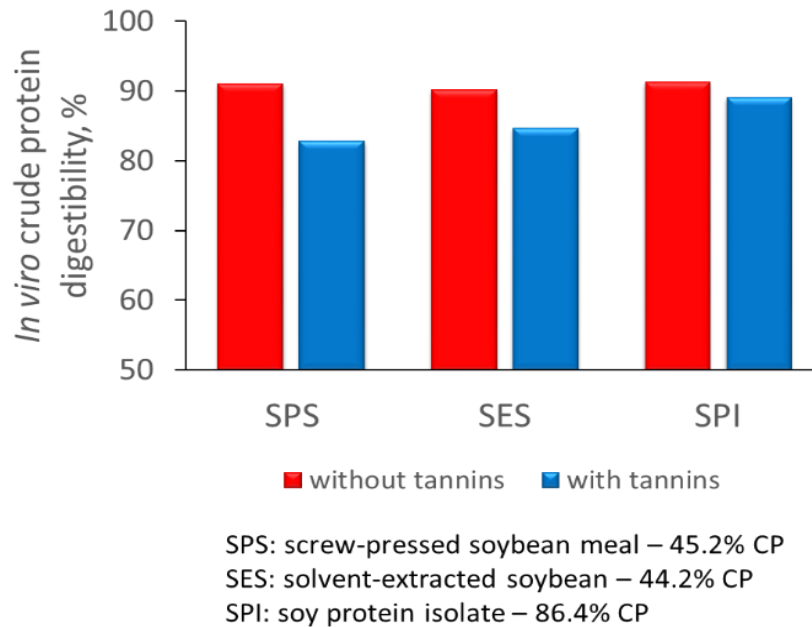


Figure 6 Effects of 30 g/kg as-fed supplemented chestnut extract on *in vitro* digestibility of the crude protein of soybean meal products and soy protein isolate (source: Tretola et al. (2022))

In summary, *in vitro* studies have provided critical mechanistic insights into how tannins mitigate the key drivers of PWD. Tannins enhance intestinal barrier integrity by increasing TEER and upregulating tight junction proteins, while also mitigating stressor-induced damage. During digestion, tannins are broken down into metabolites that inhibit pathogen growth by limiting protein availability. Additionally, tannins reduce inflammation by suppressing pro-inflammatory cytokines, promoting gut homeostasis and recovery. These findings highlight tannins' potential to protect and restore gut health.

PRACTICAL CONSIDERATIONS

The incorporation of tannins into piglet diets must consider their bioavailability and potential interactions with other dietary components. Although tannins exhibit low systemic bioavailability due to degradation in the digestive tract, their localised effects in the gut are sufficient to confer health benefits. The cost of tannin supplementation ranges from 0.14 to 0.43 euros per piglet for a 19-day feeding period, making it an economically viable alternative to antibiotics and zinc oxide. However, their protein-binding properties can reduce nutrient digestibility, necessitating careful diet formulation.

KNOWLEDGE GAPS AND FUTURE DIRECTIONS

Despite significant advancements in understanding the role of tannins in preventing PWD, several knowledge gaps remain that must be addressed to optimize their application in pig nutrition and health management. Addressing these gaps is critical for refining the use of tannins as an alternative to antibiotics and zinc oxide, ensuring their efficacy, sustainability, and economic feasibility in commercial pig production systems.

One of the most pressing gaps is the variability in tannin efficacy between studies: there is a need for a deeper understanding of how different tannin types, sources and chemical structures affect their biological activity. Hydrolysable tannins and condensed tannins have different chemical properties and mechanisms of action, but their comparative efficacy under different production conditions is not fully understood. In addition, the impact of variability in tannin source - such as chestnut, quebracho or grape extracts - on antimicrobial activity, digestibility and gut modulation remains underexplored. Standardisation of tannin formulations and the development of reliable metrics to assess their bioactivity are essential to ensure consistent results in commercial applications.

The interaction of tannins with other dietary components represents another area of uncertainty. Tannins are known to bind proteins and other macronutrients, which can reduce nutrient availability. However, this protein-binding property also limits nutrient availability to pathogenic bacteria, contributing to tannins' antimicrobial effects. Striking a balance between these competing outcomes is critical for optimizing diet formulation. Research is needed to explore how tannins interact with various protein sources, feed additives, and bioactive compounds, such as organic acids, probiotics, and essential oils. Understanding these interactions could pave the way for synergistic combinations that enhance the overall efficacy of tannins while minimizing potential drawbacks.

A significant knowledge gap also exists regarding the bioavailability and metabolism of tannins within the gastrointestinal tract. *In vitro* digestion models have provided valuable insights into the degradation of tannins and the formation of bioactive metabolites, but *in vivo* validation of these findings is limited. It remains unclear how these metabolites interact with intestinal tissues, microbiota, and immune cells, particularly in the lower gut. Research should focus on elucidating the fate of tannins during digestion, the bioactivity of their metabolites, and their contribution to the observed health benefits in piglets.

Another area requiring attention is the mechanistic understanding of how tannins modulate the gut microbiota. While evidence suggests that tannins selectively inhibit pathogenic bacteria while promoting beneficial microbes, the underlying mechanisms driving these changes are not fully understood. Advanced techniques, such as metagenomics and metabolomics, could be employed to investigate how tannins influence microbial community structure, function, and metabolic activity. These studies could also explore the potential for tannins to promote the production of beneficial metabolites, such as short-chain fatty acids, which are known to support gut health and barrier integrity.

The anti-inflammatory properties of tannins present another promising avenue for research. While *in vitro* studies demonstrate their ability to suppress pro-inflammatory cytokines, the translation of these findings to *in vivo* contexts remains underexplored. Understanding how tannins influence systemic and localized immune responses in weaned piglets could reveal new applications for tannins in managing not only PWD but also other inflammatory gut disorders. Investigating the dose-dependent effects of tannins on immune modulation and identifying the optimal concentrations for achieving therapeutic benefits without compromising growth performance are crucial steps forward.

Economic and environmental considerations also warrant further investigation. While tannins are increasingly recognized as a sustainable alternative to conventional prophylactics, comprehensive life cycle assessments are needed to quantify their environmental impact relative to antibiotics and zinc oxide. These assessments should account for factors such as tannin extraction, production, transportation, and on-farm use. Additionally, economic analyses should evaluate the cost-effectiveness of tannin supplementation under varying market conditions, production systems, and regulatory frameworks. Identifying strategies to reduce production costs and improve the scalability of tannin-based solutions will be critical for their widespread adoption.

Finally, there is a need for field trials that replicate real-world farming conditions. Most current research is conducted under controlled experimental setups, which may not fully capture the complexities of commercial pig farming. Field studies could provide valuable insights into the practical challenges of incorporating tannins into weaning diets, such as variability in feed intake, differences in baseline gut health, and interactions with farm-specific management practices. These trials could also evaluate the impact of tannin supplementation on herd-level outcomes, including disease incidence, antibiotic use, and overall productivity.

In conclusion, while tannins hold significant promise as a natural and sustainable solution for managing PWD, addressing the existing knowledge gaps is essential for unlocking their full potential. Future research should prioritize long-term studies, standardization of tannin formulations, exploration of dietary interactions, and in-depth mechanistic investigations into their effects on the gut and immune system. By advancing our understanding of tannins and refining their application strategies, we can contribute to the development of more sustainable and effective approaches to pig health management.

CONCLUSIONS

The growing restrictions on antibiotics and zinc oxide in pig production underscore the need for alternative strategies that are both effective and sustainable. Tannins offer a promising solution for managing PWD through their antimicrobial, gut-modulating, and barrier-enhancing properties. By addressing knowledge gaps and optimizing their application, tannins could play a pivotal role in the future of sustainable swine production, ensuring animal health and welfare while meeting environmental and regulatory goals.

REFERENCES

- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., & Recio, I. (2019): INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature Protocols*, 14(4), 991–1014. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Buddle, J., Bolton, J. (1992). The pathophysiology of diarrhoea in pigs. De, U. K., Nandi, S., Mukherjee, R., Gaur, G. K., & Verma, M. R. (2017): Identification of some plasma biomarkers associated with early weaning stress in crossbred piglets. *Comparative Clinical Pathology*, 26(2), 343–349. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00580-016-2379-x>
- Ekambaram, S. P., Aruldas, J., Srinivasan, A., & Erusappan, T. (2022): Modulation of NF- κ B and MAPK signalling pathways by hydrolysable tannin fraction from *Terminalia chebula* fruits contributes to its anti-inflammatory action in RAW 264.7 cells. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 74(5), 718–729. DOI: <https://doi.org/10.1093/jpp/rgab178>
- Girard, M., & Bee, G. (2020): Invited review: Tannins as a potential alternative to antibiotics to prevent coliform diarrhea in weaned pigs. *Animal*, 14(1), 95–107. DOI: <https://doi.org/10.1017/S1751731119002143>
- Girard, M., Hu, D., Pradervand, N., Neuenschwander, S., & Bee, G. (2020): Chestnut extract but not sodium salicylate decreases the severity of diarrhea and enterotoxigenic *Escherichia coli* F4 shedding in artificially infected piglets. *PLoS ONE*, 15(2), e0214267. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214267>
- Guevarra, R. B., Hong, S. H., Cho, J. H., Kim, B.-R., Shin, J., Lee, J. H., Kang, B. N., Kim, Y. H., Wattanaphansak, S., Isaacson, R. E., Song, M., & Kim, H. B. (2018): The dynamics of the piglet gut microbiome during the weaning transition in association with health and nutrition [journal article]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 9(1), 54. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-018-0269-6>
- Heo, J., Opapeju, F., Pluske, J., Kim, J., Hampson, D., & Nyachoti, C. (2013): Gastrointestinal health and function in weaned pigs: a review of feeding strategies to control post-weaning diarrhoea without using in-feed antimicrobial compounds. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 97(2), 207–237. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2012.01284.x>
- Hu, C. H., Xiao, K., Luan, Z. S., & Song, J. (2013): Early weaning increases intestinal permeability, alters expression of cytokine and tight junction proteins, and activates mitogen-activated protein kinases in pigs1. *Journal of Animal Science*, 91(3), 1094–1101. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2012-5796>
- Maugeri, A., Lombardo, G. E., Cirmi, S., Süntar, I., Barreca, D., Laganà, G., & Navarra, M. (2022): Pharmacology and toxicology of tannins. *Archives of Toxicology*, 96(5), 1257–1277. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-022-03250-0>
- Mueller-Harvey, I. (2006): Unravelling the conundrum of tannins in animal nutrition and health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2010–2037. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2577>
- Piazza, S., Fumagalli, M., Martinelli, G., Pozzoli, C., Maranta, N., Angarano, M., Sangiovanni, E., & Dell'Agli, M. (2022): Hydrolyzable Tannins in the Management of Th1, Th2 and Th17 Inflammatory-Related Diseases. *Molecules*, 27(21), DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules27217593>
- Pluske, J. R., Pethick, D. W., Hopwood, D. E., & Hampson, D. J. (2002): Nutritional influences on some major enteric bacterial diseases of pig. *Nutrition research reviews*, 15(2), 333–371. DOI: <https://doi.org/10.1079/NRR200242>

- Puljula, E., Walton, G., Woodward, M. J., & Karonen, M. (2020): Antimicrobial Activities of Ellagitannins against *Clostridiales perfringens*, *Escherichia coli*, *Lactobacillus plantarum* and *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 25(16), 3714. <https://www.mdpi.com/1420-3049/25/16/3714>
- Reggi, S., Giromini, C., Dell'Anno, M., Baldi, A., Rebucci, R., & Rossi, L. (2020): In Vitro Digestion of Chestnut and Quebracho Tannin Extracts: Antimicrobial Effect, Antioxidant Capacity and Cyto modulatory Activity in Swine Intestinal IPEC-J2 Cells. *Animals*, 10(2), 195. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani10020195>
- Scalbert, A. (1991): Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883. DOI: [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(91\)83426-L](https://doi.org/10.1016/0031-9422(91)83426-L)
- Schubnell, F., von Ah, S., Graage, R., Sydler, T., Sidler, X., Hadorn, D., & Basso, W. (2016): Occurrence, clinical involvement and zoonotic potential of endoparasites infecting Swiss pigs. *Parasitology International*, 65(6), 618–624. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.parint.2016.09.005>
- Tang, X., Xiong, K., Fang, R., & Li, M. (2022): Weaning stress and intestinal health of piglets: A review [Review]. *Frontiers in Immunology*, 13. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1042778>
- Tretola, M., Bee, G., Dohme-Meier, F., & Silacci, P. (2023): Review: Harmonised in vitro digestion and the Ussing chamber for investigating the effects of polyphenols on intestinal physiology in monogastrics and ruminants. *Animal*, 17(5), 100785. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100785>
- Tretola, M., Silacci, P., Sousa, R., Colombo, F., Panseri, S., Ottoboni, M., Pinotti, L., & Bee, G. (2022): Chestnut extracts decrease the in-vitro digestibility and polyphenol bioavailability of soy-based nutrients but protect the epithelial barrier function of pig jejunum segments after digestion. *Animal Feed Science and Technology*, 294. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2022.115501>
- Yu, J., Song, Y., Yu, B., He, J., Zheng, P., Mao, X., Huang, Z., Luo, Y., Luo, J., Yan, H., Wang, Q., Wang, H., & Chen, D. (2020): Tannic acid prevents post-weaning diarrhea by improving intestinal barrier integrity and function in weaned piglets. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 11(1), 87. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-020-00496-5>

POSTER SESSION



POSZTERSZEKCIÓ



OCHRATOXINNAL SZENNYEZETT TAKARMÁNY ETETÉSÉNEK HATÁSA A BROJLERCSIRKE GLUTATION REDOX RENDSZERÉRE ÉS LIPIDPEROXIDÁCIÓS FOLYAMATAIRA SZELÉNKIEGÉSZÍTÉS MELLETT

Kulcsár Szabina², Kövesi Benjámin², Balogh Krisztián Milán^{1,2}, Zándoki Erika¹,
Mézes Miklós¹

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet,
Takarmánybiztonsági Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

²HUN-REN – MATE Mikotoxinok az élelmiszerláncban Kutatócsoport, Kaposvár, 7400 Guba S. u. 40

ÖSSZEFOGLALÁS

Az ochratoxin A (OTA) az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetségbe tartozó penészgombák másodlagos metabolitja, előfordulása gyakori a baromfitakarmányokban. Az OTA hatásaként ismert, hogy az állati szervezetben oxidatív stresszt vált ki, melynek hatására lipidperoxidációs folyamatok indukálódhatnak, amely befolyásolja a biológiai antioxidáns rendszer működését. A szelén esszenciális mikroelem, amely fontos szerepet játszik a szervezet antioxidáns-védelmében, így hatása lehet az OTA által előidézett toxikus hatások enyhítésében és/vagy megelőzésében. Rövidtávú (5 nap) OTA-terhelés (2 mg/kg) *in vivo* vizsgálatot terveztünk 21 napos életkorú brojlercsirkékkel, a szelénkiegészítést napos kortól a kísérlet végéig két dózisban alkalmazva: 0,3 mg/kg, 0,5 mg/kg. Biokémiai módszerekkel meghatároztuk a vérben a glutation rendszer markereit, a redukált glutation mennyiségét és a glutation-peroxidáz aktivitását, valamint a malondialdehid koncentrációját. Az eredmények alapján a vizsgált markerek mennyiségében és aktivitásában mutatott jelentős eltérések a kezeletlen csoporthoz képest, a kialakult oxidatív stressz jelenlétére utal, amelyet a szelénkiegészítés kis mértékben befolyásolt.

ABSTRACT

Ochratoxin A (OTA) is a secondary metabolite of moulds belonging to the genera of *Aspergillus* and *Penicillium*, and its occurrence is common in poultry feed. As an effect of OTA, it is known that it causes oxidative stress in the animal body, causing lipid peroxidation, which affects the biological antioxidant system. Selenium is an essential element that plays an important role in antioxidant protection, so it can have an effect in mitigating and/or preventing the toxic effects caused by OTA. An *in vivo* study was performed in 21-day-old broiler chickens in a short-term (5-day) feeding trial with 2 mg/kg OTA, using selenium supplementation in two doses: 0.3 mg/kg, 0.5 mg/kg. We measured the markers of the glutathione system in the blood with biochemical methods: the amount of reduced glutathione, the activity of glutathione peroxidase and the concentration of malondialdehyde. Based on our results, significant differences were observed in the amount and activity of the elements of the glutathione system compared to the untreated group, which could be caused by oxidative stress, which was slightly influenced by selenium supplementation.

BEVEZETÉS

A klímaváltozás kedvező környezetet teremt a mikotoxintermelő gombák szaporodására, amelyek a takarmányokat szennyezve gazdasági állatoknál dóziszfüggően termeléskiesést, illetve toxikus válaszreakciót váltanak ki (Diaz, 2005). Az *Aspergillus* és *Penicillium* nemzetség bizonyos fajainak másodlagos metabolitja az ochratoxin A (OTA), amely a gabonaféléket (árpa, kukorica, zab, rizs, rozs, búza) és más növényi termékeket (kávébab, dió, szárított földimogyoró, fűszerek, szárított gyümölcsök, mazsola, bor, szőlőlé és sör) szennyezi. Átvivő hatás révén szermaradványként megtalálható az állati eredetű élelmiszerekben (sertés- és baromfihúsban, tejben, sajtban), ami hozzájárulhat az emberi expozícióhoz (Wang és mtsai., 2022). Emiatt globális aggodalomra adhat okot az élelmiszer- és takarmánybiztonság tekintetében.

Korábbi kutatások alapján elmondható, hogy egyes mikotoxinok toxicitásában fontos szerepet játszik az oxigén-szabadgyökök képződése és az ebből következő oxidatív stressz indukálása (Da Silva és mtsai., 2018). Az OTA hatásaként ismert, hogy az állati szervezetben oxidatív stresszt vált ki, ennek következtében a többszörösen telítetlen zsírsavak peroxidációját okozhatja (Schaaf és mtsai., 2002). Ezt alátámasztják azok az eredmények, ahol az alacsony molekulatömegű antioxidánsok, mint például a tokoferol vagy az aszkorbinsav, csökkentik a lipid-peroxidok képződését és az OTA toxikus hatásait (Hoehler és Marquardt, 1996). A szelén esszenciális mikroelem, amely fontos szerepet játszik a szervezet antioxidáns-védelmében, így például a szelénfüggő glutation-peroxidáz izoenzimek megfelelő működésében, így hatása lehet az OTA által előidézett toxikus hatások enyhítésében és/vagy megelőzésében. A brojlercsirkék érzékenyek az OTA-ra, az LD 50 érték 21 napos korban $3,6 \pm 0,6$ mg/ttkg (Huff és mtsai., 1974). Immunszuppresszív hatását figyelték meg brojlercsirkékben még az Európai Unióban javasolt határérték (0,1 mg/kg takarmány) mellett is (Pozzo és mtsai., 2013). Felszívódás után az OTA nagy mennyiségben volt mérhető a vérben, ezt követte csökkenő sorrendben a vese, a máj, az izom és a zsírszövet (Gareis és Scheuer, 2000). Az OTA-val szennyezett takarmány etetése (2,5 mg OTA/kg) a testtömeg-gyarapodás szignifikáns csökkenését és a relatív vesetömeg növekedését idézte elő (Gentles és mtsai., 1999).

A vizsgálat célja a fentiek alapján annak feltárása volt, hogy az OTA-val mesterségesen szennyezett takarmány rövid távú etetése milyen hatást vált ki a mikotoxinok szállításában fontos vérben a lipidperoxidációs folyamatok iniciációs és terminációs fázisaira, valamint ezzel párhuzamosan célja volt felmérni a glutation redox rendszer egyes paramétereinek mennyiségét és aktivitását, illetve az alkalmazni kívánt szelénkiegészítés hatékonyságát.

ANYAG ÉS MÓDSZER

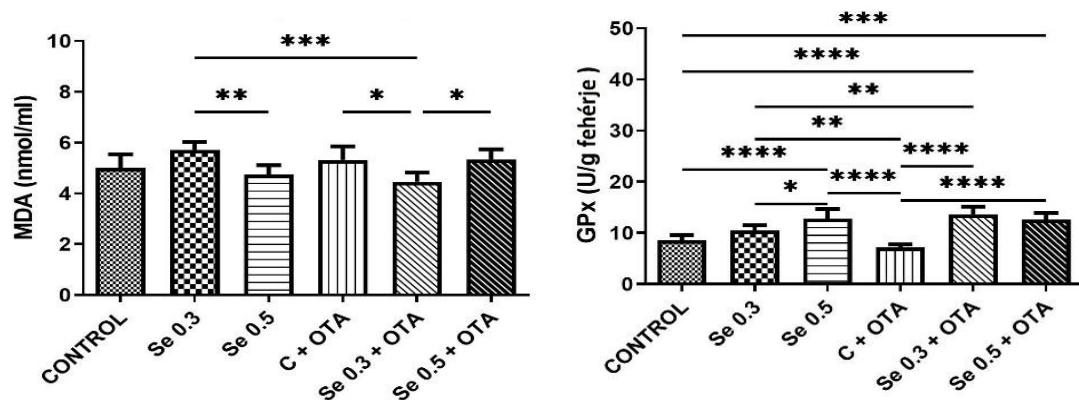
In vivo modellként brojlercsirkét mint az OTA-ra érzékeny gazdasági állatfajt alkalmaztunk. Cobb 500 napos kakasokat a kísérleti takarmányok etetésének megkezdése előtt faforgács almon neveltük, a Cobb technológiai előírásoknak megfelelően. Az egyes kísérleti csoportokat 20 napos életkorban alakítottuk ki, amelynek során egyedi mérlegeléssel meghatároztuk az egyes csoportokba kerülő madarak testtömegét, ügyelve arra, hogy az egyes kísérleti csoportok között az átlagos testtömeg ne térjen el 5%-nál nagyobb mér-

tékben. Az egyes kísérleti csoportokba tartozó madarakat ($n = 6$) alomanyagként fenyőfa-forgácsot tartalmazó fülkékben helyeztük el. Az ivóvizet és a takarmányt a madarak *ad libitum* fogyaszthatták, folyamatos megvilágítás mellett. A rövidtávú (5 nap) OTA-terheléses etetési vizsgálatot 21 napos brojlercsirkékkel végeztük, a következő kísérleti csoportokat kialakítva: 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szeléntartalmú takarmányt fogyasztó csoport, illetve OTA-t (2 mg/kg) tartalmazó takarmányt fogyasztó csoport. Ezek mellett kialakítottuk a 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szelén + 2 mg/kg OTA-tartalmú takarmányt fogyasztó csoportokat is. A kontrollcsoport takarmánya a vizsgált mikotoxint a kimutathatósági határérték alatti mennyiségben tartalmazta, és szelénkiegészítést sem tartalmazott. A kísérlet során a mikotoxinnal szennyezett takarmány etetésének megkezdését követő 24., 72. és 120. órában kísérleti csoportonként 6-6 állatból vérmintát vettünk. A vérvétel heparinozott vérvételi csövekbe (0,005 ml Heparin ad us vet injekció; 125 NE heparin-Na) történt. A vérminták hűtött környezetben ($+4^{\circ}\text{C}$) szállítottuk a laboratóriumba, ahol az alakos elemeket 10 percig történő centrifugálással (1500 fordulat/perc) elválasztottuk a vérplazmától. A vérplazmamintákat a vizsgálatok elvégzéséig -70°C -on tároltuk. Meghatároztuk a lipidperoxidációs folyamat iniciációs fázisa során keletkező konjugált diének, és triének, valamint a terminációs fázis során keletkező meta-stabil végtermék, a malondialdehid (MDA) koncentrációját, valamint a glutation redox rendszer egyes elemeinek, a redukált glutation (GSH) mennyiségét és a glutation-peroxidáz (GPx) aktivitását. A konjugált diének (CD) és triének (CT) meghatározása a vér lipidtartalmának trimetil-pentánban való kivonását követően az abszorpciós spektrum alapján történt (AOAC, 1984). A MDA-tartalmat savanyú közegben, magas hőmérsékleten való komplex képzéssel, 2-tiobarbitursavval határoztuk meg (Botsoglou és mtsai., 1994). A GSH-tartalmat: Rahman és mtsai. (2007) módszerével, a GPx-aktivitást pedig Lawrence és Burk (1976) módszere alapján mértük. Az eredmények statisztikai értékelését GraphPad Prism for Windows 5.04 szoftverrel (GraphPad Software Inc. San Diego, USA) végeztük. Az átlag- és a szórásértékek kiszámítása után egytényezős varianciaanalízist (ANOVA) végeztünk. A kísérleti csoportok középértékei között mutatkozó különbségek vizsgálatára Tukey-féle többszörös összehasonlító post-hoc tesztet használtunk ($p < 0,05$).

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

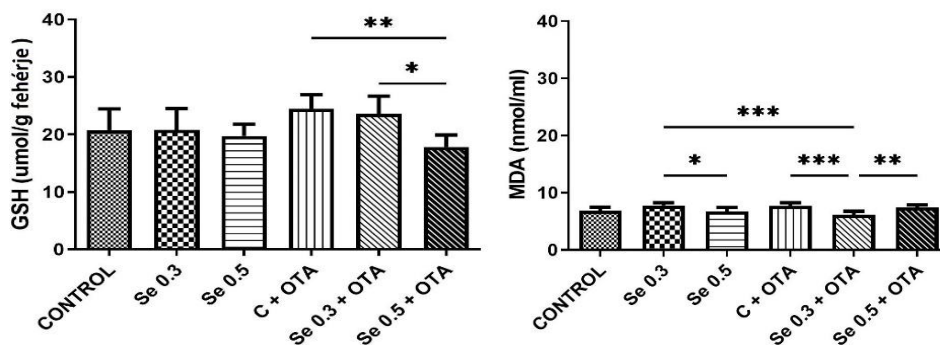
A vérplazmában a MDA mennyisége az OTA-val szennyezett takarmányt fogyasztó csoportban szignifikánsan nagyobb volt ($p < 0,01$) a 0,3 mg/kg szelént tartalmazó takarmánnyal kezelt csoporthoz képest. A brojlercsirkék veséjében már 0,5 $\mu\text{g/kg}$ OTA hatására is az MDA-szint növekedését mérték a 0,4 mg/kg szelén és a 0,4 mg/kg szelén + OTA-val kezelt csoporthoz képest (Li és mtsai., 2020). Az OTA-val, illetve az OTA-val szennyezett és 0,5 mg/kg szelént tartalmazó takarmányt fogyasztó csoporthoz képest kisebb volt ($p < 0,05$) az MDA-tartalom az OTA + 0,3 mg/kg szelénkiegészítést kapott madarak vérplazmájában. Ebben a csoportban a csökkenés szignifikáns mértékű ($p < 0,001$) volt a 0,3 mg/kg szelénkiegészítésben részesült brojlerkekhez képest mért értékek esetében is. A GPx aktivitásában jelentős eltéréseket lehet megfigyelni a csoportok között a kísérlet 5. napjára. A kontrollcsoportban mért értékekhez képest szignifikánsan

növekedett a „0,5 mg/kg szelén” ($p < 0,0001$), a „0,3 mg/kg szelén” + OTA ($p < 0,0001$), illetve a „0,5 mg/kg szelén” + OTA ($p < 0,001$) csoportokban mért enzimaktivitás. A szelénkiegészítés növelte a szelénfüggő GPx aktivitását, ugyanis a szelenoproteinek szintézise függ a szelén mennyiségétől a szervezetben (Papp és mtsai., 2007). Az OTA-val kezelt csoportban mért csökkenés szignifikáns volt mindkét szelénrel kiegészített takarmányt fogyasztó és a többi kezelt csoporthoz képest is (1. ábra). A GPx-enzim aktivitásának csökkenése feltehetően a 2 mg/kg OTA hatására kialakult nagyobb mértékű oxidatív stressznek köszönhető, amelynek következtében nem állt rendelkezésre elegendő idő a glutation-diszulfid regenerációjára és *de novo* szintézisére és/vagy a GPx poszttranszlációs aktiválására.



1. ábra. Oxidatív (MDA) és antioxidáns (GPx) paraméterek változása a vérplazmában (átlag $\pm$ S.D.; $n = 6$) „Se 0.3” és „Se 0.5” 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szeléntartalmú takarmányt fogyasztó csoport; „C+OTA” OTA-t (2 mg/kg) tartalmazó takarmányt fogyasztó csoport; „Se 0.3 + OTA” és „Se 0.5 + OTA” 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szelén + 2 mg/kg OTA tartalmú takarmányt fogyasztó csoport
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; **** $p < 0.0001$

A GSH-tartalom szignifikánsan csökkent a vörösvérsejt-hemolizátumban a „0,5 mg/kg szelén + OTA” csoportban az OTA-val ($p < 0,01$) és a „0,3 mg/kg szelén + OTA” ($p < 0,05$) kezelt csoporthoz képest. Ez a különbség valószínűleg a GPx gyors aktiválódásának köszönhető 0,5 mg/kg szelén + OTA hatására, amely a GSH-tartalom gyors csökkenését eredményezte. Az MDA mennyiségét csökkentette a „0,3 mg/kg szelén + OTA” kezelés az OTA-val szennyezett takarmánnyal etetett ($p < 0,001$) és a „0,5 mg/kg szelén + OTA” ($p < 0,01$) csoportokhoz képest (2. ábra). A 0,3 mg/kg szelénkiegészítés jelentősen mérsékelte az OTA lipidperoxidációt indukáló hatását.



2. ábra. Oxidatív (MDA) és antioxidáns (GSH) paraméterek változása a vörösvérsejt-hemolizátumban (átlag $\pm$ S.D.; $n = 6$) „Se 0.3” és „Se 0.5” 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szeléntartalmú takarmányt fogyasztó csoport; „C+OTA” OTA-t (2 mg/kg) tartalmazó takarmányt fogyasztó csoport; „Se 0.3+OTA” és „Se 0.5+OTA” 0,3 mg/kg és 0,5 mg/kg szelén + 2 mg/kg OTA-tartalmú takarmányt fogyasztó csoport
* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Az OTA-terhelés csökkentette, a szelénkiegészítés viszont növelte a GPx aktivitását a vérplazmában. Az OTA által előidézett lipidperoxidációs folyamatok csökkentek a hozzáadott 0,3 mg/kg szelén hatására a vérplazmában és a vörösvérsejtekben. Az eredmények alapján látható, hogy a szelén fontos a szelenoproteinek közé tartozó GPx-enzim aktivitásához. A 0,3 mg/kg szelénkiegészítés tehát megfelelő lehet az OTA által előidézett oxidatív stressz mérsékléséhez.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatás a Kulturális és Innovációs Minisztérium EKÖP-MATE/2024/25/K kódszámú Egyetemi kutatói Ösztöndíj Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával és a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Kutatási Kiválósági Programjának támogatásával készült.

IRODALOM

- AOAC (1984): Official Methods of Analysis (28.054) 14th edition. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, 243.
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994): Rapid, sensitive and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.*, 42, 1931–1937. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00045a019>
- da Silva, E. O., Bracarense, A. P. F. L., & Oswald, I. P. (2018): Mycotoxins and oxidative stress: where are we? *World Mycotoxin J.*, 11(1), 113–134. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2017.2267>
- Diaz, D. E. (2005): *The Mycotoxin Blue Book*. Nottingham University Press, Nottingham, 125. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-006-0007-z>
- Gareis, M., & Scheuer, R. (2000): Ochratoxin A in meat and meat products. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 102–104.
- Gentles, A., Smith, E. E., Kubena, L. F., Duffus, E., Johnson, P., Thompson, J., Harvey, R. B., & Edrington, T. S. (1999): Toxicological evaluations of cyclopiazonic acid and ochratoxin A in broilers. *Poult. Sci.*, 78(10), 1380–1384. DOI: <https://doi.org/10.1093/ps/78.10.1380>

- Hoehler, D., & Marquardt, R. R. (1996): Influence of vitamins E and C on the toxic effects of ochratoxin A and T-2 toxin in chicks. *Poult. Sci.*, 75(12), 1508–1515. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0751508>
- Huff, W. E., Wyatt, R. D., Tucker, T. L., & Hamilton, P. B. (1974): Ochratoxicosis in the broiler chicken. *Poult. Sci.*, 53(4), 1585–1591. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.0531585>
- Lawrence, R. A., & Burk, R. F. (1976): Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 71, 952–956. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(76\)90747-6](https://doi.org/10.1016/0006-291x(76)90747-6)
- Li, K., Cao, Z., Guo, Y., Tong, C., Yang, S., Long, M., Li, P., & He, J. (2020): Selenium Yeast Alleviates Ochratoxin A-Induced Apoptosis and Oxidative Stress via Modulation of the PI3K/AKT and Nrf2/Keap1 Signaling Pathways in the Kidneys of Chickens. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, (1), 4048706. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/4048706>
- Papp, L. V., Lu, J., Holmgren, A., & Khanna, K. K. (2007): From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants & redox signaling*, 9(7), 775–806. DOI: <https://doi.org/10.1089/ars.2007.1528>
- Pozzo, L., Salamano, G., Mellia, E., Gennero, M. S., Doglione, L., Cavallarin, L., Tarantola, M., Forneris, G., & Schiavone, A. (2013): Feeding a diet contaminated with ochratoxin A for chickens at the maximum level recommended by the EU for poultry feeds (0.1 mg/kg). 1. Effects on growth and slaughter performance, haematological and serum traits. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 97, 13–22. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpn.12050>
- Rahman, I., Kode, A., & Biswas, S. K. (2007): Assay for quantitative determination of glutathione and glutathione disulphide levels using enzymatic recycling method. *Nat. Protoc.*, 1, 3159–3165. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.378>
- Schaaf, G. J., Nijmeijer, S. M., Maas, R. F. M., Roestenberg, P., De Groene, E. M., & Fink-Gremmels, J. (2002): The role of oxidative stress in the ochratoxin A-mediated toxicity in proximal tubular cells. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Basis Dis.*, 1588(2), 149–158. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0925-4439\(02\)00159-X](https://doi.org/10.1016/S0925-4439(02)00159-X)
- Wang, L., Hua, X., Shi, J., Jing, N., Ji, T., Lv, B., Liu, L., & Chen, Y. (2022): Ochratoxin A: Occurrence and recent advances in detoxification. *Toxicon*, 210, 11–18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2022.02.010>



INFLUENCE OF *LEVILACTOBACILLUS BREVIS* ON GROWTH PERFORMANCE OF WEANED PIGLETS UNDER FUMONISIN B₁ CHALLENGES

Lucy Ikanya^{1*}, Balázs Libisch², Tibor Keresztény², Ferenc Olasz²,
Stephanya Corral² Melinda Kovács³, Veronika Halas¹

¹Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Physiology and Animal Nutrition, Department of Farm Animal Nutrition, Kaposvár Campus, Guba Sándor Street 40., H-7400 Kaposvár, Hungary

²Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Agribiotechnology and Precision Breeding for Food Security National Laboratory, Institute of Genetics and Biotechnology, Szent-Györgyi Str., H-2100, Gödöllő, Hungary

³Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Physiology and Animal Nutrition, Department of Animal Physiology and Health, Kaposvár Campus, Guba Sándor Street 40., H-7400 Kaposvár, Hungary

Hungary, Agribiotechnology and Precision Breeding for Food Security National Laboratory, Institute of Physiology and Animal Nutrition, Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Kaposvár Campus, Guba S. Street 40., H-7400, Kaposvár, Hungary

ABSTRACT

Piglets are highly susceptible to fumonisin B₁ (FB₁) toxicity. The study aimed to investigate the influence of probiotic *Levilactobacillus brevis* (*L. brevis*) on growth performance, body weight gain (BWG) and feed conversion ratio (FCR) of weaned piglets under FB₁ challenges. Twenty-six piglets with an initial body weight of 11.03 ± 1.32 kg were randomly assigned to four dietary treatment groups for 28 days: control (C, commercial diet), control feed supplemented with individual probiotic *L. brevis* (Lb), 50 ppm FB₁-contaminated control diet (F), and 50 ppm FB₁-contaminated control diet supplemented with *L. brevis* (FLb). Individual FI was recorded daily while body weight was weekly. Statistical analysis was conducted using the R program (R 4.4.1) to test for normality, then T-test and Wilcoxon tests depending on the distribution. Results showed no significant difference in the FI of different groups, but pigs in F group had somewhat lower gain and higher FCR than the pigs in C treatment ($p > 0.05$). A combination of *L. brevis* with FB₁ showed a significant reduction in BWG and an increase in FCR at the end of the supplemental period compared to all treatments ($p < 0.05$) suggesting a complex interaction. These are preliminary findings, further histological, biochemical and microbiota analysis will elucidate the mechanisms underlying the complex interactions affecting growth performance.

INTRODUCTION

Fumonisin is produced by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* pathogens with fumonisin B₁ (FB₁) having been reported as 70–80% most common type of fumonisin, collected in field samples and the most toxic (Szécsi et al., 2010). The FBs

toxicity mechanism is associated with the free amino group and the tricarballic acid side groups; therefore, their removal can significantly reduce cytotoxicity and phytotoxicity (Voss et al., 2007). Detoxification or elimination of mycotoxins by technological treatments is complex due to their heat-chemical stability, their resistance to storage and processing conditions (Temba et al., 2016).

Probiotics are live, non-toxicogenic, non-pathogenic and fermentative microorganisms with health-promoting characteristics which when administered in adequate amounts in commercial products can confer health benefits to the consuming animal (Dalié et al., 2010). They include; *Saccharomyces cerevisiae*, *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Bacillus* species (Dalié et al., 2010). Studies have reported that the cell surface of probiotics has toxin binding ability (Sangsila et al., 2016). For instance, the lactic acid bacteria (LAB) and yeasts particularly *Saccharomyces* genus, can remove mycotoxins through biodegradation or surface adsorption (Dalié et al., 2010). The cell wall structure of LAB consists of thick, multilayered peptidoglycan sacculi with glycopolymers including; S-layer proteins, teichoic acids and polysaccharides (Chapot-Chartier and Kulakauskas, 2014). The amino acid sequence of the peptide bridges of the peptidoglycan and the negatively charged functional groups of S-layer proteins is reported to enhance the binding efficiency of the LAB species (Niderkorn et al., 2009). Piglets are highly vulnerable to mycotoxins due to the high percentage of cereals in their diet. In most cases, their feed is based on corn as it has low to nearly no anti-nutritional compound levels. Additionally, piglets are more sensitive as they have a limited gastrointestinal microbiome, reduced capacity of hepatic enzymes for detoxification, and immature immune system and the developing intestinal epithelium has higher gut permeability. Several studies have evaluated the potentially deleterious attributes of growth performance effects of FB₁ in pigs and have reported intestinal barrier dysfunctions (Bouhet & Oswald, 2007), a reduction in nutrient digestion and absorption efficiency in the gut (Lessard et al., 2009).

Recently, it has been reported that biological control of FB₁ using lactic acid bacteria is a promising approach because of their microbial antagonist effect on the toxin (Khalil et al., 2015; Niderkorn et al., 2009). However, *Levilactobacillus brevis* has been less studied and limited data is available on their mycotoxin binding ability, than other LAB probiotic strains. The study therefore investigates the influence of *L. brevis* (AT-2076) on the growth performance of weaned piglets under FB₁ exposure.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was carried out according to the regulations of the Hungarian Animal Protection Act, the license was issued by Somogy County Governor's Office (SO/31/00764-10/2023). Twenty-six castrated male Danbred weaned pigs at 4 weeks of age, weighing an average of 11.03 ± 1.32 kg were allowed a 2-week physiological acclimatization period. The pigs were kept in individual metabolic cages (80 x 80 cm) at the experimental animal unit of the Department of Farm Animal Nutrition, Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Kaposvár Campus. At 6 weeks of age, the pigs were randomly assigned in a 2 x 2 factorial design to four dietary treatment groups (n = 6 or 7) for 28 days: control (C, commercial diet), control feed supplemented with

individual probiotic *L. brevis* AT-2076 (Lb; Pertovics et al., 2019), 50 ppm FB₁ -contaminated control diet (F), and 50 ppm FB₁-contaminated control diet supplemented with *L. brevis* AT-2076 (FLb). The commercial diet was a mixed ration of corn, soybean meal, sunflower oil, barley, additives, mineral and vitamin premix. The pigs were weighed individually with gram precision at the beginning of the trial and weekly intervals. The pigs were fed twice a day on equal proportions, 13.4 MJ/kg ME per kg of feed offered as an amount that provided 3 times the maintenance energy while water was provided *ad libitum*. The feed refusal was measured and reported daily to calculate the feed intake and feed conversion. The health status of the pigs was monitored daily throughout the trial period. The room temperature was adjusted according to the needs of the nursery pigs.

The fungal strain *Fusarium verticillioides* (MRC 826) was used for fumonisin production. The finely ground fungal culture was mixed into the ration of the experimental animals to provide a daily feed concentration of 50 ppm FBs. Statistical analysis of BWG, FI and FCR data was conducted using the R program (R 4.4.1) to test for normality. Results were subjected to parametric (T-test) in case of normal distribution and non-parametric (Wilcoxon tests) where the distribution was not normal. A *p*-value of ≤ 0.05 was regarded as significant.

RESULTS AND DISCUSSION

The effect of dietary treatments on the growth performance of piglets is shown in Table 1.

Table 1 Effects of *L. brevis* (AT-2076) on growth performance of weaned piglets under FB₁ exposure

Group	Treatments			
	C	F	Lb	FLb
Initial BW (kg)	10.99 ± 0.53 ^a	11.00 ± 0.49 ^a	10.67 ± 0.49 ^a	11.47 ± 0.64 ^a
Final BW (kg)	25.81 ± 9.32 ^a	24.95 ± 8.52 ^a	25.33 ± 8.21 ^a	24.75 ± 7.64 ^a
Total FI (kg)	17.62 ± 3.48 ^a	17.24 ± 4.17 ^a	17.35 ± 4.77 ^a	17.82 ± 1.78 ^a
Total WG (kg)	14.83 ± 0.61 ^a	13.95 ± 0.4 ^{ab}	14.66 ± 0.53 ^a	13.28 ± 0.43 ^b
Total FCR	1.20 ± 0.04 ^a	1.24 ± 0.02 ^{ab}	1.19 ± 0.03 ^a	1.35 ± 0.04 ^b

^{ab} Means in a row with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$), BW = Body weight, WG = Weight gain, FI = Feed intake, FCR = Feed conversion ratio, C = control, F = 50 ppm FB₁, Lb = individual *L. brevis* AT-2076, FLb = 50 ppm FB₁ plus *L. brevis* AT-2076

Across all treatment groups, there was a progressive and consistent increase in feed consumption showing a typical growth-related feeding behavior. The daily feed rations were defined on a BW basis, the insignificant ($p > 0.05$) treatment effect indicates that there was no feed refusal and neither the FB₁ exposure nor *L. brevis* supplementation significantly influenced the appetite of the animals and feed palatability. The restricted feeding ensured a standardized level of *L. brevis* AT-2076 and FB₁ intoxication across treatment groups and allowed to evaluation of the treatment effects without interference from their unequal uptake by the piglets.

Piglets that received the control feed supplemented with individual probiotic *L. brevis* AT-2076 (Lb), recorded numerically the lowest FCR, suggesting a slightly better feed and growth efficiency in toxin-free conditions, but it was not statistically proven ($p > 0.05$). In

a previous study Liu et al. (2015) confirmed an increased gain: feed and average daily gain in weaned piglets supplemented with 0.4 and 0.8 g/kg of *L. brevis*. The findings ascertain the probiotic's potential of *L. brevis* as a growth-promoting additive, but the effectiveness may depend on the specific strain. The F group that was exposed to FB1 alone increased somewhat the FCR indicating reduced nutrient utilization, however, again the effect was not confirmed by statistics ($p > 0.05$). The results may be explained by a reduced nutrient absorption efficiency in FB1-contaminated feed confirmed in pigs (Lessard et al., 2009). Combining *L. brevis* AT-2076 and FB1 (FLb) group, resulted to a significant increase in FCR compared to all treatments (C vs FLb; F vs FLb; $p < 0.01$) (Lb vs FLb; $p < 0.05$), implying that the efficacy of *L. brevis* AT-2076 was compromised under FB1 exposure.

Piglets that were exposed to FB1 alone (F) group reduced total BWG numerically ($p > 0.05$) 24.95 ± 8.52 . Rao et al. (2020a) reported decreased average daily gain and gain: feed in nursery pigs that were exposed to fumonisin at a concentration of 60 mg/kg for 14 days and 30 mg/kg for 28 days respectively. Reduced growth performance is a potential deleterious effect of FBs toxicosis in pigs as it may reduce nutrient digestion and absorption efficiency in the gut (Lessard et al., 2009). The tendency was also similar in weekly results (data not shown). That is, an increase in FCR and lowest BWG was observed in the F group from day 0 to 21, with days 14 to 21 significantly different (C vs F; $p < 0.01$). Surprisingly, in the last week of the study (days 21 to 28), the F group demonstrated the lowest FCR and highest BWG suggesting that pigs might be able to adapt to FB1 on prolonged exposure. In another study, nursery pigs exposed to 32.7-35.1 mg/kg fumonisin showed some recovery of growth performance between days 14 to 28 of the study which slightly matches our findings (Rao, et al., 2020b). However, the adaptive mechanism is unknown.

The combination of FB1 and *L. brevis* AT-2076 (FLb) group reported significant reductions in total BWG compared to all treatment groups (F vs FLb; $p < 0.01$; C vs FLb and Lb vs FLb; $p < 0.05$) suggesting that *L. brevis* may exacerbate some toxic effects of FB1 or its beneficial properties may suppress under FB1 exposure. The findings were inconsistent with other studies of *L. brevis* which have reported its protective effects against pathogens by slowing down the weight loss induced by *Yersinia enterocolitica* and *Salmonella typhimurium* in a mouse model (Shi et al., 2022, 2024). In another study, two probiotic strains of lactic acid bacteria were able to counteract the negative effect of FB1 on body weight gain of Sprague-Dawley rats which were exposed to between 50 and 200 mg/kg FB1 (Khalil et al., 2015). Therefore, the FLb group results highlighted a complex interaction between FB1 toxicity and *L. brevis* in pigs.

Since the results were also assessed by week (data not shown), it was noted that the complex interaction in the FLb group showed between days 21 to 28. Although the mechanism behind the interaction remains unclear, FB1 toxicity primarily disrupts sphingolipid metabolism which affects cellular signalling and intestinal barrier functions which impairs nutrient absorption (Bouhet & Oswald, 2007; Voss et al., 2007). Alternatively, *L. brevis* may increase the bioavailability of FB1 metabolites (Niderkorn et al., 2009) or alter gut microbiota dynamics in ways that unintentionally amplify FB1 toxicity

which in turn may have a negative influence on the growth performance of weaned piglets under FB₁ exposure.

CONCLUSION AND RECOMMENDATION

In conclusion, combining FB₁ with *L. brevis* (AT-2076) influenced more negatively the BWG and FCR than the toxin alone indicating reduced probiotic effectiveness under FB₁ exposure. The deleterious effects of individual FB₁ and complex interaction in a combination of FB₁ and *L. brevis* on FCR and BWG implies that the effects were either physiological or metabolic disruptions rather than behavioural as feed intake was consistent across treatments.

These are preliminary findings, thus biochemical, histological and microbiota analysis will help to understand the complex interaction and clarify the observed growth effects.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was funded by the Hungarian National Laboratory Project (RRF-2.3.1-21-2022-00007).

REFERENCES

- Bouhet, S., & Oswald, I. P. (2007): The intestine as a possible target for fumonisin toxicity. *Molecular Nutrition & Food Research*, 51(8), 925–931. DOI: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600266>
- Chapot-Chartier, M. P., & Kulakauskas, S. (2014): Cell wall structure and function in lactic acid bacteria. *Microbial Cell Factories*, 13. DOI: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S9>
- Dalié, D. K. D., Deschamps, A. M., & Richard-Forget, F. (2010): Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*, 21(4), 370–380. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.07.011>
- Khalil, A. A., Abou-Gabal, A. E., Abdellatif, A. A., & Khalid, A. E. (2015): Protective Role of Probiotic Lactic Acid Bacteria Against Dietary Fumonisin B₁-induced Toxicity and DNA-Fragmentation in Sprague-Dawley Rats. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 45(6), 530–550. DOI: <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.940969>
- Lessard, M., Boudry, G., Sève, B., Oswald, I. P., & Lallès, J.-P. (2009): Intestinal Physiology and Peptidase Activity in Male Pigs Are Modulated by Consumption of Corn Culture Extracts Containing Fumonisin. *The Journal of Nutrition*, 139: 1303–1307. DOI: <https://doi.org/10.3945/jn.109.105023>
- Liu, H., Ji, H. F., Zhang, D. Y., Wang, S. X., Wang, J., Shan, D. C., & Wang, Y. M. (2015): Effects of *Lactobacillus brevis* preparation on growth performance, fecal microflora and serum profile in weaned pigs. *Livestock Science*, 178, 251–254. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2015.06.002>
- Niderkorn, V., Morgavi, D. P., Aboab, B., Lemaire, M., & Boudra, H. (2009): Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B₁ and B₂ by lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*, 106(3), 977–985. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.04065.x>
- Petrovics, T., Veress A., Wilk, T., Kerényi, Z., Kocsis, R., Farkas, T., Papp, P. P., & Olasz, F. (2015): Exploring the microbiota of samples from traditional dairy products derived from a Transylvanian farm. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 62(Suppl), 198–199. DOI: <https://doi.org/10.1556/030.62.2015.Suppl.2>

- Rao, Z.-X., Tokach, M. D., Dritz, S. S., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., & Calderon, H. I. (2020): Efficacy of commercial products on nursery pig growth performance fed diets with fumonisin contaminated corn. *Translational Animal Science*, 4(4), DOI: <https://doi.org/10.1093/tas/txaa217>
- Rao, Z.-X., Tokach, M. D., Woodworth, J. C., DeRouchey, J. M., Goodband, R. D., Calderón, H. I., & Dritz, S. S. (2020): Effects of Fumonisin-Contaminated Corn on Growth Performance of 9 to 28 kg Nursery Pigs. *Toxins*, 12(9), 604. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins12090604>
- Sangsila, A., Faucet-Marquis, V., Pfohl-Leszkowicz, A., & Itsaranuwat, P. (2016): Detoxification of zearalenone by *Lactobacillus pentosus* strains. *Food Control*, 62, 187–192. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.031>
- Shi, Z., Guan, N., Sun, W., Sun, T., Niu, L., Li, J., & Ge, J. (2022): Protective Effect of *Levilactobacillus brevis* Against *Yersinia enterocolitica* Infection in Mouse Model via Regulating MAPK and NF- κ B Pathway. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5), 830–844. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-022-09957-x>
- Shi, Z., Nan, Y., Zhou, X., Zhang, W., Zhang, Z., Zhang, C., Duan, H., Ge, J., & Zhao, L. (2024): Molecular Mechanisms of Intestinal Protection by *Levilactobacillus brevis* 23017 against *Salmonella typhimurium* C7731-Induced Damage: Role of Nrf2. *Microorganisms*, 12(6), 1135. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061135>
- Szécsi, Á., Szekeres, A., Bartók, T., Oros, G., Bartók, M., & Mesterházy, Á. (2010): Fumonisin B1-4-producing capacity of Hungarian *Fusarium verticillioides* isolates. *World Mycotoxin Journal*, 3(1), 67–76. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2009.1152>
- Temba, B. A., Sultanbawa, Y., Kriticos, D. J., Fox, G. P., Harvey, J. J. W., & Fletcher, M. T. (2016): Tools for Defusing a Major Global Food and Feed Safety Risk: Nonbiological Postharvest Procedures to Decontaminate Mycotoxins in Foods and Feeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(47), 8959–8972. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03777>
- Voss, K. A., Smith, G. W., & Haschek, W. M. (2007): Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal Feed Science and Technology*, 137(3–4), 299–325. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.007>



IMMOBILIZATION OF A FUMONISIN ESTERASE WITH DIFFERENT TECHNOLOGIES

Dániel János Incze^{1,2}, Zsófia Bata², László Poppe³

¹Budapest University of Technology and Economics, Department of Organic Chemistry and Technology, Bioorganic Chemistry Research Group, H-1111 Budapest, Budafoki út 8. F. II. building., Hungary

²Dr. Bata Ltd. H-2364 Ócsa, Bajcsy-Zsilinszky u. 139., Hungary

³Budapest University of Technology and Economics, Department of Organic Chemistry and Technology, H-1111 Budapest, Budafoki út 8. F. II. building., Hungary

ABSTRACT

*Toxicity of fumonisin B₁ (FB₁), the most common fumonisin mycotoxin, can be significantly decreased by enzymatic cleavage of its two tricarballic acid groups, using fumonisin esterase. An enzyme product should be formulated in a solid form for use as a feed supplement, and have a long shelf-life and high heat stability. Therefore, a fumonisin esterase (further referred to as FE2) was expressed in *Pichia pastoris* and the enzyme was immobilized with different techniques. Covalent immobilization of FE2 on amine-functionalized zeolite, crosslinked with glutaraldehyde, resulted in low specific capacity (0.8 mg enzyme/g zeolite), and poor stability. Reversible immobilization of FE2 on different solid carriers resulted in even > 95% immobilization efficiency, and the enzyme could be recovered after resuspension in buffer without significant loss of activity. This immobilization method resulted in at least 3 years of shelf-life even at 50 °C. The thermal stability of these products significantly increased compared to the enzyme solution; the products retained even nearly 100% of their activity after incubating at 100 °C for 30 minutes. This increased heat stability makes the product compatible with feed processing techniques, such as pelleting.*

ÖSSZEFOGLALÁS

*A leggyakoribb fumonizin, a fumonizin B₁ (FB₁) toxicitása jelentősen csökkenthető a két trikarbalilsav csoport fumonizin észteráz segítségével történő enzimatis hasításával. A takarmány-kiegészítőként történő felhasználáshoz az enzimterméket szilárd formába kell hozni, valamint annak hosszú eltarthatósági idővel és magas hőstabilitással kell rendelkeznie. Ezért egy fumonizin-észterázt (továbbiakban FE2) *Pichia pastoris*-ban expresszáltunk, és az enzimet különböző technikákkal immobilizáltuk. A FE2 kovalens immobilizálása amin-funkcionalizált zeoliton, glutáraldehiddel keresztkötve, alacsony fajlagos kapacitást eredményezett (0,8 mg enzim/g zeolit), gyenge stabilitás mellett. Az FE2 reverzibilis rögzítése különböző szilárd hordozókon akár > 95%-os immobilizálási hatékonyságot és 50 °C-os tárolási hőmérsékleten is legalább 3 év eltarthatóságot biztosított. Ezen termékek termikus stabilitása jelentősen megnőtt az enzimoldathoz képest; az oldott enzim 55 °C felett irreverzibilisen denaturálódik, míg a termékek 100 °C-on 30 perces inkubálás után is megőrzik aktivitásuk akár 100%-át. Ez a megnövekedett hőstabilitás lehetővé teszi, hogy a termék kompatibilis legyen a takarmányfeldolgozási technikákkal, mint például a pelletálás.*

INTRODUCTION

Fumonisin – primarily produced by *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum* – are among the most frequently occurring mycotoxins. The most toxic and prominent substance of this mycotoxin family is Fumonisin B₁ (FB₁), which causes 70% of fumonisin contaminations and can be associated with several diseases in livestock (Kamle et al., 2019). A comprehensive study between 2006 and 2016 on raw cereal grains worldwide showed detectable levels of FB₁ in 61% of the samples (Lee et al., 2017).

Due to the high contamination levels, and the serious health risks associated with its consumption, dealing with FB₁ contamination is a great challenge in the food industry. FB₁ is known to be very stable and altered only when heated above 150–200 °C or under strongly alkaline conditions. Physical (sorting, washing, irradiation, adsorbents) or chemical (alkaline- or ozone-) treatments are not effective enough, lower the nutritional value of the food, or are not applicable for food decontamination on an industrial scale (Liu et al., 2022). In contrast to the inefficiency of the physical and chemical techniques, enzymatic detoxification has become a promising approach for postharvest decontamination of FB₁.

Fumonisin esterases (FE) catalyze the consecutive de-esterification of FB₁ at the C-6 and C-7 positions, resulting in an aminopentol (hydrolyzed FB₁, HFB₁) and two tricarballic acid (TCA) molecules as final products (Figure 1) (Incze et al., 2024).

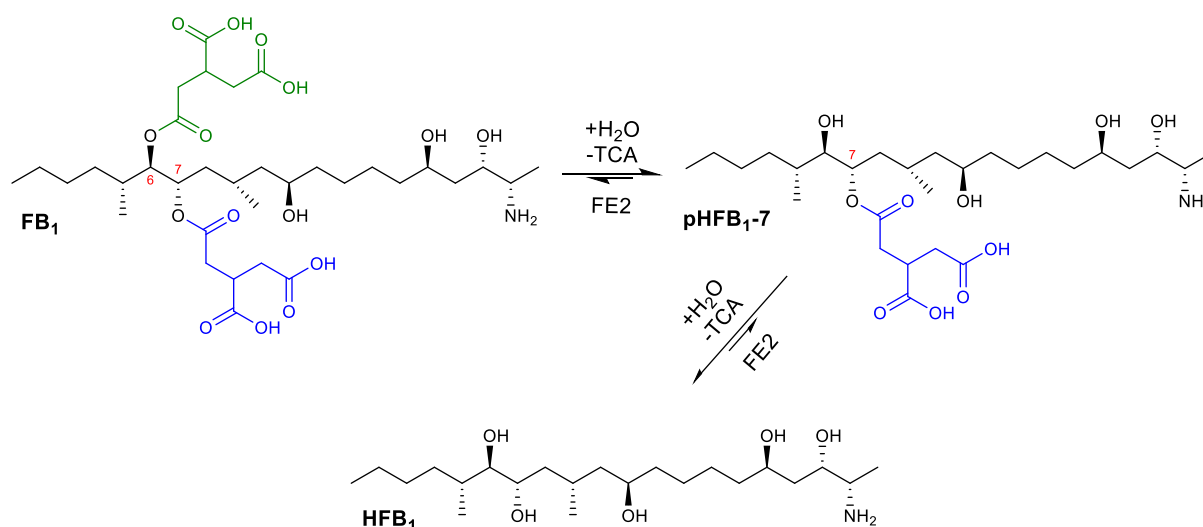


Figure 1 Consecutive de-esterification of FB₁ to pHFB₁-7 and HFB₁ catalyzed by FE2

According to European Food Safety Authority (EFSA), FB₁ hydrolysis should be considered a detoxification mechanism (Schrenk et al. 2022). The successful application of FE2 as a feed additive requires a solid enzyme formulation. The resulting product should retain the original enzyme activity, possess great storage stability, and tolerate the high temperatures of feed processing. Therefore, in this study, we investigated two different enzyme immobilization techniques.

MATERIALS AND METHODS

FE2 was produced by precision fermentation of *Pichia pastoris* pD912_FE2 (Incze et al., 2024). The FE2 solution was obtained by separating the cells by centrifugation at 7000 G and sterile filtration of the supernatant containing FE2 on a 0.2 µm filter. The reversibly immobilized products were prepared by mixing 100 g of the FE2 solution with 100 g of either ground corn cob, wheat bran, or shredded sugar beet pulp and drying them on a 4M8-Trix fluid bed dryer (PROCEPT, Zele, Belgium).

Small-sized zeolite (particle size <50 µm) was mixed with 50 ml of methanol (MeOH), while 1 ml of (3-aminopropyl) trimethoxysilane (APTMS) was added dropwise and the suspension was stirred overnight. The functionalized zeolite was consecutively washed with 50 ml MeOH and H₂O, resuspended in 50 ml of 5% glutaraldehyde in 50 mM K-phosphate buffer (pH 7.5) and stirred overnight. The amine- and glutaraldehyde-functionalized zeolite was consecutively washed with 40 ml MeOH and 40 ml 50 mM K-phosphate buffer (pH 6.5) and dried under vacuum. The irreversibly immobilized product was prepared by overnight stirring 7 g of the surface-modified zeolite with 42 ml of FE2 solution. The product was subsequently washed with 42 ml of 50 mM K-phosphate buffer (pH 6.5) and dried under vacuum. Enzyme load was estimated by comparing the protein concentration of the solution before and after the immobilization with the Bradford Protein Assay (Thermo Scientific, USA).

Portions of 1,00 g of the reversibly immobilized products and 100 mg of the irreversibly immobilized product were incubated at 20 °C, 80 °C, 100 °C and 120 °C for 30 minutes. Reversibly immobilized products of 1.00 g were shaken in 9 ml of 50 mM K-phosphate buffer (pH 6.0) for 15 minutes at 100 rpm. After a further 83.3-fold dilution of the extract, the residual activities were measured by mixing 20 µl of the diluted extract with 80 µl of FB1 solution in 50 mM K-phosphate buffer (pH 6.0) and incubating the reaction mixture at 37 °C for 15 min. The initial FB₁ concentration in the reactions was 100 µM. The residual activity of the immobilized enzyme product was measured similarly, except the suspension of the product in appropriate dilution was added to the reaction mixture. Relative activities were calculated as described by Incze et al. (2023).

RESULTS AND DISCUSSION

The enzyme FE2 was immobilized reversibly on ground corn cob, wheat bran and shredded sugar beet pulp; the residual enzyme activities after the immobilization were 45%, 107%, and 89% of the initial activity, respectively. The enzyme load of the FE2 irreversibly immobilized on surface-modified zeolite was 0.8 mg/g, and the residual enzyme activity was 95%.

The FE2 products were incubated at elevated temperatures to test their heat stability. FE2 immobilized on ground corn cob, wheat bran, and shredded sugar beet pulp showed exceptional heat stability, retaining more than 75% of their initial activities after a 30-min incubation at 100 °C, meanwhile, the covalently immobilized FE2 on zeolite lost nearly 90% of its activity under the same conditions (Figure 2). In solution, FE2 lost all its activity above 60°C, which corresponds to its melting temperature of 55°C (Incze et al., 2024). These results show that drying the solution of FE2 on agricultural byproducts is not only

a relatively straightforward and cost-effective method but also greatly protects the enzyme from heat denaturation. This immobilization technique could make these products compatible with standard feed pelleting, however, the moisture of the pelleted feed should be taken into consideration.

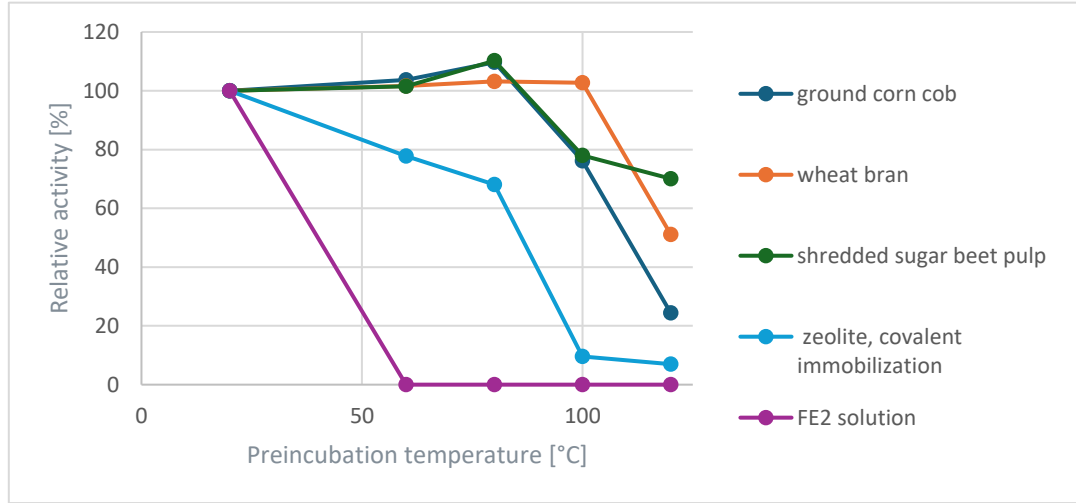


Figure 2 Heat stability of immobilized enzyme products. Relative activities were normalized to the activities of the products incubated at 20°C

FE2 immobilized on wheat bran – possessing the highest recoverable activity and the best heat stability among the tested products – was subjected to a 3-year shelf-life test, incubated at 20 °C and 50 °C in vacuum-sealed containers. Until 1 year of incubation at 20 °C, more than 90% of the activity was retained, and nearly 60% of the original activity was measured even after 3 years of storage (Figure 3). When stored at 50 °C, more than 80% and 50% of the initial activity was detected after 1 and 3 years, respectively (Figure 3). These results show that immobilization of FE2 on wheat bran is a promising technology to conserve the enzyme activity for an extended period.

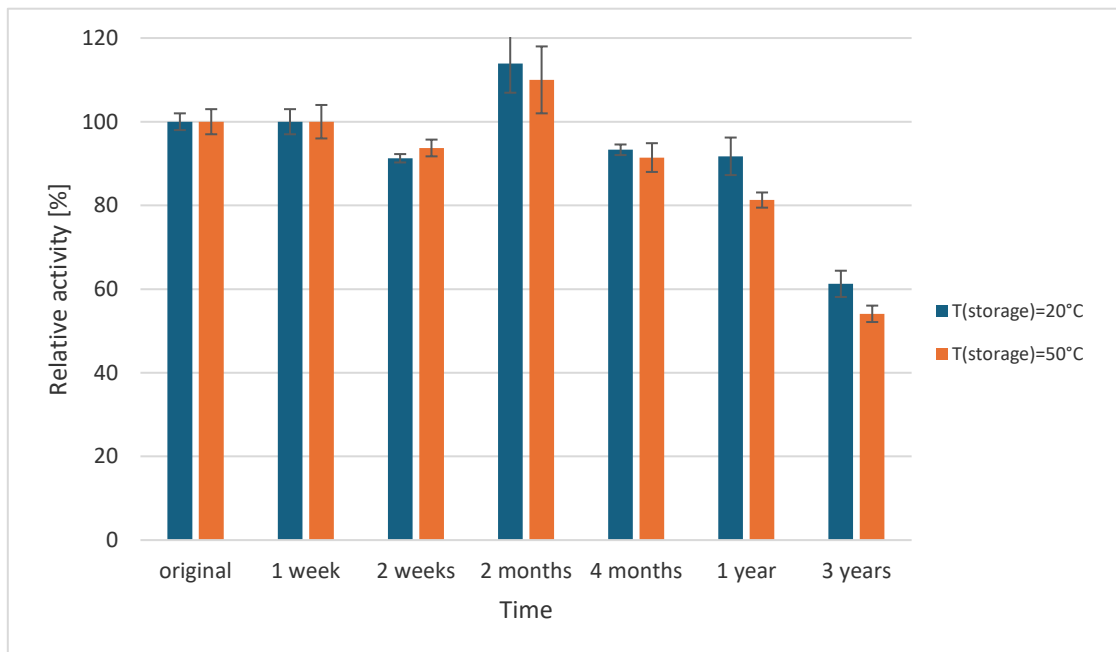


Figure 3 Storage stability of FE2 immobilized on wheat bran

CONCLUSIONS

Immobilization of the crude *Pichia pastoris* fermentation supernatant, containing recombinant FE2, directly to different agricultural byproducts showed great potential for increased heat stability and extended shelf-life stability of the enzyme while being an environmentally and economically feasible technology.

REFERENCES

- Incze, D. J., Bata, Z., & Poppe, L. (2023): Optimization Workflow of Fumonisin Esterase Production for Biocatalytic Degradation of Fumonisin B1. *Life*, 13(9), 1885. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13091885>
- Incze, D. J., Molnár, Z., Nagy, G. N., Leveles, I., Vértessy, B. G., Poppe, L., & Bata, Z. (2024): Understanding the molecular mechanism of fumonisin esterases by kinetic and structural studies (currently under review)
- Kamle, M., Mahato, D. K., Devi, S., Lee, K. E., Kang, S. G., & Kumar, P. (2019): Fumonisin: Impact on Agriculture, Food, and Human Health and their Management Strategies, *Toxins* (Basel), 11, 328. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins11060328>
- Lee, H. J., & Ryu, D. (2017): Worldwide Occurrence of Mycotoxins in Cereals and Cereal-Derived Food Products: Public Health Perspectives of Their Co-occurrence, *J. Agric. Food Chem.*, 65, 7034–7051. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b04847>
- Liu, M., Zhao, L., Gong, G., Zhang, L., Shi, L., Dai, J., Han, Y., Wu, Y., Khalil, M. M., & Sun, L. (2022): Invited review: Remediation strategies for mycotoxin control in feed, *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 13, 19. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00661-4>
- Schrenk, D., Bignami, M., Bodin, L., Chipman, J. K., J. del Mazo, Grasl-Kraupp, B., Hogstrand, C., Leblanc, J. C., Nielsen, E., Ntzani, E., Petersen, A., Sand, S., Schwerdtle, T., Vleminckx, C., Wallace, H., Daeniche, S., Nebbia, C. S., Oswald, I. P., Rovesti, E., Steinkellner, H., & Hoogenboom, L. (2022): Scientific Opinion on the assessment of information as regards the toxicity of fumonisins for pigs, poultry and horses. *EFSA Journal*, 20, 7534, 26. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2022.7534>



AZ EMÉSZTÉSSZIMULÁCIÓS VIZSGÁLATOK JELENTŐSÉGE A FUMONIZIN MIKOTOXIN BIOLÓGIAI HOZZÁFÉRHETŐSÉGÉNEK MEGHATÁROZÁSÁBAN

Varga-Szatmári Viktória^{1,2}, Vargáné Visi Éva¹, Bóta Brigitta², Péterfi-Szabó Dóra¹, Gömbös Patrik¹, Kovács Melinda^{1,2}

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Élettani és Állategészségügyi Tanszék, Agrár Biotechnológia és Precíziós Nemesítés az Élelmiszerbiztonságért Nemzeti Laboratórium, Kaposvár, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

²HUN-REN-MATE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, Kaposvár, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

A fumonizin mikotoxinokat a *Fusarium verticillioides* mellett más penészgombák is termelik. Az intakt FB1-en kívül számos más FB1-formák is ismertek, melyek különböző kémiai, biokémiai, fizikai hatásokra jönnek létre. Az FB1 egy része mátrixhoz kötötten van jelen a táplálékban, amely emésztés során a mátrixból kiszabadulva, a vékonybélben képessé válik a felszívódásra. Az élelmiszer vagy takarmány FB1-tartalmán kívül ezért célszerű azt is meghatározni, hogy az FB1-nek mekkora a biológiai hozzáférhetősége, azaz milyen mennyiség áll belőle rendelkezésre potenciálisan a felszívódásra. Munkánk során Brodkorb és mtsai. (2019) által leírt INFOGEST statikus in vitro emésztési modellt alkalmaztuk annak érdekében, hogy megvizsgáljuk az emésztés során a FB1-gyel szennyezett sertéstápból oldatba jutó FB1 mennyiségét, és ezt összehasonlítsuk az emésztés előtt mért mennyiséggel (HPLC-MS). Megállapítható volt, hogy az in vitro emésztési folyamat végén több volt az oldott formájú FB1 az emésztési modellben, mint amennyi FB1-et az emésztésre bemért táp a kémiai analízis alapján tartalmazott ($p < 0,01$). A szimulált emésztés hatására tehát a FB1 egy olyan hányada is felszabadult a mintából és mérhetővé vált, amely nem volt kimutatható az emésztés előtti mintából.

ABSTRACT

Fumonisin mycotoxins are also produced by other moulds besides *Fusarium verticillioides*. In addition to intact FB1, several other forms of FB1 are known, which are formed by various chemical, biochemical and physical effects within the plant and animal organisms, as well as by food and feed processing. Part of FB1 is present in the food or feed bound to a matrix, which may be released from the matrix during digestion. The FB1 released from the matrix becomes capable of being absorbed in the small intestine. Therefore, in addition to the FB1 content of the food or feed, it is also useful to determine the bioaccessibility of FB1, i.e. the amount of FB1 potentially available for absorption. In our work, we adapted the INFOGEST static in vitro digestion model described by Brodkorb et al. (2019) to investigate the amount of FB1 in solution during digestion in the digestion model and compare this with the amount before digestion (HPLC-MS). It was found that at the end of the in vitro digestion process, there was significantly more dissolved amount of FB1 in the digestion model than the amount of FB1 in the feed before, analysed by the routine LC-MS methodology ($p = 0.01$). The difference may be attributed to the partial release of hidden FB1 during simulated digestion.

BEVEZETÉS

A fumonizinek olyan másodlagos anyagcseretermékek, amelyeket penészgombák termelnek, elsősorban a *Fusarium* fajok, de más penészgombafajok is termelhetik ezeket a metabolitokat. Ezek közé tartozik az *Aspergillus niger* és a *Tolypocladium* nemzetség néhány faja (Frisvad és mtsai., 2007; Mogensen és mtsai., 2010). A fumonizinek több csoportja (A, B, C, P) közül a B csoport (B1, B2, B3, B4) a legjelentősebb, melyen belül a fumonizin B1 (FB1) a legtoxikusabb és a legnagyobb mértékben termelődő fumonizin B analóg. A fumonizinek elsősorban gabonát (kukorica, búza, árpa) szennyeznek.

A FB1 számos formája ismert, melyek a szabad formán kívül különböző fizikai, kémiai és biológiai hatás révén jönnek létre a növényi és állati szervezeten belül, valamint a takarmány-, és az élelmiszergyártás során.

A nomenklatura a módosított formákat a szerkezetükben bekövetkező változások és a takarmány, illetve élelmiszer-komponensekhez való kapcsolódásuk szerint különböző elnevezéssel illeti (Rychlik és mtsai., 2014). A legjelentősebb módosított formák a hidrolizált fumonizin, vagy más néven aminopentol (HFB/AP) és a részben hidrolizált fumonizin (pHFB) (EFSA, 2018a). A módosított formák biokémiai vagy kémiai úton jönnek létre (Rychlik és mtsai., 2014). A szerkezeti változást többféle okra lehet visszavezetni. A növények és az állatok a toxin ellen különbözőképpen védekeznek. A védekezési mechanizmus egyféle biotranszformációban nyilvánul meg, amely oxidáció, hidrolízis, redukció vagy konjugáció révén megváltoztatja a fumonizin eredeti szerkezetét. A növényi szervezet a toxin ellen enzimatis módon védekezik, ami úgynevezett „maszkolt” fumonizint hoz létre. Ez jellemzően olyan konjugált FB1-formákat eredményez, melyek kovalens kötéssel szulfát-, glikozid-, vagy aminocsoportokhoz kapcsolódnak (Matos és mtsai., 2024, Lu és mtsai., 2020). Az állati szervezeten belül általában a FB1 hidrolízise valósulhat meg, mely jellemzően HFB-t vagy pHFB-t eredményez (Lu és mtsai., 2020). A másik, kémiai úton történő szerkezeti változást a takarmányok és élelmiszerek gyártása során a mechanikai hatások, az alkalmazott termikus kezelések, illetve a különböző savas és lúgos eljárások okozzák (EFSA, 2018b). Élelmiszer és takarmány előállításakor a FB1-ből *N*-(1-dezoxi-D-fruktóz-1-il)-fumonizin B1 (NDF-FB1), valamint *N*-(karboximetil)-fumonizin B1 származékok keletkeznek a Maillard-reakció révén; illetve a nixtamizálás a HFB kialakulását idézi elő. Az élelmiszerek, takarmányok lúgos kezelésével *N*-acil-származékok is létrejöhetnek (Lu és mtsai., 2020).

A takarmány- és élelmiszergyártás folyamata elősegítheti a fumonizinek mátrixhoz való kötődését is. A fumonizinek amid- vagy észterkötéssel kapcsolódhatnak különböző makromolekulákhoz (fehérje, keményítő). A tápanyagokhoz nem kovalensen kötődő FB1 a táplálékban fizikailag körbezárva is jelen lehet, viszont itt nem következik be szerkezeti módosulás, ezért ez a forma nem nevezhető módosítottnak. Ezt a formát „kötött” fumonizinnak nevezik.

Számos vizsgálat rávilágított arra, hogy a fumonizin mennyiségi meghatározását nagyban befolyásolják az analitikai körülmények (oldószer, extrakciós módszer, hőmérséklet, pH). Legáltalánosabban a FB1-et acetonitril-víz vagy metanol-víz elegyével vonják ki a mintából. A mért FB1-tartalom részben attól függ, hogy mintaelőkészítéskor, adott extrakciós eljárás alkalmazásakor, mennyi FB1 oldódik ki a mintából (Szabó-Fodor és mtsai.,

2015). Az analitikai eljárás szempontjából alkalmazott szakirodalmi terminológia eltér az előzőleg említett, a kölcsönhatások jellegén alapuló nomenklatúrától. A szokványos extrakciós eljárásokat alkalmazó analitikai módszerekkel kimutatható mennyiséget nevezik „szabad” mikotoxintartalomnak, míg a mintában lévő, de nem mérhető formák összessége adja a „rejtett” mikotoxintartalmat – utóbbiak a szokványos módszerekkel nem vonhatók ki, így nem mutathatók ki.

Mivel a teljes fumonizinmennyiség (szabad + rejtett FB1) a kontaminálódott táplálékban mindig több, mint a szabad forma (Scarpino és mtsai., 2024, Matos és mtsai., 2024), ezért ahhoz, hogy a táplálékból a legpontosabban meg tudjuk határozni a teljes FB1-mennyiségét, az oldószer és a mátrix közötti kölcsönhatást maximalizálni kell, illetve olyan eljárásokat is alkalmaznak, mellyel ezek a rejtett formák felszabadíthatók. Matos és mtsai. (2024) kálium-hidroxiddal hidrolizálták a kukoricaalapú termékeket, hogy a teljes (szabad + rejtett) FB1-tartalmat kinyerjék a mintákból. Bertuzzi és mtsai. (2016) vizsgálatai is kimutatták, hogy az FB1 komplex analitikai módszerekkel való kimutatása jobb eredményeket produkál, mint a hagyományos analitikai meghatározás. Vizsgálatuk során különböző extrakciós lépéseket hasonlítottak össze egymással a teljes FB1-tartalom meghatározása érdekében. Arra jutottak, hogy hőkezeletlen kukoricamintáknál nem feltétlenül szükséges a KOH-hidrolízis, hanem elegendő egy foszfát pufferes (PB) extrakció, azonban hőkezelt mintáknál szükség van a KOH-hidrolízisre (Bertuzzi és mtsai., 2016). Ezekkel a kémiai módszerekkel a táplálékban potenciálisan rendelkezésre álló FB1-mennyiségét ismerjük meg, azonban arról nem szerzünk tudomást, hogy ennek milyen hányada képes az emésztés során felszívódásra alkalmas állapotba kerülni.

Az emésztés során a FB1 kötött formáinak egy része a mátrixból felszabadulhat endogén vagy mikrobiális enzimek révén. Ezenkívül a módosított formák egy része visszaalakulhat szabad formává, ami szintén az enzimes folyamatoknak köszönhető. Az FB1 biológiai hozzáférhetőségét a teljes FB1-tartalom azon hányada határozza meg, amely a vékonybélben felszívódásra alkalmassá válik. A biológiai hozzáférhetőséget befolyásolja az FB1 és a komponensek közötti kötési típus és a táplálék maga, mivel a különböző takarmány- és élelmiszer-alapanyagokat eltérő mátrix jellemzi. Az FB1 eredeti alakja rendkívül káros egészségügyi hatásokkal rendelkezik. Annak ellenére, hogy az FB1 csak nagyon kis mértékben képes a felszívódásra a vékonybélben – a takarmánnyal felvett FB1-mikotoxin 3–6%-os hányada alkalmas a felszívódásra sertésben (Prelusky és mtsai., 1994) – mégis hatalmas egészségügyi károkat okoz, ezt számos kutatás alátámasztja. Az FB1 potenciálisan karcinogén besorolást (2B) kapott (IARC, 2002). Ezenfelül hepato-, és nefrotoxikus, lovakban az agyvelő szivacsos elváltozását okozza, sertésben tüdőödémát idéz elő. Egyelőre nem teljesen tisztázott, hogy a módosított formák toxikusabbak-e vagy sem az eredeti molekulához viszonyítva. Az FB1+FB2 sertések takarmányában javasolt maximális koncentrációja 5 mg/takarmány kg (2006/576/EC). A szimulált emésztési vizsgálatok lehetőséget nyújtanak arra, hogy megbecsüljük a toxinok biológiai hozzáférhetőségét.

ANYAG ÉS MÓDSZER

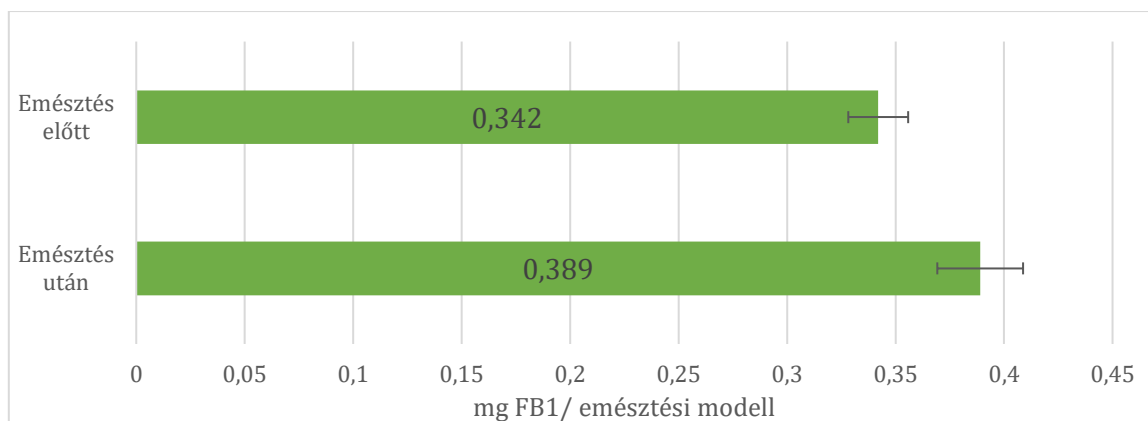
Annak érdekében, hogy meg tudjuk határozni a felszívódásra rendelkezésre álló fumonizin mennyiségét, *in vitro* emésztésszimulációt végeztünk. Az emésztés három fázisában (szájüreg-, gyomor- és vékonybél-fázis) az emésztési folyamat a Brodkorb és mtsai. (2019) által leírtaknak megfelelően, szabályozott körülmények között zajlott. A mintavétel a vékonybél-fázist követően történt, mivel az FB1 túlnyomó hányada felszívódik a vékonybél-fázis végéig (Massarolo és mtsai., 2020).

A szimulált emésztést rizsszubsztráton termesztett *Fusarium verticillioides* gombatenyészetet tartalmazó sertéstáppal végeztük el, az FB1 koncentrációját a keverékben 50 mg/kg körüli értékre állítottuk be. Az emésztés végén az emésztőenzimek inaktiválása céljából a mintákat 4 °C-ra hűtöttük le, majd a mintákat lecentrifugáltuk (4000 rpm, 10 p, 4 °C). A centrifugálás utáni felülúszóból vettünk mintát, amelyet az analitikai feldolgozásig -20 °C-on tároltunk. Mind az emésztés előtti, mind az emésztés utáni mintákat négy párhuzamosban vizsgáltuk.

Az *in vitro* emésztés előtt (mg/kg minta) és után mért FB1-koncentráció (mg/dm³ felülúszó) alapján kiszámoltuk, hogy mennyi FB1 volt az emésztési modellben lévő mintamennyiségben emésztés előtt, illetve mennyi oldott állapotú FB1 volt a minta felülúszójában az emésztést követően. A statisztikai elemzések során az emésztési modellben mért FB1 mennyiségét hasonlítottuk össze az emésztés előtt, illetve után. Az eredmények statisztikai kiértékelését R-programmal végeztük, ahol független mintás t-próbával elemeztük a csoportok átlagát $p < 0,05$ szignifikanciaszinten.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

Az 1. ábrán látható, hogy az emésztési modellben az emésztés után az oldatban lévő FB1 mennyisége mintegy 13%-kal több volt, mint az emésztés előtt mért érték. Az FB1 emésztési modellben meghatározott biológiailag hozzáférhető mennyisége több volt ($p < 0,05$), mint amennyit az emésztésre szánt minta a kémiai analízis alapján tartalmazott. Ez összhangban van Szabó-Fodor és mtsai. (2015) eredményeivel, akik azt tapasztalták, hogy mind a kukorica-, mind a búzaalapú gombatenyészetek az *in vitro* emésztés után több oldott állapotú FB1-t tartalmaztak (kukoricában kb. 38%, búzában 28%-kal többet), mint az emésztetlen minták. Dall'Astra és mtsai., (2009) FB1-gyel természetesen szennyezett kukoricamintákból emésztés után szintén 30-50%-kal magasabb FB1-koncentrációt mértek, mint emésztés előtt.



1. ábra. Az *in vitro* emésztés előtti és az emésztés utáni FB1 mennyisége a sertéstápban

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Vizsgálatunk során azt tapasztaltuk, hogy egy szokványos, kémiai extrakciós módszerrel kisebb FB1-tartalmat mértünk, mint amikor ugyanazt a módszert szimulált emésztést követően alkalmaztuk. A mintából az oldatba jutott és ezért a felszívódásra potenciálisan rendelkezésre álló FB1 mennyisége több volt, mint az emésztés előtti mintából mért FB1 mennyisége. Ennek oka feltehetőleg az volt, hogy az emésztési folyamatok a minta feltárásával lehetővé tették az FB1 nagyobb hányadának meghatározását. Ez a más szerzők által tapasztaltakkal (Dall'Asta és mtsai., 2009; Szabó-Fodor és mtsai., 2015) összhangban lévő eredmény felhívja a figyelmet arra, hogy fennáll annak a veszélye, hogy a szokványos analitikai módszerek alkalmazása során nem nyerjük ki a mintából az FB1 jelentős hányadát, amely viszont felszabadul az emésztés során, ezért biológiai hatás szempontjából jelentőséggel bírhat.

Komplex analitikai módszerekkel lehetőség van a minta jobb feltárására (Bertuzzi és mtsai., 2016; Matos és mtsai., 2024), ebben az esetben arra törekszünk, hogy a kémiai feltárás tökéletesítésével megközelítsük a teljes FB1-mennyiséget. Ennek viszont csak egy adott hányada fog az emésztés során felszabadulni. A biológiai hozzáférhetőség százalékos arányát abban az esetben tudnánk egzaktul meghatározni, amennyiben rendelkezésre állnának olyan komplex analitikai módszerek, melyekkel lehetőség lenne a teljes FB1-szint meghatározására, és ehhez tudnánk viszonyítani az emésztés során felszabadult FB1 mennyiségét.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérlet és a publikáció a RRF-2.3.1-21-2022-00007 számú és „Agrár biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszerbiztonságért” elnevezésű projekt keretében készült.

IRODALOM

- Bertuzzi T., Mulazzi A., Rastelli S., & Pietri A. (2016): Hidden Fumonisin: Simple and Innovative Extractions for Their Determination in Maize and Derived Products, *Food Anal. M.*, 9.1970–1979. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0377-2>
- Brodkorb A., Egger L., Alminger M., Alvito P., Assuncao R., & Ballance S. (2019): INFOGEST static *in vitro* simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature prot.*, 14, 991–1014. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>

- Dall'Asta, C., Mangia, M., Berthiller, F., Molinelli, A., Sulyok, M., Schuhmacher, R., Krska, R., Galaverna, G., Dossena, A. & Marchelli R. (2009): Difficulties in fumonisin determination: the issue of hidden fumonisins, *Anal. and Bioanal. Chem.*, 395, 1335–1345. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-009-2933-3>
- European Food Safety Authority (EFSA) (2018a): Appropriateness to set a group health-based guidance value for fumonisins and their modified forms. *EFSA J.*, 16(2), e05172. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5172>
- European Food Safety Authority (EFSA) (2018): Risks for animal health related to the presence of fumonisins, their modified forms and hidden forms in feed. *EFSA J.*, 16(5), e05242. DOI: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5242>
- Frisvad J.C., Smedsgaard J., Samson R.A., Larsen T.O., & Thrane U. (2007): Fumonisin B2 Production by *Aspergillus niger*, *J. of Agricult. and Food Chem.*, 55(23), 9727–9732. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf0718906>
- IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans (2002)
- Lu Q., Qin J-A., Fu Y-W., Luo J-Y., Lu J-H., Logrieco A. F., & Yang M-H. (2020): Modified mycotoxins in foodstuffs, animal feed, and herbal medicine: A systematic review on global occurrence, transformation mechanism and analysis methods, *Trends in Analytical Chem.* 133. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116088>
- Massarolo, K. C., Ferreira, C. F. J., Collazzo, C. C., Bianchini, A., Kupski, L., & Badiale-Furlong, E. (2020): Resistant starch and hydrothermal treatment of cornmeal: Factors in aflatoxins and fumonisin B1 reduction and bioaccessibility, *Food Cont.*, 114. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107274>
- Matos M. A. V., Sartori A. V., Soilo E. R. P., Moraes M. H. P., & Jacob S. C. (2024): A survey on free and hidden fumonisins in Brazilian corn and corn-based products, *Food Cont.*, 156. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2023.110135>
- Mogensen, J. M., Moller, K. A., Freiesleben, P., Labuda, R., Varga, E., Sulyok, M., Kubatova, A., Thrane, U., Andersen, B., & Nielsen, K. F. (2010): Production of fumonisins in B2 and B4 in *Tolypocladium* species, *J. Microbiol. Biotechnol.*, 38, 1329–1335. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10295-010-0916-1>
- Scarpino V., Bresciani A., & Blandino M. (2024): The effects of the extrusion process used for the production of maize snacks and pasta on the free, bound, and total B fumonisin contents, *LWT*, 198, 115977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2024.115977>
- Szabó-Fodor, J., Dall'Asta, C., Falavigna, C., Kachlek, M., Szécsi, Á., Szabó, A., & Kovács, M. (2015): Determination of the amount of bioaccessible fumonisin B1 in different matrices after in vitro digestion. *World Mycotoxin J.*, 8(3), 261–267. DOI: <https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1771>



ROOIBOSKIVONAT VÉDŐHATÁSA A FUMONIZIN B1 ÁLTAL KIVÁLTOTT OXIDATÍV STRESSZ ÉS A MEMBRÁNLIPID-ÖSSZETÉTEL ESETÉBEN, PATKÁNYMÁJBAN

Omeralfaroug Ali¹, Szabó András^{1,2}, Balogh Krisztián³, Schieszl Tamás², Bóta Brigitta², Turbók Janka¹, Edward Agyarko¹, Jeanine L. Marnewick⁴, Naeem Sheik Abdul⁵, Taskeen Fathima Docrat⁴, Tony Masolo Biketi¹, Kovács Melinda²

¹Agrár-biotechnológia és precíziós nemesítés az élelmiszer-biztonságért Nemzeti Laboratórium, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Élettani és Állategészségügyi Tanszék, Kaposvár, 7400 Kaposvár, Guba Sándor utca 40.

²HUN-REN – MATE Mikotoxinok az Élelmiszerláncban Kutatócsoport, 7400 Kaposvár, Guba Sándor utca 40.

³Takarmánybiztonsági Tanszék, Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Szent István Campus, Gödöllő, 2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1.

⁴Applied Microbial and Health Biotechnology Institute, Cape Peninsula University of Technology (CPUT), Bellville, South Africa

⁵Department of Biochemistry, Stellenbosch University, Stellenbosch, South Africa

ÖSSZEFOGLALÁS

A tanulmány célja az volt, hogy felmérjük a zöld rooibos (ZR) teakivonat hatását az FB1 által kiváltott oxidatív stresszre és a májsejtek membránlipid-összetételére patkánymáj esetében ($n = 6$ / csoport, 3 csoportba rendezve). A 10 napos vizsgálat során a kísérleti kezelésekben intraperitoneálisan injektáltunk fumonizin B1-et (FB1) (50 mg/kg takarmánydózisnak megfelelő értéken), és egy csoport esetében zöld rooiboskivonatot is biztosítottunk az FB1 mellett (per os, 15 mg tea/nap/egyed). Az eredmények szerint az FB1 károsította a májfunkciót. A rooiboskivonat jelentősen csökkentette a máj malonaldehid- (MDA-) szintjét (a lipid peroxidációmakere), a kontrollcsoportéhoz hasonló értékre. A rooiboskivonat korlátozottan befolyásolta az FB1 májsejtmembránra gyakorolt hatását, mely a többszörösen telítetlen zsírsavakra és azok számított indexeire volt igazolható. Összefoglalva, a zöld rooibos csökkentheti az FB1 által kiváltott oxidatív stresszt a patkány májában, de korlátozott hatással van a májsejtmembránlipid zsírsavösszetételének integritására, krónikus FB1 expozíció esetén.

ABSTRACT

The aim of the study was to assess the effect of green rooibos (ZR) tea extract on FB1-induced oxidative stress and the membrane lipid composition of liver cells in rat liver ($n = 6$ per group, arranged into three groups). During the experimental treatments in a 10-day long study fumonisin B1 (FB1) was injected intraperitoneally at a dose equivalent to 50 mg/kg feed, and in one group, green rooibos extract was also administered alongside FB1 (orally, 15 mg tea/day/individually). The results indicated that FB1 impaired liver function. The rooibos extract significantly reduced liver malondialdehyde (MDA) levels (a marker of lipid peroxidation) to values comparable to the control group. The rooibos extract had a limited effect on the impact of FB1 on liver cell

membranes, which was evident in the changes observed in polyunsaturated fatty acids and their calculated indices. In summary, green rooibos may reduce FB1-induced oxidative stress in the rat liver but has a limited effect on the integrity of the membrane lipid fatty acid composition of liver cells during chronic FB1 exposure.

BEVEZETÉS

A *Fusarium* species. okozta fertőzés a növényekben kifejezetten kritikus jelenség, mivel ezek a gombatörzsek a fumonizin B1 (FB1) mikotoxin elsődleges termelői (El-Sayed et al., 2022). Számos bizonyíték utal a fumonizin B1 állatállományra, köztük sertésekre, bárányokra és lovakra gyakorolt toxikus hatásaira (Chen et al., 2021; El-Sayed et al., 2022). A szfingolipid-metabolizmus megzavarása kulcsfontosságú szerepet játszik az FB1-hez kapcsolódó toxicitásban és karcinogenitásban, leginkább a ceramidszintáz-enzimkomplex kompetitív gátlása révén (Merrill et al., 2001). A legújabb tanulmányok azonban rávilágítottak a toxicitás más lehetséges mechanizmusaira, beleértve az epigenetikai diszregulációt, a DNS-károsító hatást, a mitokondriális diszfunkciót és az oxidatív stresszt (Abdul és Marnewick, 2023; Arumugam et al., 2021; Domijan és Abramov, 2011).

Oxidatív stressz a reaktív oxigénfajták (ROS) fokozott termelése vagy csökkent „hatástalanítása” miatt alakul ki (Hybertson et al., 2011). Kimutatták, hogy ezek a ROS-típusok makromolekulákat céloznak és károsítanak, ami az FB1-nek kitett sejtek esetében is jellemző (Arumugam et al., 2019; Wang et al., 2016). Az oxidatív stressz mérséklése fontos és hatékony stratégiát jelenthet az FB1-szennyezettség esetén gyakran megfigyelt sejtkárosodás enyhítésére (El-Adawi et al., 2009; Ezdini et al., 2020). Az *Aspalathus linearis* (Burm.f.) Dahlg., más néven Rooibos, a dél-afrikai Cederberg régióban endemikus, és általában gyógytea formában fogyasztják (Joubert & de Beer, 2011). Gyógyhatása, biológiai értéke elsősorban magas polifenol-tartalmával áll összefüggésben.

Mivel a mikotoxinok nem távolíthatók el a táplálékláncból, az innovatív megoldások hozzájárulnak kártételük csökkentéséhez. Ezért a tanulmányunknak az volt a célja, hogy megvizsgálja a rooiboskivonat (zöld, ZR) alkalmazását potenciális beavatkozási stratégiaként az FB1 toxin megnyilvánulásait kiváltó pato-mechanizmusok megelőzésére és/vagy módosítására, ko-expozíciós modellben, patkányokon.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Rooibos növényi anyag és -készítmény

A kereskedelemben kapható zöld rooibos (Fine cut, U15-03-JJ) növényi anyagot a Rooibos Ltd-től (Clanwilliam), Dél-Afrikából szereztük be. A rooibos gyógyteakivonatot a tea-készítéshez szokásosan használt koncentrációban állítottuk elő, Marnewick et al. (2009) szerint.

Kísérleti állatok és kezelések

A kutatási protokollt az MATE KC MÁB és a Somogy Vármegyei Kormányhivatal, Élelmiszerlánc-biztonsági és Állategészségügyi Osztálya engedélyezte (SO-04/EAO/02184-2/2023). A hímivarú HAN:Wist SPF patkányok (250–275 g testtömeg) napi 15 ml teakivonatot kaptak, amelyet ivóvízzel 30 ml-re hígítottunk. A

kontroll- és csak az FB1-gyel kezelt állatok napi 30 ml tiszta ivóvizet kaptak. A negatív kontrollcsoport tiszta ivóvizet fogyasztott és fiziológiás sóoldatot kapott intraperitoneálisan, a toxinkezelt csoport napi 50 ppm (mg/kg takarmány ekvivalens) FB1 adagot kapott, azaz 65,625 µg FB1-et (Merck-Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Németország) 0,5 ml steril fiziológiás sóoldatban, intraperitoneális injekcióban, és egy további csoport az említett, napi intraperitoneális FB1 dózist kapta, és azzal együtt ZR-t fogyasztott (FB1 + ZR), 15 ml tea+15 ml víz elegyeként.

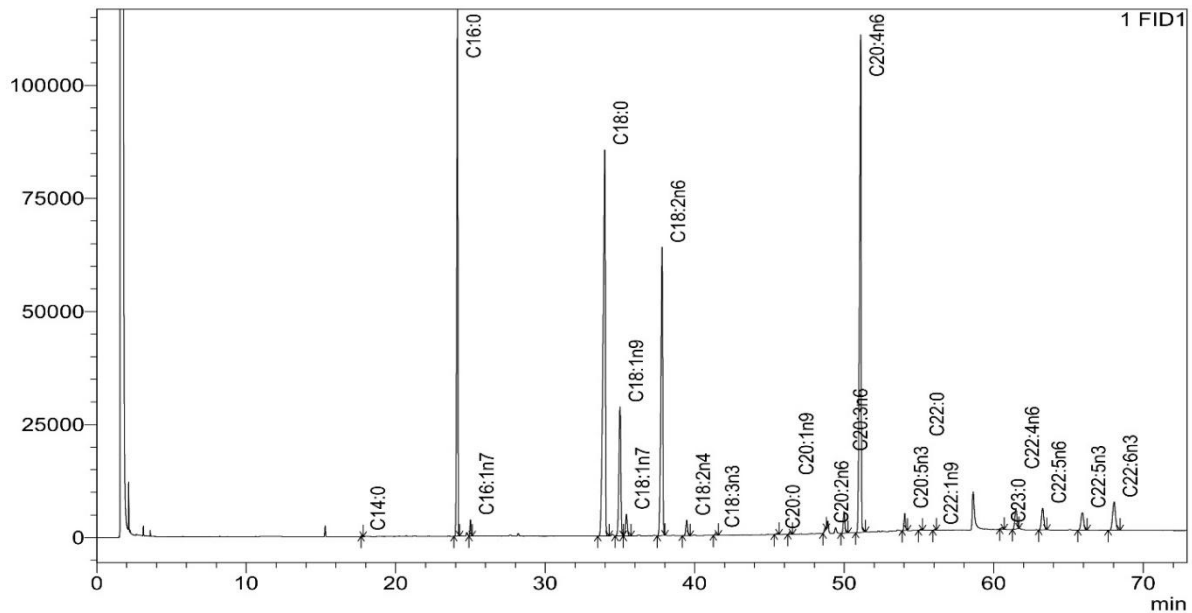
Máj oxidatívlipid-markerei

A lipidperoxidációt a malondialdehid ekvivalens (MDA eq.) szintjének 2-tiobarbitursav módszerrel történő mennyiségi meghatározásával jellemeztük (Botsoglou et al., 1994). Az antioxidáns rendszer összetevői közül a redukált glutation (GSH) koncentrációját Sedlak és Lindsay (1968) módszerével mértük, a glutation-peroxidáz- (GPx-) aktivitást pedig Matkovics et al. (1998) szerint. A GSH-koncentrációt és a GSH-Px-aktivitást fehérjetartalomra vonatkoztatva számítottuk ki; utóbbit Lowry et al. (1951) által leírt módszerrel határoztuk meg.

Az összes foszfolipid zsírsavösszetétele a májban

A májmintákat kloroform/metanol-elegyben homogenizáltuk 2:1 (v/v), Folch et al. (1957) szerint. Nagy tisztaságú oldószereket (Merck-Sigma-Aldrich, Schnelldorf, Németország) és 0,01 tömegszázalék butilhidroxitoluolt használtunk a zsírsavak oxidációjának gátlására. Tíz milligramm összes extrahált lipidet vittünk át 300 mg szilikagél (230–400 mesh) tartalmazó üveg kromatográfiás oszlopokra frakcionálás céljából, Leray et al. (1997) módszere szerint. A neutrális lipideket 10 ml kloroformmal eluáltuk, majd 15 ml aceton-metanolt (9:1 v/v) alkalmaztunk, míg az összes foszfolipidet 10 ml tiszta metanollal eluáltuk. A foszfolipid-frakciót argonáram alatt szárazra pároltuk és Christie-féle báziskatalizált NaOCH₃-módszerrel metiláltuk a zsírsavakat (Christie, 1982).

A zsírsav-metilésztetereket a korábban leírt módszerrel számszerűsítettük (Ali et al., 2021; Szabó et al., 2021). Az eredményeket az összes zsírsav-metilésztetertömegszázalékában adtuk meg. A zsírsav-összetételt GC-FID módszerrel elemeztük (1. ábra).



1. ábra. A kontrollmintában lévő azonosított zsírsav kromatogramja, amelyet a GC-FID-módszerrel elemeztünk

Adatelemzés

A kapott adatkészletet egyváltozós (FBs-koncentráció mint csoportosítási változó) varianciaanalízissel (ANOVA) elemeztük a Tukey-féle „post hoc” teszttel a csoportok közötti különbségek elemzése érdekében, az IBM SPSS 24-es verziójának használatával. A májból származó különböző foszfolipidek zsírsavprofiljain főkomponens-analízist (PCA) végeztünk az Unscrambler 9.7 szoftverrel, hogy a lehető legnagyobb hatékonysággal azonosítsuk a „csoportképzésért” felelős varianciát leíró főkomponenseket.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

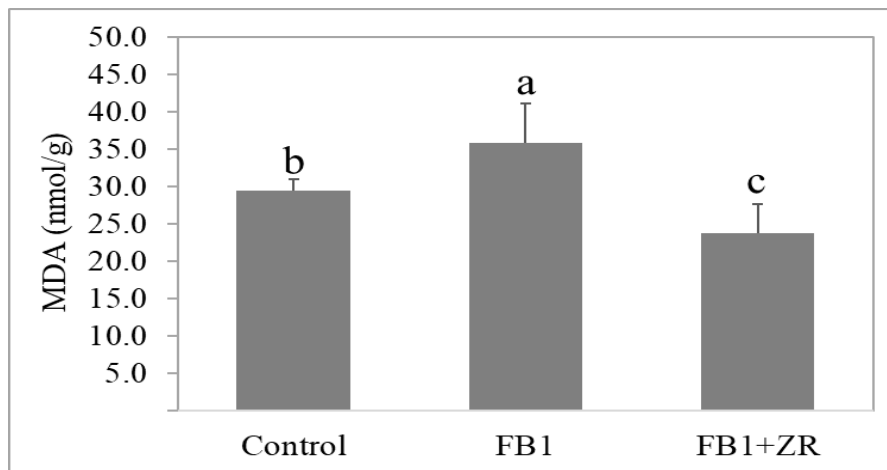
A májból mért antioxidánsok és lipidperoxidáció paramétereit a 1. táblázat mutatja. Az FB1 emelte a GSH koncentrációját, míg a GPx-aktivításban nem találunk szignifikáns eltérést a csoportok között. A lipidperoxidációs biomarker, az MDA szintje a kontrollállatokhoz képest a csak FB1-gyel kezelt patkányok májában volt magasabb; a ZR-kiegészítés jelentősen csökkentette ($p < 0,05$) az FB1 MDA-koncentrációra gyakorolt hatását (2. ábra).

1. táblázat. A májszövetben mért redoxstátusz-markerek ($n = 6$ /csoport, átlag és szórás)

Paraméter	Kontroll	FB1	FB1+ZR
Redukált glutation ($\mu\text{mol/g}$ protein)	$7,41 \pm 1,27^b$	$11,4 \pm 1,80^a$	$10,5 \pm 2,58^a$
Glutacion peroxidáz (IU/g protein)	$3,79 \pm 0,20^c$	$4,59 \pm 0,81^{bc}$	$6,24 \pm 2,10^{ab}$

A különböző felső indexekkel ellátott értékek a kezelések közötti szignifikáns különbségre utalnak (p -érték < 0.05)

A GSH a máj fő intracelluláris antioxidánsa. Vizsgálatunkban az FB1 expozíció stimulálta a celluláris antioxidáns védelmi rendszert, a GSH-szint emelésével. A szakirodalomban rendelkezésre álló, ezekre a paraméterekre vonatkozó adatok azonban nagyon változatosak. Szabó et al. (2018) tanulmányában 10 napos 50 mg FB1/kg expozíció csökkentette a GPx-et, míg a GSH változatlan maradt.



2. ábra. A máj malonaldehid (MDA) szintjei a kísérleti csoportokban, a kísérlet végén. Az adatok átlagot és szórást mutatnak. A különböző betűkítevéők (a, b és c) a kezelések közötti szignifikáns különbségre utalnak (p -érték $< 0,05$).

Egy ötnapos kísérletben az FB1 szignifikánsan csökkentette, a GSH értékét, de a GPx változása nem volt kimutatható (Szabó et al., 2016). Vizsgálatunkban az antioxidáns védelmi rendszer a sejtek fokozott ROS-termelése miatt aktiválódott, amit a lipidperoxidációból származó magas MDA-szint jelez. A polifenoltípusú vegyületben gazdag zöldrooibos-kivonat a kontrollnál alacsonyabb MDA-szinthez vezetett (ZR-csoport).

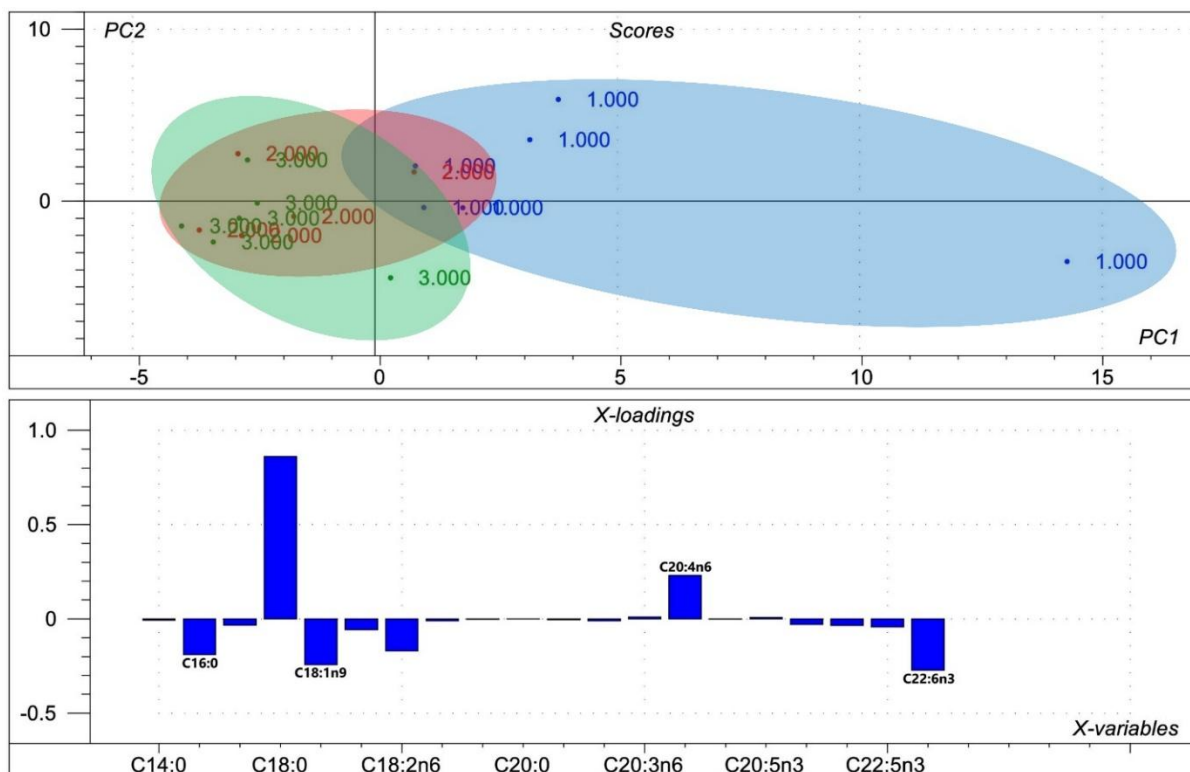
A máj foszfolipidjeinek zsírsavösszetétele

Minden FB1-gyel kezelt patkány hasonló és szignifikáns változásokat mutatott az összes foszfolipid zsírsav esetében (2. táblázat és 3. ábra). Az FB1-gyel kezelt csoportokban szignifikánsan csökkent a sztearinsav (C18:0) aránya, ami a teljes telítettség (SFA) csökkenéséhez vezetett. Ezzel szemben az FB1-nek kitett patkányok mindegyikénél nőtt az olajsav aránya (C18:1n9) és a teljes egyszeres telítettség (MUFA) szintje. Az FB1-gyel kezelt csoportokban nagy arányban volt kimutatható arachidonsav (C20:4n6) és dokozahexaénsav (C22:6n3 vagy DHA), valamint összes omega-3 zsírsav (n3) és telítetlenségi index (UI) is magas volt. Ezzel szemben mind az eikozapentaénsav (C20:5n3, vagy EPA), mind az n6 és n3 zsírsavak (n6:n3) aránya csökkent az FB1-gyel kezelt csoportokban.

2. táblázat. A máj foszfolipidzsírsav-összetétele ($n = 6$ /csoport, átlag $\pm$ szórás)

Zsírsav	Kontroll	FB1	FB1+ZR
C14:0	0,19 $\pm$ 0,02 ^b	0,23 $\pm$ 0,05 ^{ab}	0,28 $\pm$ 0,05 ^a
C16:0	20,0 $\pm$ 3,44	20,1 $\pm$ 1,06	19,5 $\pm$ 1,41
C16:1n7	0,64 $\pm$ 0,14	0,82 $\pm$ 0,35	0,94 $\pm$ 0,44
C18:0	25,3 $\pm$ 4,82 ^a	20,4 $\pm$ 1,51 ^b	19,8 $\pm$ 1,23 ^b
C18:1n9	2,57 $\pm$ 0,24 ^b	4,97 $\pm$ 1,22 ^a	5,52 $\pm$ 1,22 ^a
C18:1n7	2,82 $\pm$ 0,42	2,88 $\pm$ 0,74	3,42 $\pm$ 0,58
C18:2n6	12,4 $\pm$ 1,89	13,0 $\pm$ 2,47	12,4 $\pm$ 2,33
C18:3n6	0,13 $\pm$ 0,03 ^b	0,2 $\pm$ 0,11 ^{ab}	0,26 $\pm$ 0,09 ^a
C18:3n3	0,10 $\pm$ 0,03	0,12 $\pm$ 0,06	0,10 $\pm$ 0,04
C20:0	0,06 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,02	0,07 $\pm$ 0,03
C20:1n9	0,10 $\pm$ 0,03	0,13 $\pm$ 0,05	0,13 $\pm$ 0,05
C20:2n6	0,39 $\pm$ 0,10	0,42 $\pm$ 0,14	0,46 $\pm$ 0,17
C20:3n6	0,86 $\pm$ 0,09	0,64 $\pm$ 0,25	0,61 $\pm$ 0,14
C20:4n6	28,2 $\pm$ 2,85	26,5 $\pm$ 1,43	26,7 $\pm$ 1,19
C20:3n3	0,02 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,03
C20:5n3	0,29 $\pm$ 0,08 ^a	0,12 $\pm$ 0,03 ^b	0,15 $\pm$ 0,03 ^b
C22:4n6	0,42 $\pm$ 0,05 ^b	0,67 $\pm$ 0,17 ^a	0,71 $\pm$ 0,12 ^a
C22:5n6	0,28 $\pm$ 0,10	0,52 $\pm$ 0,41	0,60 $\pm$ 0,34
C22:5n3	0,93 $\pm$ 0,25	1,17 $\pm$ 0,38	1,12 $\pm$ 0,20
C22:6n3	4,14 $\pm$ 0,79 ^b	6,97 $\pm$ 0,81 ^a	7,16 $\pm$ 0,59 ^a
SFA	45,6 $\pm$ 4,23 ^a	40,8 $\pm$ 1,83 ^b	39,7 $\pm$ 1,59 ^b
MUFA	6,13 $\pm$ 0,59 ^b	8,80 $\pm$ 2,22 ^a	10,0 $\pm$ 2,17 ^a
PUFA	48,2 $\pm$ 3,71	50,4 $\pm$ 1,13	50,3 $\pm$ 1,92
n6	42,8 $\pm$ 3,41	42,0 $\pm$ 1,51	41,7 $\pm$ 1,92
n3	5,49 $\pm$ 1,01 ^c	8,39 $\pm$ 0,90 ^a	8,54 $\pm$ 0,63 ^a
n6:n3	8,00 $\pm$ 1,55 ^a	5,07 $\pm$ 0,75 ^c	4,91 $\pm$ 0,49 ^c
UI	182,1 $\pm$ 13,6 ^b	198,2 $\pm$ 6,11 ^a	200,6 $\pm$ 4,54 ^a
ACL	18,4 $\pm$ 0,12	18,5 $\pm$ 0,06	18,5 $\pm$ 0,06

ACL, átlagos lánc hossz; FB1, fumonizin B1; MUFA, egyszeres telítetlenség; ZR, zöld rooibos; n3, omega-3 zsírsavak; n6, omega-6 zsírsavak; PUFA, többszörösen telítetlen; SFA, telített zsírsavak; UI, telítetlenségi index. A különböző felső indexek a kezelések közötti szignifikáns különbségre utalnak ($p < 0.05$)



3. ábra. A főkomponens-analízis score (a) és loading (b) grafikonjai, az összes egyedi zsírsavra épülő elemzésre építve (a kontroll elkülönülése (1) a toxinos csoportoktól (2 = FB1, 3 = FB1 + ZR) látható a PC1 mentén). A PC1 és PC2 a májmembránzsírsavak teljes varianciájának 57%-át, illetve 21%-át magyarázza.

A loading grafikon alapján a főbb zsírsavak, amelyek jelentősen hozzájárultak a csoportok közötti varianciához, a C18:0, C18:1n9, C22:6n3 és C20:4n6.

A májsejtmembrán-lipidek FB1 általi módosulását számos tanulmányban dokumentálták, amit főként a ceramidszintáz, és következésképpen a teljes szfingolipid-anyagcsereútvonal megzavarásának tulajdonítottak (Ali és Szabó, 2024). Jelen vizsgálatban az FB1 változásokat idézett elő a patkánymájsejt membránlipidjeinek zsírsavösszetételében, elsősorban a lipid metabolizmusenzimeinek aktivitásgátlása által, és valószínűleg nem a fokozott lipidperoxidáció által. Ali et al. (2021, 2022) sertések máján végzett vizsgálatait is dokumentálták a membránlipid-módosulásokat, jelentősebb lipidperoxidáció nélkül. Jelen tanulmányunk megerősíti ezt, mivel a C18:0 / C18:1n9 jelentős csökkenése az FB1-kezelt csoportokban közvetetten a sztearoil-CoA-deszaturáz (D9D) magas aktivitását jelzi; ennek megfelelően a MUFA-szint kompenzálta a csökkent SFA-jelenlétet. Ezenkívül az FB1-expozíció dóziszfüggő növekedést okozott a patkány- és sertésmáj PC-frakciójának olajsav- és MUFA-szintjében (Ali et al., 2022; Szabó et al., 2019). A PC-frakció jelentősen hozzájárul a teljes membrán zsírsavösszetételéhez, az eukarióta sejtekben az összes foszfolipid mintegy 50%-át teszi ki (Ali és Szabó, 2023). A többszörösen telítetlen zsírsavak esetében Szabó et al. (2019) a jelenlegihez hasonló eredményekről (arálynövekedésről) számoltak be patkánymáj különböző foszfolipid-frakcióiban, például foszfatidil-kolinban (PC), foszfatidil-etanolaminban és foszfatidilinozitolban, alacsonyabb (20 mg/kg) és magasabb (100 mg/kg) FB1-dózisoknak való kitettség esetén 10 napon át.

Mind a DHA, mind az n3 zsírsavak általában ismertek a gyulladásos biokémiai folyamatokban való részvételükről, különösen gyulladáscsökkentő és proliferációs jelek indukálásával kapcsolatosan (Riedel et al., 2024). Az arachidonsavról azonban ismert, hogy gyulladásos intermedierek előanyaga, melyek a sejtmembránokból az A2 típusú fosfolipázzal történő arachidonsav-felszabadulás után alakulnak ki, ami eikozanoidok szintézisét alapozza meg (Ali és Szabó, 2023). Összehasonlítva a Szabó et al. (2019) által 5 napos expozíciót követően publikált eredményeivel, jelen vizsgálatunk ellentétes eredményt (arányemelkedést) mutatott az arachidonsav esetében az FB1-nek kitett csoportokban. Mindazonáltal Gelderblom et al. (2002), viszonylag hosszabb expozíciós időszakkal (21 nap), mint Szabó et al. (2019), az arachidonsav arányának emelkedéséről számolt be patkánymáj mikroszomális PC-frakciójában 20 és 50 mg FB1/kg takarmánynak való expozíció esetén. A zöldrooibos-kivonattal történő kiegészítés azonban nem volt hatékony az FB1 májsejtmembrán-zsírsavakra gyakorolt hatásainak enyhítésére, ami számos tényezőnek tulajdonítható, mint például a rooibos esetlegesen alacsony dózisa vagy a kiegészítés időtartama.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Eredményeink rávilágítanak arra, hogy a zöld rooibos funkcionális élelmiszerösszetevőként képes enyhíteni a mikotoxinok, például az FB1 által kiváltott oxidatív stresszt patkányokban. A rooibosnak azonban elhanyagolható hatása volt a májsejtmembrán zsírsavösszetételének FB1 okozta „torzulásával” szemben. További kutatásokra van szükség ahhoz, hogy tisztázzuk azokat a mechanizmusokat, amelyekkel a rooibos modulálja az oxidatív stresszt kiegészítő útvonalakat és annak downstream szakaszait az alkalmazott állatmodellben. A különböző kísérleti modellek alkalmazása (például az expozíció előtti és alatti kezelési protokollokat alkalmazó további vizsgálatok) értékes betekintést nyújthat a rooibos mint protektív kezelés optimális időzítésébe a maximális védőhatás érdekében.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kutatást a Nemzeti Laboratórium projekt (RRF-2.3.1-21-2022-00007), az MTA Kiemelt Vendégkutatói Ösztöndíja 2003 (VK-10/2023) és a HUN-REN Mikotoxinok az Élelmiszerláncban kutatócsoport (13003) támogatta.

IRODALOMJEGYZÉK

- Abdul, N. S., & Marnewick, J. L. (2023): Fumonisin B1 disrupts mitochondrial function in oxidatively poised HepG2 liver cells by disrupting oxidative phosphorylation complexes and potential participation of lincRNA-p21. *Toxicon*, 225, 107057. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2023.107057>
- Ali, O., Mézes, M., Balogh, K., Kovács, M., & Szabó, A. (2021): The Effects of Mixed Fusarium Mycotoxins at EU-Permitted Feed Levels on Weaned Piglets' Tissue Lipids. *Toxins*, 13(7), 444. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13070444>
- Ali, O., Mézes, M., Balogh, K., Kovács, M., Turbók, J., & Szabó, A. (2022): Fumonisin B Series Mycotoxins' Dose Dependent Effects on the Porcine Hepatic and Pulmonary Phospholipidome. *Toxins*, 14(11), 803. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins14110803>

- Ali, O., & Szabó, A. (2023): Review of Eukaryote Cellular Membrane Lipid Composition, with Special Attention to the Fatty Acids. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(21), 15693. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms242115693>
- Ali, O., & Szabó, A. (2024): Fumonisin distorts the cellular membrane lipid profile: A mechanistic insight. *Toxicology*, 506, 153860. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2024.153860>
- Arumugam, T., Pillay, Y., Ghazi, T., Nagiah, S., Abdul, N. S., & Chuturgoon, A. A. (2019): Fumonisin B1-induced oxidative stress triggers Nrf2-mediated antioxidant response in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells. *Mycotoxin Research*, 35(1), 99–109. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12550-018-0335-0>
- Arumugam, T., Ghazi, T., & Chuturgoon, A. A. (2021): Molecular and epigenetic modes of Fumonisin B 1 mediated toxicity and carcinogenesis and detoxification strategies. *Critical Reviews in Toxicology*, 51(1), 76–94. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408444.2021.1881040>
- Botsoglou, N. A., Fletouris, D. J., Papageorgiou, G. E., Vassilopoulos, V. N., Mantis, A. J., & Trakatellis, A. G. (1994): Rapid, Sensitive, and Specific Thiobarbituric Acid Method for Measuring Lipid Peroxidation in Animal Tissue, Food, and Feedstuff Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42(9), 1931–1937. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf00045a019>
- Chen, J., Wei, Z., Wang, Y., Long, M., Wu, W., & Kuca, K. (2021): Fumonisin B1: Mechanisms of toxicity and biological detoxification progress in animals. *Food and Chemical Toxicology*, 149, 111977. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.111977>
- Christie, W. W. (1982): A simple procedure for rapid transmethylation of glycerolipids and cholesteryl esters. *Journal of Lipid Research*, 23(7), 1072–1075. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0022-2275\(20\)38081-0](https://doi.org/10.1016/S0022-2275(20)38081-0)
- Domijan, A. M., & Abramov, A. Y. (2011): Fumonisin B1 inhibits mitochondrial respiration and deregulates calcium homeostasis – Implication to mechanism of cell toxicity. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 43(6), 897–904. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2011.03.003>
- El-Adawi, H., El-Azhary, D., Abdel-Mohsen, M., Abd El-Wahab, A., & El-Shafeey, M. (2009): Protective effect of milk thistle and grape seed extracts on fumonisin B1 induced hepatotoxicity in rats. *Planta Medica*, 75(09). DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0029-1234857>
- El-Sayed, R. A., Jebur, A. B., Kang, W., & El-Demerdash, F. M. (2022): An overview on the major mycotoxins in food products: characteristics, toxicity, and analysis. *Journal of Future Foods*, 2(2), 91–102. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfutfo.2022.03.002>
- Ezdini, K., Ben Salah-Abbès, J., Belgacem, H., Mannai, M., & Abbès, S. (2020): *Lactobacillus paracasei* alleviates genotoxicity, oxidative stress status and histopathological damage induced by Fumonisin B1 in BALB/c mice. *Toxicon*, 185, 46–56. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2020.06.024>
- Folch, J., Lees, M., & Sloane Stanley, G. H. (1957): A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *The Journal of Biological Chemistry*, 226(1), 497–509. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/13428781>
- Gelderblom, W. C. A., Moritz, W., Swanevelder, S., Smuts, C. M., & Abel, S. (2002): Lipids and $\Delta 6$ -desaturase activity alterations in rat liver microsomal membranes induced by fumonisin B1. *Lipids*, 37(9), 869–877. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11745-002-0973-4>

- Hybertson, B. M., Gao, B., Bose, S. K., & McCord, J. M. (2011): Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation. *Molecular Aspects of Medicine*, 32(4–6), 234–246. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mam.2011.10.006>
- Joubert, E., & de Beer, D. (2011): Rooibos (*Aspalathus linearis*) beyond the farm gate: From herbal tea to potential phytopharmaceutical. *South African Journal of Botany*, 77(4), 869–886. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.07.004>
- Leray, C., Andriamampandry, M., Gutbier, G., Cavadenti, J., Klein-Soyer, C., Gachet, C., & Cazenave, J. P. (1997): Quantitative analysis of vitamin E, cholesterol and phospholipid fatty acids in a single aliquot of human platelets and cultured endothelial cells. *Journal of Chromatography B: Biomedical Applications*, 696(1), 33–42. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4347\(97\)00230-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4347(97)00230-2)
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry*, 193(1), 265–275. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(19\)52451-6](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(19)52451-6)
- Marnewick, J. L., van der Westhuizen, F. H., Joubert, E., Swanevelder, S., Swart, P., & Gelderblom, W. C. A. (2009): Chemoprotective properties of rooibos (*Aspalathus linearis*), honeybush (*Cyclopia intermedia*) herbal and green and black (*Camellia sinensis*) teas against cancer promotion induced by fumonisin B1 in rat liver. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 220–229. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.004>
- Matkovics, B., Szabó, L., & Varga, S. (1998): Determination of lipid peroxidation and reduced glutathione metabolism enzymes activities in biological samples. *Laboratóriumi Diagnosztika*, 15, 248–250.
- Merrill, A. H., Sullards, M. C., Wang, E., Voss, K. A., & Riley, R. T. (2001): Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environmental Health Perspectives*, 109(suppl2), 283–289. DOI: <https://doi.org/10.1289/ehp.01109s2283>
- Riedel, S., Abel, S., Burger, H.-M., Swanevelder, S., & Gelderblom, W. C. A. (2024): Fumonisin B1 protects against long-chained polyunsaturated fatty acid-induced cell death in HepG2 cells – implications for cancer promotion. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Biomembranes*, 1866(5), 184310. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2024.184310>
- Sedlak, J., & Lindsay, R. H. (1968): Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25, 192–205. DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(68\)90092-4](https://doi.org/10.1016/0003-2697(68)90092-4)
- Szabó, A., Szabó-Fodor, J., Fébel, H., Mézes, M., Repa, I., & Kovács, M. (2016): Acute hepatic effects of low-dose fumonisin B 1 in rats. *Acta Veterinaria Hungarica*, 64(4), 436–448. DOI: <https://doi.org/10.1556/004.2016.041>
- Szabó, A., Szabó-Fodor, J., Kachlek, M., Mézes, M., Balogh, K., Glávits, R., Ali, O., Zeebone, Y., & Kovács, M. (2018): Dose and Exposure Time-Dependent Renal and Hepatic Effects of Intraperitoneally Administered Fumonisin B1 in Rats. *Toxins*, 10(11), 465. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins10110465>
- Szabó, A., Fébel, H., Ali, O., Mézes, M., Balogh, K., & Kovács, M. (2019): Fumonisin B1 induced compositional modifications of the renal and hepatic membrane lipids in rats – dose and exposure time dependence. *Food Additives & Contaminants: Part B*, (under rev(0), 1–18. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1652772>
- Szabó, A., Nagy, S., Ali, O., Gerencsér, Z., Mézes, M., Balogh, K. M., Bartók, T., Horváth, L., Mouhanna, A., & Kovács, M. (2021): A 65-Day Fumonisin B Exposure at High Dietary Levels Has Negligible Effects on the Testicular and Spermatological Parameters of

Adult Rabbit Bucks. *Toxins*, 13(4), 237. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins13040237>

Wang, X., Wu, Q., Wan, D., Liu, Q., Chen, D., Liu, Z., Martínez-Larrañaga, M. R., Martínez, M. A., Anadón, A., & Yuan, Z. (2016): Fumonisin: oxidative stress-mediated toxicity and metabolism in vivo and in vitro. *Archives of Toxicology*, 90(1), 81–101. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1604-8>



ADAPTIVE FORAGE STRATEGY IN CENTRAL EUROPE

Szilvia Orosz¹, Krisztián Milán Balogh²

¹Livestock Performance Testing Ltd., H-2100 Gödöllő, Dózsa György utca 58., Hungary

²Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Physiology and Nutrition, Department of Feed Safety, H-2100 Gödöllő, Páter Károly utca 1., Hungary

ABSTRACT

*Climate change has become even more pronounced in dry continental Central Europe. Intense, high-sugar grasses (*Lolium multiflorum*, *Festulolium*-type grass hybrids) and whole-crop winter cereals such as rye (*Secale cereale*) cut in early spring minimise weather risk. Early spring harvesting allows double cropping having many environmental benefits for dairy farms. This offers a promising opportunity to mitigate climate change risks and minimise maize yield losses. Early cut whole-crop cereals and intensive grasses can therefore be part of a new forage strategy. The use of novel crop rotation systems such as maize and whole-crop rye, maize or brown midrib (BMR) sorghum and intensive grasses has proven to be very effective in the reduction of climate change-induced yield losses in arid continental areas. Hungary has been developing this strategy since 2008. Now, a 10-year Near Infrared (NIR) database is available on the fundamental forages of the new climate change strategy. The authors aimed to describe the nutritional value of the early cut whole crop rye (*Secale cereale*) and intensive high sugar grass (*Lolium multiflorum*, *Festulolium*-type grass hybrids) silages based on 10-years NIR-database (dry matter, crude protein, soluble protein, crude ash, sugar, fiber fractions, nitrate, organic matter digestibility, NDF-digestibility).*

ÖSSZEFOGLALÁS

*A száraz kontinentális Közép-Európában az éghajlatváltozás egyre hangsúlyosabbá válik. Az intenzív, szántóföldi termesztésű fűfélék (*Lolium multiflorum*, *Festulolium* típusú fűhibridek) és a kora tavasszal betakarított gabonafélék, például a rozs (*Secale cereale*) minimalizálják az időjárás okozta kockázatot. A kora tavaszi betakarítás lehetővé teszi a kettős termesztést, mely számos környezeti előnnyel jár a tejtermelő gazdaságok számára. Ez ígéretes lehetőséget kínál az éghajlatváltozás kockázatainak mérséklésére és a kukorica termésvesztésének minimalizálására is. Az újszerű vetésforgórendszerek, mint például a silókukorica és a korai betakarítású rozs, a silókukorica vagy a BMR-cirok és az intenzív fűfélék használata igen hatékonyan bizonyult az éghajlatváltozás okozta termésvesztések csökkentésében a száraz kontinentális területeken. Magyarország 2008 óta fejleszti ezt a stratégiát. Mostanra egy 10 éves NIR-adatbázis áll rendelkezésre az új stratégia alapvető tömegtakarmány-növényeiről. A szerzők célja a korán betakarított rozsból és intenzív termesztésű fűfélékből készült szilázsok tápláléértékének leírása volt a 10 éves NIR-adatbázis alapján (szárazanyag, nyersfehérje, oldható fehérje, nyershamu, cukor, rostfrakciók, nitrát, szervesanyag-emészthetőség, NDF-emészthetőség).*

INTRODUCTION

In dry continental Central Europe, climate change has become more pronounced: heat stress, drought and their combinations are more frequent during the summers. Therefore corn production is expected to be difficult due to the variable yields and quality in many European countries (Orosz and Balogh, 2013). Moreover, these extremely dry and hot weather conditions increase the incidence of *Aspergillus* spp. infections and aflatoxin contamination in corn. A new forage strategy could solve partially this problem. Intensive high-sugar grasses (*Lolium multiflorum*, Festulolium type grass hybrids) and whole-crop winter cereals such as rye (*Secale cereale*) and triticale (x *Triticosecale*), or blends of these forages cut in early spring are minimizing the weather risk and increasing the stability of the forage bank with +5–15 ton DM/ha yields for first cut (Orosz et al, 2014, 2018, 2019; Alemayehu et al, 2020; Auerbach and Theobald, 2020). The intensive grass term is based on the fact that these grasses are grown on arable (good conditions), usually as 1-year-old winter forages and rotated after the 1st or 2nd mowing. Early spring harvesting allows double cropping. Dual-crop combinations such as winter whole crop rye and corn, winter whole crop triticale and corn, high sugar grass and BMR sorghum, can increase on-farm forage production and provide a range of environmental benefits to dairy farms (Ketterings et al, 2015; Ranck et al, 2019). Winter cover crops prevent soil erosion, deflation and nitrogen leakage from September to April (8 months) and give good weed suppression. Whole-crop cereals are recommended to be harvested in the boot stage due to their high fibre digestibility and nutritive value for high-milking dairy cows in intensive systems (Orosz et al, 2014, 2018, 2019; Alemayehu et al, 2020). Better digestibility of neutral detergent fibre has a beneficial effect on dry matter intake in dairy cows (Oba and Allen, 1999).

MATERIAL AND METHODS

Routine laboratory samples derived from large-scale farms in Hungary (early cut whole crop rye silage n = 1379; intensive grass silage n = 910) between 2013–2022. Results based on routine laboratory NIR analyses (Livestock Performance Testing Ltd, Hungary). Dry matter yield, crude nutrient content, fibre fractions (amylase treated NDF on organic matter basis – aNDFom, acid detergent fibre – ADF, acid detergent lignin –ADL), organic matter digestibility detected during 48 hours incubation time in vitro (OMd₄₈), amylase treated and ash corrected NDF rumen degradability with 48 hours incubation time in vitro (NDFd₄₈) are given based on the spectra determined by Q-Interline Quant FT-NIR analyser. Samples were dried at 70 °C and ground according to the Guidelines of Samplinq® system (Eurofines Agro, Wageningen, The Netherlands). The EG guideline L54 2009/152 was applied for the determination of moisture content (dry matter determination). Spectra were determined according to the guidelines of NEN-EN-ISO 12099 (Q-Interline Quant FT-NIR analyser, ISO 12099:2010 guidelines for the application of near-infrared spectrometry). Data (Table 1–4) are expressed as mean ± standard deviation (SD). GraphPad InStat 3.05 software (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) was used for the statistical evaluation. Data were analyzed by one-way ANOVA and Tukey-Kramer multiple comparison post hoc test (p < 0.05).

RESULTS AND DISCUSSION

The variability in nutrient content and digestibility of early-cut whole-crop rye silage is shown in Table 1–2. Data reported are for 2013–2022, based on NIR analysis of 1379 farm samples. The dry matter content averaged 291 g/kg (range of averages over 10 years: 269–320 g/kg DM), combined with an ash content of 106 g/kg (92–119 g/kg). The ideal ash content would be a maximum of 80 g/kg. The measured dry matter and ash content increase the risk for harmful Clostridial fermentation and protein breakdown. Crude protein content averaged 137 g/kg DM (range of averages over 10 years: 130–145 g/kg DM). This is an extreme weakness of our technology, we should achieve an average of at least 150 g/kg DM in the future. It is mainly related to soil quality, forecrops, quantity and distribution of N-fertilisation. Nitrate content averaged 3.5 g/kg DM (range of averages over the 10 years: 2.4–5.6 g/kg DM.) Recommended nitrate content in forages: max. 3 g/kg DM; nitrate in total mix ratio(TMR) max. 5 g/kg DM). The challenge is therefore to achieve both higher protein and lower nitrate content.

Table 1 Nutrient content of early-cut whole-crop rye silage harvested in the period 2013–2022 based on g per 1000 g dry matter (NIR database, n = 1379)

Year of harvest	Sample number	Dry matter	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Ash	Total sugar	Nitrate	Soluble protein
2013	70	294 ^{abc}	132 ^{abc}	32 ^a	327 ^f	104 ^{abc}	19 ^a	5.6 ^d	103 ^{ab}
2014	144	271 ^a	132 ^{ab}	34 ^a	313 ^e	98 ^{ab}	37 ^b	3.4 ^b	105 ^{ab}
2015	166	313 ^c	132 ^{ab}	32 ^a	300 ^d	99 ^{ab}	52 ^c	3.2 ^b	104 ^a
2016	141	288 ^{ad}	140 ^{abc}	36 ^c	289 ^{bc}	113 ^{cd}	33 ^b	2.7 ^{ab}	110 ^{abc}
2017	137	297 ^{bc}	139 ^{abc}	36 ^c	275 ^b	119 ^d	40 ^b	3.9 ^c	114 ^b
2018	137	300 ^{be}	140 ^{abc}	35 ^{be}	303 ^d	119 ^d	28 ^{ab}	4.2 ^c	113 ^{abc}
2019	126	288 ^{ab}	144 ^{bc}	35 ^{be}	280 ^b	114 ^{cd}	33 ^{ab}	4.6 ^c	119 ^c
2020	132	320 ^c	145 ^c	36 ^c	250 ^a	94 ^a	56 ^c	3.4 ^b	118 ^c
2021	151	276 ^{ab}	133 ^{ab}	35 ^{be}	280 ^d	92 ^a	37 ^b	2.6 ^{ab}	112 ^{abc}
2022	175	269 ^{ab}	130 ^a	34 ^a	302 ^d	107 ^b	30 ^{ab}	2.4 ^a	111 ^{abc}
2013-2022	1379	291 ^b	137 ^{abc}	35 ^b	291 ^c	106 ^a	39 ^b	3.5 ^c	111 ^{bc}

a,b The different letter signs in the columns indicate significant differences in the mean values ($p < 0.05$)

Table 2 Fiber fractions, organic matter and fiber digestibility, net energy content of early-cut whole-crop rye silage harvested in the period 2013–2022 based on 1000 g dry matter (NIR database, n = 1379)

Year of harvest	Sample number	aNDFom ¹	ADF ²	ADL ³	NDFd ₄₈ ⁴	dNDF ₄₈ ⁵	OMd ₄₈ ⁶	NEI ⁷
		g	g	g	%NDF	g	%	MJ
2013	70	607 ^f	363 ^d	32 ^d	63 ^{ab}	380 ^e	69.2 ^a	5.43 ^a
2014	144	578 ^e	349 ^d	29 ^c	66 ^{bc}	376 ^e	71.7 ^b	5.57 ^{ab}
2015	166	560 ^{de}	329 ^c	25 ^b	66 ^c	368 ^{de}	72.2 ^c	5.66 ^b
2016	141	535 ^{bc}	317 ^{bc}	25 ^b	68 ^c	357 ^c	71.9 ^{bc}	5.70 ^b
2017	137	516 ^{bc}	304 ^b	26 ^b	67 ^c	340 ^b	72.1 ^{bc}	5.64 ^b
2018	137	554 ^d	334 ^c	29 ^c	66 ^{bc}	362 ^{cd}	70.2 ^{ab}	5.53 ^{ab}
2019	126	529 ^{bc}	305 ^b	27 ^c	66 ^{bc}	344 ^b	71.0 ^{ab}	5.65 ^b
2020	132	488 ^a	268 ^a	21 ^a	67 ^c	324 ^a	73.4 ^c	5.93 ^d
2021	151	532 ^{bc}	307 ^b	24 ^b	65 ^{bc}	342 ^b	72.1 ^{bc}	5.82 ^c
2022	175	562 ^{de}	331 ^c	26 ^b	62 ^a	347 ^{bc}	70.6 ^{ab}	5.57 ^{ab}
2013–2022	1379	544 ^c	319 ^c	26 ^b	66 ^{bc}	353 ^c	71.6 ^b	5.66 ^b

¹aNDFom - amylase treated and ash corrected NDF; ² ADF – acid detergent fibre; ³ADL – acid detergent lignin; ⁴NDF₄₈ – degradability of NDF (48 hours *in vitro* incubation); ⁵dNDF₄₈ - rumen degradable (amylase treated and ash corrected) NDF (48 hours *in vitro* incubation); ⁶OMd₄₈ - organic matter digestibility (48 hours *in vitro* incubation); ⁷ Nel – Net energy for lactation; ^{abc} Means in the same column with different letters differ statistically (p < 0.05)

The low ADL content, the main advantage of the early whole-crop rye silage, averaged 26 g/kg (range of averages over 10 years: 21–32 g/kg DM). The low lignin (ADL) content resulted in an average NDFd₄₈ value of 66% (range of averages over 10 years: 62–68% NDFd₄₈). But there is still room for improvement. The dNDF₄₈ content averaged 353 g/kg (range of averages over 10 years: 324–380 g/kg DM). This is one of the most important parameters for high-milking dairy cows, especially during the summer (fermentable organic matter source in the rumen and main substrate for milk fat synthesis). The digestible fibre content of early-cut whole-crop rye silages is higher by 60% compared to the corn silage (2020 corn silage: 218 g/kg DM dNDF₄₈, n = 411).

Nutrient content and digestibility of early-cut intensive grass silages (*Lolium multiflorum*, *Festulolium*-type grass hybrids) are shown in Table 3 and Table 4. Data reported are for the period 2013–2022, based on NIR analysis of 910 farm samples.

Table 3 Nutrient content of early-cut intensive grass silage harvested in the period 2013–2022, based on g per 1000 g dry matter (NIR database, n = 910)

Year of harvest	Sample number	Dry matter	Crude protein	Crude fat	Crude fiber	Ash	Total sugar	Nitrate	Soluble protein
2013	74	344 ^{ab}	145	34 ^{ab}	290 ^d	117 ^{ab}	47 ^{ab}	4.9 ^{ab}	106
2014	100	322 ^{ab}	142	35 ^{bc}	277 ^{cd}	113 ^{ab}	57 ^{bc}	4.1 ^{ab}	90
2015	70	346 ^{ab}	132	33 ^{ab}	267 ^{bc}	112 ^{ab}	77 ^d	3.9 ^{ab}	89
2016	82	336 ^{ab}	144	34 ^{ab}	260 ^{ab}	116 ^{ab}	64 ^{bc}	4.4 ^{ab}	94
2017	54	358 ^{ab}	136	32 ^a	269 ^{bc}	117 ^{ab}	73 ^{cd}	4.5 ^{ab}	90
2018	102	358 ^b	147	36 ^{bc}	281 ^{cd}	124 ^b	46 ^{ab}	5.1 ^b	95
2019	91	314 ^a	143	34 ^{ab}	280 ^{cd}	124 ^b	38 ^a	4.8 ^{ab}	93
2020	112	355 ^b	148	34 ^{ab}	262 ^{ab}	109 ^a	72 ^{cd}	4.0 ^{ab}	97
2021	113	349 ^{ab}	146	35 ^{bc}	252 ^a	118 ^{ab}	62 ^{bc}	3.5 ^a	97
2022	112	323 ^{ab}	144	37 ^c	270 ^{bc}	113 ^{ab}	52 ^{abc}	4.1 ^{ab}	96
2013-2022	910	340 ^{ab}	143	34 ^b	271 ^{bc}	116 ^{ab}	59 ^{bc}	4.3 ^{ab}	95

a,b The different letter signs in the columns indicate significant differences in the mean values ($p < 0.05$)

The average dry matter content of the intensive grass silages was 340 g/kg (range of average values: 314–358 g/kg). This average value is optimal from the fermentation point of view. The crude protein content of intensive grass silages was 143 g/kg DM between 2013 and 2022 (average values range from 132 to 148 g/kg DM). However, we cannot be satisfied with the 10-year average value measured, because Italian ryegrass and *Festulolium* can achieve much higher values. Since *Italian ryegrass* and *Festulolium* are often cut at the same time as alfalfa, the dominance of alfalfa may cause late mowing of intensive grasses and consequently low protein content. The aNDFom content (Table 4) averaged 499 g/kg DM (range of averages: 479–525 g/kg DM). The average value of ADF was 302 g/kg DM (range: 281–325 g/kg DM). The lignin content is critical because it determines the digestibility of the cell wall and also the digestibility of the nutrients inside the cell (cell wall effect). The average ADL content was 25 g/kg DM (range of average values: 23–31 g/kg DM).

Table 4 Fiber fractions, organic matter digestibility, net energy content and relative forage quality (RFQ) of early-cut intensive grass silage harvested in the period 2013–2022 based on 1000 g dry matter (NIR database, n = 910)

Year of harvest	Sample number	aNDFom ¹	ADF	ADL	NDFd ₄₈ ²	dNDF ₄₈ ³	OMd ₄₈ ⁴	RFQ ⁵	NEI
		g	g	g	%NDF	g	%	-	MJ
2013	74	525 ^c	325 ^d	31 ^c	63 ^a	327 ^{ab}	71 ^a	169 ^b	5.88 ^a
2014	100	508 ^{bc}	311 ^{cd}	27 ^b	65 ^{ab}	327 ^{ab}	73 ^{ab}	157 ^{ab}	6.19 ^b
2015	70	494 ^{ab}	294 ^{ab}	24 ^{ab}	65 ^{abc}	317 ^{ab}	73 ^b	163 ^{abcd}	6.17 ^b
2016	82	479 ^a	290 ^{ab}	23 ^{ab}	68 ^{bc}	321 ^{ab}	75 ^{bc}	175 ^{cd}	6.21 ^b
2017	54	491 ^{ab}	301 ^{bc}	27 ^b	63 ^a	311 ^a	73 ^{ab}	157 ^{abc}	6.17 ^b
2018	102	509 ^{bc}	315 ^{cd}	26 ^b	65 ^{abc}	331 ^b	73 ^b	156 ^{ab}	6.14 ^b
2019	91	514 ^{bc}	316 ^{cd}	27 ^b	64 ^a	325 ^{ab}	72 ^{ab}	151 ^a	6.19 ^b
2020	112	489 ^{ab}	290 ^{ab}	25 ^b	66 ^{abc}	317 ^{ab}	74 ^b	169 ^b	6.40 ^c
2021	113	474 ^a	281 ^a	22 ^a	68 ^c	319 ^{ab}	76 ^c	173 ^d	6.53 ^c
2022	112	504 ^{bc}	298 ^b	24 ^{ab}	65 ^{ab}	323 ^{ab}	74 ^{bc}	159 ^{abc}	6.32 ^b
2013-2022	910	499 ^b	302 ^{cd}	25 ^b	65 ^{ab}	322 ^{ab}	73 ^b	163 ^{abc}	6.22 ^b

¹aNDFom₄₈ = amylase treated and ash corrected NDF rumen degradability (48 hours *in vitro* incubation);

²NDFd₄₈ - rumen degradable (amylase treated and ash corrected) NDF (48 hours *in vitro* incubation);

³dNDF₄₈ - rumen degradable (amylase treated and ash corrected) NDF (48 hours *in vitro* incubation);

⁴OMd₄₈ - organic matter digestibility (48 hours *in vitro* incubation); ⁵ relative forage quality; ^{abc} Means in the same column with different letters differ statistically ($p < 0.05$)

The measured data indicate that ADL content is extremely low in intensive grass silages so the negative effect on fiber and organic matter digestibility is minimal. It can be seen that between 2013 and 2022, the 48-hour fiber digestibility (NDFd₄₈) was 65% (Table 5). The target value for NDFd₄₈ is above 70%. So, it is a challenge for the future.

Digestible fiber (dNDF₄₈) averaged 322 g/kg DM, which is twice the value of alfalfa silages (2013–2022 alfalfa silage: 166 g/kg DM dNDF₄₈, n = 3043, unpublished). The digestible fiber content of intensive grass silages is similar to the digestible fiber content of rye silage cut in the boot stage. Therefore, intensive grass silages are potentially excellent sources of digestible fiber in the dairy cow diet, especially during the summer.

CONCLUSIONS

The advantage of winter cereals grown from autumn to early spring is that they can be grown during periods of increased rainfall while avoiding the adverse effects of heat stress and drought. This offers a promising opportunity to mitigate climate change risks and minimise corn yield losses. Additionally, early-cut whole-crop rye silage and intensive grass silage with high fibre digestibility and digestible fibre content can maintain the dry matter intake of dairy cows, especially during the summer ("heat stress forages").

REFERENCES

- Alemayehu, W., Tóthi, R., Orosz, Sz., Fébel, H., Tossenberger, J., Húth, B., & Tóth, T. (2020): Nutritive value of ensiled Italian ryegrass and winter cereal mixture. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*. 23, DOI: <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.7-14>
- Auerbach, H., & Theobald, P. (2020): Additive type affects fermentation, aerobic stability and mycotoxin formation during air exposure of early-cut rye (*Secale cereale* L.) silage. *Agronomy*, 10, 1432. DOI: <https://doi.org/10.3390/agronomy10091432>
- Ketterings, Q., Ort, S., Swink, S., Godwin, G., Kilcer, T., & Miller, J. (2015): Winter cereals as double crops in corn rotations on New York Dairy Farms. *Journal of Agriculture Science*, 7, 18–25. DOI: <https://doi.org/10.5539/jas.v7n2p18>
- Oba, M., & Allen, M. S. (1999): Evaluation of the importance of the digestibility of neutral detergent fiber from forage: effects on dry matter intake and milk yield of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 589–596. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75271-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75271-9)
- Orosz, Sz., Horváthné Kovács, B., & Hoffmann, R. (2014): Effect of 7-14 days delay in cut on yield and nutritive value of whole crop rye during the April-May harvest period. In: *Proceedings of the XVIth International Conference of Forage Conservation*, Czech Republic, Brno, June 3–6. (pp. 153–154).
- Orosz, Sz., Kruppa, J., Kruppa Junior, J., Szemethy, D., Piskerné Fülöp, E., Futó, Z., & Hoffmann, R. (2018): Harvest window: comparison of whole crop rye and whole crop triticale in an early cut system. In: *Proceedings of the XVIIIth International Silage Conference*, Bonn, Germany, 24–26 July 2018. (pp. 516–517).
- Orosz, Sz. (2019): Comparison of NDF degradability and degradation rate of different silages in Hungary (2013-2018). The 'heat stress diet' aspect. In: *Proceedings of the XVIIIth International Conference of Forage Conservation*, Czech Republic, Brno, August 13–16. 2019. (pp. 152–153).
- Orosz, Sz., & Balogh, K. (2023): Corn silage 2012–2022 (Dry Continental Region of Europe). In: *Proceedings of the XIXth International Conference of Forage Conservation*, Czech Republic, Brno, April 25–27. 2023 (pp. 100–101).
- Ranck, E. J., Holden, L. A., Dillon, J. A., Rotz, C. A., Soder, K. J. (2019): Economic and environmental effects of double cropping winter annuals and corn using the Integrated Farm System Model. *Journal of Dairy Science*. 103: 3804–3815. DOI: <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17525>



ŐSZI VETÉSŰ GABONA- ÉS GABONA-PILLANGÓS KEVERÉKSZENÁZSOK TÁPLÁLÓANYAG-TARTALMÁNAK BENDŐBELI LEBONTHATÓSÁGA

Tóthi Róbert¹, Gura J. Tamás¹, Szeli Nóra¹, Hatala Mihály², Héja Endre²,
Vas Zoltán², Szabó Lajos², Áprily Szilvia³

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Gazdasági Állatok Takarmányozása Tanszék, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

²Hódagró Zrt., 6800 Hódmezővásárhely, Csókási pusztá 63.

³Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet, 7400 Kaposvár, Guba S. u. 40.

ÖSSZEFOGLALÁS

A vizsgálat célja az őszi vetésű gabonakeverék (tritikálé + őszi búza + őszi árpa), illetve a gabona-pillangós keverékek a (tritikálé + őszi takarmányborsó + pannon bükköny, tritikálé + pannon bükköny) táplálóanyagainak bendőbeli lebonthatóságának meghatározása volt. A zöld alapanyag biológiai adalékanyag felhasználásával került besilózásra. A betárolástól számítva 331 nap elteltével történt mintavétel kémiai analízise és az in situ vizsgálatok lebonyolítása. Az in situ eljárás során a takarmánymintákat bendőkanüllel ellátott, holstein-fríz tehének bendőjébe inkubáltuk (0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 és 72 óra, 4 ismételés). Az eltérő inkubációs időpontokban kapott lebonthatóság adataiból került kiszámolásra a táplálóanyagok (szárazanyag, nyersfehérje, neutrális detergens rost – NDF, savdetergens rost – ADF) aktuális bendőbeli lebontása, figyelembe véve a takarmányozási szintet, illetve a bendőtartalom kiáramlási sebességét. Eredményeink szerint a vizsgált őszi vetésű gabona-pillangós keverékek és az őszi vetésű gabonafélék keveréke az intenzív termesztésű, őszi vetésű füvekből készült szilázsok/szenázsok táplálóanyag-tartalmi paramétereikhez közel állnak, de lignintartalmuk magasabb. Adalékanyag használata mellett a keverékszenázsok megfelelően erjednek, fehérjetartalmuk bendőbeli lebonthatósága jó, azonban a hosszú ideig történő tárolás (6 hónap felett) csökkenti a rostfrakciók lebonthatóságát. A tritikálé, pannon bükköny és őszi takarmányborsó keverékének (44%) és a tritikálé és pannon bükköny keverékének potenciális NDF-lebonthatósága (53%), meghaladja a csak gabonaféléket tartalmazó keverék értékét (30%), de nem éri el az intenzív fűfélékre vagy a gabona-fűféle-keverékekre jellemző 60–75%-os értéket. A vizsgált keverékek növedékek, de akár a nagy tejtermelésű tehének takarmányadagjában is szerepeltethetők, ám ez utóbbi esetben a keverékeket csak megfelelő körültekintéssel, más rostforrások felhasználásával együtt javasolt etetni.

ABSTRACT

The objective of the study was to determine the ruminal degradability of nutrients in autumn-sown cereal mixtures (triticale + winter wheat + winter barley) and cereal-legume mixtures (triticale + winter pea + Pannon vetch, triticale + Pannon vetch). The wilted forage was ensiled using a biological additive. Sampling for chemical analysis and in situ examinations occurred after 331 days of fermentation. During the in situ trial feed samples were incubated in the rumen of Holstein-Friesian cows previously surgically fitted with rumen cannulas at various time intervals (0, 2, 4, 8, 16, 24, 48, and 72 hours, with four repetitions). The degradability

data obtained at different incubation times were used to calculate the current ruminal degradation of nutrients (dry matter, crude protein, neutral detergent fibre – NDF, acid detergent fibre –ADF), considering the feeding level and the outflow rate of rumen contents. Our results indicate that the examined cereal-legume mixtures and the cereal mixtures are comparable in nutrient content parameters to silages/haylages made from intensively cultivated autumn-sown grasses, although they exhibit higher lignin content. With the use of additives, the mixtures ferment adequately, and their protein degradability in the rumen is favourable; however, prolonged storage (beyond six months) reduces the degradability of the fiber fractions. The potential NDF degradability of the triticale, Pannon vetch, and winter feed pea mixture (44%) and the triticale and Pannon vetch mixture (53%) exceeds that of the mixture containing only cereals (30%), does not reach the 60–75% values characteristic of intensive grasses or cereal-grass mixtures. The examined mixtures could be included in the diets of both growing cattle and high-producing lactating cows; however, in the latter case, it is advisable to administer these mixtures with caution, in conjunction with other sources of fiber.

BEVEZETÉS

Az éghajlatváltozás a közelmúlt tanulmányai szerint olyan tényező, amely egyértelműen befolyásolja a mezőgazdasági termelést az európai régiókban (Hristov és mtsai., 2023; Tóthi és mtsai., 2024). Az időjárási szélsőségek jellegzetes térbeli eloszlást mutatnak hazánkban is, elsősorban a középső, a déli és keleti területeket érintik kedvezőtlenül. A nyári aszályoknak köszönhetően a silókukorica és a lucerna egyeduralma megszűnt, a tömegtakarmány-bázis pedig kiszélesedett. Ismeretes, hogy az őszi gabonafélék jól hasznosítják a téli és a tavaszi csapadékot, valamint támasztónövényt is jelentenek a pillangósok (pl. pannon bükköny, őszi takarmányborsó) számára a különböző összetételű őszi takarmánykeverékekben (Orosz, 2019). Tekintettel arra, hogy a kukoricaszilázs részleges helyettesítésére alkalmas keverékek esetében a táplálóanyagok lebonthatóságát illetően a szakirodalmi adatok viszonylag hiányosak, vizsgálataink célja az volt, hogy a bendőbeli potenciális és a tényleges lebonthatóság becslésére a legszélesebb körben elfogadott és alkalmazott *in situ* módszerrel meghatározzuk néhány, a hazai takarmányozási gyakorlatban is használt keverékszenázs táplálóanyag-tartalmának a lebonthatóságát.

ANYAG ÉS MÓDSZER

Három őszi vetésű keveréket és az erjesztéssel tartósított tömegtakarmányokat a Hódagrá Zrt. állította elő. A keverék tritikálét (50%), őszi búzát (10%) és őszi árpát (40%), B keverék tritikálét (63%), őszi takarmányborsót (28,5%) és pannon bükkönnyt (8,5%), míg a C keverék tritikálét (88%) és pannon bükkönnyt (12%) tartalmazott. A 2022 októberében a Hódmezővásárhelyen elvetett keverékek 2023. május 5. és május 6. között kerültek betakarításra, 10 cm-es tarlómagassággal, BBCH 43–45 fenológiai fázisban. A kaszálást 24 órás fonnyasztás követte, szűk renden, forgatás nélkül. Az A és C keverékek Budissa silótömlőkbe (BAG Budissa Agroservice, Malschwitz, Németország), B keverékek pedig falközi silóba kerültek. Minden keverék esetében a silózás során Josilac Combi biológiai silótartósítót (Josera GmbH & Co., Kleinheubach, Németország, 3 g/tonna friss zöldtömeg) és AdiSil Plus (Bioferm CZ, Brno, Csehország, 500 g/tonna friss zöldtömeg) biológiai adalékanyagot használtunk. A betárolástól számítva 331 nap elteltével a

szenázsokból mintát vettünk kémiai analízisre és az *in sacco* vizsgálatok lebonyolításához. A minták takarmányanalitikai vizsgálatára (szárazanyag, nyershamu, nyersfehérje, nyerszsír, nyersrost, rostfrakciók) a MATE Egyetemi Laborközpontban került sor csakúgy, mint az inkubált takarmányminták kémiai vizsgálatára, amelyek a szárazanyag, a nyersfehérje, az NDF- és az ADF-tartalom megállapítására irányultak.

Az *in sacco* eljárás (Mehrez és Orskov, 1977; Orskov és McDonald, 1979), során 5 g takarmánymintát mértünk be 5 × 10 cm-es méretű, 53 µm lyukbőségű nylonzacskókba (Ankom, USA) és azokat két, bendőkanüllel ellátott holstein-fríz tehén bendőjébe inkubáltuk (állatkísérleti engedélyszám: SO/31/00882-10/2023). Az inkubációs idő 0, 2, 4, 8, 16, 24, 48 és 72 óra volt, az inkubációt 4 ismétlésben végeztük el. A teheneket a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem és a MATE Tangazdaság Nonprofit Kft. között meglévő együttműködési megállapodás (okirat iktatószáma: MATE-k/4322-1/2023) értelmében a MATE Tangazdaság Nonprofit Kft. fészerlaki szarvasmarha telepén tartottuk. A rétiszéna-alapú napi takarmányadagot a tehenek két részletben kapták meg, az ivóvízhez és a nyalósóhoz korlátozás nélkül hozzáférhettek, alomanyagként szalmát használtunk. Kiszámoltuk a tényleges táplálóanyagok (szárazanyag, nyersfehérje, NDF, ADF) mennyiségét, majd az eltérő inkubációs időpontokban kapott lebonthatóság adataiból az Orskov–McDonald-moddal (1979) kalkuláltuk a táplálóanyagok aktuális lebontását, figyelembe véve a takarmányozási szintet, illetve a bendőtartalom kiáramlási sebességét.

Az eredmények statisztikai értékelését SAS-program (SAS OnDemand for Academics, Cary, NC, U.S., 2021) segítségével végezzük el. A választott szignifikancia szint $P \leq 0,05$ volt.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A minták kémiai összetétele

Az 1. táblázatban az *in sacco* vizsgálatra került minták kémia összetétele látható. Az A jelű keverék nyersfehérje-tartalma szignifikánsan ($P < 0,05$) nagyobb, mint a másik két keveréké, mivel az őszi vetésű és május végi betakarítású pillangós–gabona-keverékekből készült szenázsok esetében a borsó, a bükköny kis mennyiségben van jelen, így javító hatása csak kissé érvényesült. Az irodalmi adatok szerint a tritikálé megfelelő mértékű nitrogénpótlást alkalmazva (ami itt megtörtént, mivel az alapműtrágyázás: 12–25 kg/ha N-hatóanyagot, az 1. fejtrágya: 50–90 kg/ha karbamidot, a 2. fejtrágya: 30–50 kg/ha kénes N oldatot tartalmazott) átlagosan 14–16% nyersfehérje-tartalommal rendelkezik.

1. táblázat. A vizsgált gabona-fű-keverékek táplálóanyag-tartalma az erjedés 331. napján

Táplálóanyag-tartalom	Keverékek			SEM	P
	A	B	C		
Száranyag (%)	27,86 ^a	39,6 ^b	26,03 ^a	1,27	≤0,05
Táplálóanyagok (a száranyag %-ában)					
Nyersfehérje	16,56 ^a	13,83 ^b	13,83 ^b	0,20	≤ 0,05
Nyerszsír	3,20 ^a	3,00 ^a	3,56 ^b	0,08	≤ 0,05
Nmka.	45,24	48,27	45,61	2,85	ns
Nyersrost	24,10	25,60	27,00	1,29	ns
NDF	40,73 ^a	45,53 ^{ab}	51,53 ^b	3,35	≤ 0,05
ADF	24,73 ^a	27,86 ^{ab}	30,13 ^b	1,45	≤ 0,05
ADL	2,90 ^a	3,30 ^{ab}	5,86 ^b	1,15	≤ 0,05
Cellulóz	22,83 ^a	24,56 ^b	24,26 ^b	0,23	≤ 0,05
Hemicellulóz	15,00 ^a	17,66 ^a	21,40 ^b	2,21	≤ 0,05
Nyershamu	10,90 ^a	9,30 ^b	10,00 ^c	0,21	≤ 0,05

A = tritikálé + őszi búza + őszi árpa, B = tritikálé + pannon bükköny + őszi takarmányborsó,

C = tritikálé + pannon bükköny,

^{a-c} A különböző betűvel jelölt értékek között szignifikáns különbség van (P < 0,05),

ns = nincs szignifikáns eltérés

A pillangóst is tartalmazó B keverék szignifikánsan (P < 0,05) több cellulózt tartalmaz, mint az A keverék. A szintén pillangóst tartalmazó C keverék NDF-, hemicellulóz- és cellulózmennyisége, valamint ADL-tartalma szignifikánsan (P < 0,05) nagyobb, mint az A keveréké. A keverékek nyershamutartalma 10% körül alakult.

A táplálóanyagok bendőbeli lebonthatóságának vizsgálata

A keverékszenázsok táplálóanyag-tartalmának bendőbeli lebonthatóságára vonatkozó adatokat az 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. táblázat. A keverékszenázsok szárazanyag-, nyersfehérje-, NDF- és ADF-tartalmának bendőbeli lebonthatósága (n = 64/keverék; 8 időpont x 4 ismétlés x 2 állat)

	Keverékek			SEM	p
	A	B	C		
Szárazanyag					
a	32,63 ^a	28,97 ^{ab}	28,13 ^b	1,88	0,024
b	32,20	35,33	35,76	15,10	0,714
P (a+b)	64,83 ^a	64,30 ^{ab}	63,40 ^b	14,20	0,032
c	0,03	0,045	0,03	0,01	0,379
ED1	57,18	56,03	54,23	8,11	0,876
ED5	45,35	43,58	41,39	15,78	0,174
ED8	41,99 ^a	39,97 ^{ab}	37,90 ^b	1,88	0,039
Nyersfehérje					
a	30,78	28,90	34,57	10,57	0,748
b	48,33	50,21	46,83	10,21	0,897
P (a+b)	79,11	79,11	81,40	15,45	0,623
c	1,29	1,38	0,64	0,53	0,162
ED1	78,66	78,62	62,23	11,96	0,136
ED5	77,17	76,75	60,97	11,45	0,126
ED8	76,11	75,47	60,11	11,17	0,126
NDF					
a	2,58 ^a	1,97 ^a	5,50 ^b	0,89	0,0007
b	27,86	41,54	46,73	12,73	0,151
P (a+b)	30,44 ^a	43,51 ^b	52,23 ^c	11,52	0,031
c	0,02	0,02	0,02	0,008	0,843
ED1	22,25 ^a	29,24 ^{ab}	35,52 ^b	5,50	0,023
ED5	11,63 ^a	13,72 ^a	18,32 ^b	1,98	0,003
ED8	9,03 ^a	10,23 ^a	14,51 ^b	1,50	0,001
ADF					
a	3,26	3,93	3,27	1,46	0,770
b	25,37	37,07	37,95	14,47	0,448
P (a+b)	28,63	41,00	41,22	15,85	0,523
c	0,02	0,02	0,02	0,005	0,274
ED1	20,50 ^a	29,13 ^b	29,17 ^b	1,91	0,025
ED5	10,83 ^a	15,20 ^b	14,82 ^b	1,61	0,049
ED8	8,60 ^a	11,92 ^b	11,45 ^b	0,82	0,031

A = tritikálé + őszi búza + őszi árpa, B = tritikálé + pannon bükköny + őszi takarmányborsó,

C = tritikálé + pannon bükköny, a = gyorsan lebomló hányad; b = lassan lebomló hányad; c = a lassan lebomló frakció bontási sebessége óránként; P: Potenciális lebonthatóság, %;

ED1: Aktuális lebonthatóság, 1%/h kiáramlási sebesség, ED5: Aktuális lebonthatóság, 5%/h kiáramlási sebesség; ED8: Aktuális lebonthatóság, 8%/h kiáramlási sebesség; ns = nem szignifikáns, ^{a,b,c} A különböző betűvel jelölt értékek között szignifikáns különbség (p < 0,05) van

A keverékszenázsok szárazanyag-tartalmának a gyorsan lebontható frakciója jelentősen (P < 0,05) eltér egymástól, az A keverék gyorsan lebomló hányada (a) nagyobb, mint a B és C keveréké. A potenciálisan lebontható szárazanyag-hányad 64% körül alakult mindhárom keverék esetében, míg az aktuális lebonthatóság 8%/h kiáramlási sebességnél 42%, az A keverék esetén, ennél alacsonyabb a másik két keverék esetében. Az aktuális lebonthatóság a takarmány táplálóanyagának értékelésében fontosabb szerepet

játszik, mivel a valódi emésztés és a tápanyagok hasznosulása szempontjából relevánsabb. Jancsik és mtsai. (2009) a fűszilázsok aktuális lebonthatóságát 70% körülinek találta. Alemayehu és mtsai. (2021) az A keverékkel megegyező gabonaféléket tartalmazó keverék esetében 66%-os aktuális szárazanyag-lebonthatóságot mértek. Feltételezhetően a 6 hónapnál hosszabb tárolás során a szárazanyag-lebonthatóság csökkent, főként a sejtfalszerkezeti változások, komplex képződések és/vagy a Maillard reakció miatt (McDonald és mtsai., 1991). A táplálóanyagok közül a legfontosabb a nyersfehérje bendőbeli lebonthatósága. A gyorsan lebomló (a) fehérjefrakció 29–34% között alakult a keverékeknél. Susmel és mtsai. (1990) kukoricaszilázsánál 47%-ot, rozsszilázsánál pedig 49%-ot mért.

A 331 napos tárolási időszak nem gyakorolt jelentős hatást a nyersfehérje bendőbeli lebonthatóságára, valamint a tárolási körülmények (pl. helyes szántóföldi gyakorlat, starterhasználat, startermegválasztás, starterkijuttatás, zárastechnológia) szintén segíthettek a fehérje lebonthatóságának kedvező alakulásában. Ha a 8%/h kiáramlási sebességre korrigált aktuális lebonthatósági értéket összevetjük a hazai termesztésű tömegtakarmányok bendőbeli lebonthatóságával, azt tapasztaljuk, hogy a vizsgált keverékszenázsok bendőbeli lebonthatósága a fűszilázs, illetve a fűszenázs, valamint a lucernaszenázs értékeinél nagyobbak, ezek az értékek ugyanis 70% alatt vannak. C keverékhez (60,11%) képest a gabonaféléket (66,1%), a zabot és olaszperjét (79,7%) és a gabonaféléket és olaszperjét tartalmazó keverékek (79,35%) aktuális nyersfehérje-lebonthatósági értékei (Alemayehu és mtsai., 2021) azonban jobbak. A kérődzők energiaszükségletének 70-80%-át a bendőfermentáció során keletkező illó zsírsavak fedezik. Így az NDF-, valamint ADF-tartalom bendőbeli lebonthatóságának kiemelkedő szerepe van. Az NDF egyes frakciói közül a lassan lebomló hányad A keverék esetében 27,86% volt, B és C esetében 40% feletti.

Vizsgálati eredményeinkből jól látszik, hogy a bendőben potenciálisan lebontható NDF-rostfrakciók mennyisége A keverék esetén (30%), nem tekinthető kimagasló értéknek, míg B keverék (43%) értéke is elmarad az olaszperjére (59,8%) és a kukoricaszilázsra (49,3%) közölt adatoktól, de más gabona- és olaszperje-gabonaszilázsokra (37–42%) közölt adatokhoz hasonló. C keverék A és B keveréknél szignifikánsan nagyobb (14,51%) aktuális lebonthatósága háttérében a C keverékszenázs nagyobb arányú lassan lebomló frakciója állhat. A zabot és olaszperjét tartalmazó keverék (19,1%), a gabonaféléket és olaszperjét tartalmazó keverékek (15,2%), és a csak gabonaféléket tartalmazó keverékek (19,7%) aktuális lebonthatósági értékei (Alemayehu és mtsai., 2021) ennél jobbak. A szerzők azonban 90 napos fermentáció után végezték vizsgálataikat. Az siló erjedésének korai szakaszában a növényi sejtfalak emészthetősége javulhat. A tejsavtermelés segíthet a sejtfalak felpuhulásában, ezáltal az NDF könnyebben hozzáférhetővé válik a bendő mikrobái számára. A hosszú távú tárolás során az NDF emészthetősége csökkenhet (Weinberg és Chen, 2013). 6 hónapon túl ugyanis a lignin és más szerkezeti szénhidrátok szorosabb kötéseket alkothatnak, ami megnehezíti ezek hozzáférhetőségét a bendőmikrobák számára. A tartós savas hatás a sejtfal szerkezetét is megváltoztathatja. Amikor a tejsavas erjedésnek köszönhetően az erjesztéssel tartósított tömegtakarmány eléri a végső pH-értékét, stabilnak tekinthető. Azonban ez nem jelenti azt, hogy nem zajlik

semmilyen mikrobiológiai tevékenység a silódepóban. Némelyik tejsavtermelő baktérium (heterofermentatív) képes az erjedés során megtermelt tejsav egy részéből ecetsavat szintetizálni egyszerű cukrok hiányában is. Ha az erjesztett takarmány hőhatásnak van kitéve (nyári forróság), a Maillard-reakciók során a cukrok és fehérjék között emészthetetlen komplexek keletkezhetnek, ami tovább csökkenti az NDF hozzáférhetőségét.

A könnyen lebontható komponensek felhasználódnak, így több emészthetetlen, ligninhez kötött rost marad hátra, ami szintén negatívan befolyásolhatja az NDF emészthetőségét (Muck és mtsai., 2001). Mérsékelt takarmányozási szint mellett szignifikánsan nagyobb aktuális lebonthatóság (18,32%) a C keverék esetében kedvező eredménynek mondható, ám alacsonyabb érték, ha összevetjük Mustafa és mtsai. (2000) kísérletében szereplő lucernaszilázs (27%), árpaszilázs (21,9%) és a borsószilázs (23,5%) aktuális lebonthatóságával, ahol valamennyi szilázs kisebb mennyiségű lassan oldódó frakcióval és nagyobb bomlási sebességgel bírt, mint a C keverék.

Az ADF-tartalom lebonthatósági eredményeit elemezve a keverékek között a potenciális ADF-lebonthatóságot illetően szignifikáns különbséget nem találtunk, de B és C keverék ADF-tartalmának potenciális lebonthatósága nagyobb (40% feletti), mint A keverék esetében (28,63%). C és B keverék aktuális ADF-lebonthatósága (11,92 ill., 11,45%) szignifikánsan nagyobb, mint A keveréké (8,6%). Alemayehu és mtsai. (2021) őszi árpa + őszi búza + tritikálé keverék esetében 14,6%-ot mért, mivel a gyorsan lebomló hányad az említett szerzők mintáiban nagyobb volt (7,5%), amit az is okozhatott, hogy 90 napos erjedés után végezték vizsgálataikat.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A megfelelően tartósított őszi vetésű gabona-pillangósok és a gabonafélék keveréke a nagy részarányú bendőben lebomló szárazanyag- és nyersfehérje-tartalom miatt alkalmazható a növendék szarvasmarhák, de akár a nagy tejtermelésű tehenek takarmányadagjában, ám ez esetben az alacsony ténylegesen lebontható NDF- és ADF-tartalom miatt a keverékeket csak megfelelő körülményekkel, más rostforrások felhasználásával együtt javasolt etetni. A hat hónapon túl történő tárolás csökkenti a keverékek táplálóanyag-tartalmának bendőbeli lebonthatóságát, így a silókazlak, fóliatömlők bontását korábban el kell kezdeni.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérlet a 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2020-00142 Innovatív tenyésztéstechnológiát szolgáló korszerű biotechnikai (embriótranszfer, ET), biotechnológiai és takarmányozási megoldások fejlesztése a tej- és a hústermelés hatékonyságának javítása érdekében c. projekt keretén belül valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

Alemayehu, W., Tóthi, R., Orosz, S., Fébel, H., Kacsala, L., Drew V., & Tóth, T. (2021): Novel mixtures of Italian ryegrass and winter cereals: influence of ensiling on nutritional composition, fermentation characteristics, microbial counts and ruminal degradabi-

- lity. *Italian Journal of Animal Science*, 20(1), 749–761. DOI: <https://doi.org/10.1080/1828051X.2021.1924883>
- Hristov, J., Pérez Domínguez, I., Fellmann, T., & Elleby, C. (2023). Economic impacts of climate change on EU agriculture: Will the farmers benefit from global climate change? *Environmental Research Letters*, 19, 014027. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1748-9326/ad0e34>
- Jancík, F., Koukolová, V., Kubelková, P., & Cermák, B. (2009): Effects of grass species on ruminal degradability of silages and prediction of dry matter effective degradability. *Czech J. Anim. Sci.*, 54(7), 315–323. DOI: <https://doi.org/10.17221/1725-CJAS>
- McDonald, P., Henderson, A. R., & Heron, S. J. E. (1991): *The biochemistry of silage*. 2nd Edition, Kingston, Kent: Chalcombe Publications.
- Mehrez, A. Z., & Orskov, E. R. (1977): A study of the artificial fibre bag technique for determining the digestibility of feeds in the rumen. *The Journal of Agricultural Science*, 88(34), 645–650. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600037321>
- Muck, R. E., & Shinnars, K. J. (2001): Conserved forage (silage and hay): progress and priorities. In: *International Grassland Congress*, 19. FEALQ, Piracicaba, Brazil.
- Mustafa, A. F., Christensen, D. A., & McKinnon, J. J. (2000): Effects of pea, barley, and alfalfa silage on ruminal nutrient degradability and performance of dairy cows. *J Dairy Sci.*, 83(12), 2859–2865. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)75186-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)75186-1)
- Orosz, S., Horváthné, K. B., Kruppa, J., Kruppa, J., Iván, F., & Hoffmann, R. (2019): Húshasznú tehenek, növendék- és hízó marhák hazai tömegtakarmány-ellátása a klímaváltozás tükrében. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 66, 365–382.
- Orskov, E. R., & McDonald, I. (1979): The estimation of protein degradability in the rumen from incubation measurements weighted according to rate of passage. *J. Agric. Sci. Camb.*, 92(2), 499–503. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859600063048>
- Schmidt, J., Várhegyi Jné, Várhegyi, J., & Cenkvári, E. (1998): Proposal for the new protein evaluation system for ruminants in Hungary. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 47, 165–178.
- Susmel, P., Stefanon, B., Mills, C. R., & Spanghero, M. (1990): Rumen degradability of organic matter, nitrogen and fibre fractions in forages. *Anim Sci.*, 51(3), 515–526. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0003356100012551>
- Tóthi, R., Orosz, S., Somfalvi-Tóth, K., Babinszky, L., & Halas, V. (2024): Chapter-Effect of climate change on strategy of forage feeding in cattle farms under dry continental conditions. In *Latest Scientific Findings in Ruminant Nutrition - Research for Practical Implementation*. Editor Babinszky, L., Ed., IntechOpen: London, UK. DOI: <https://doi.org/10.5772/intechopen.1005884>
- Weinberg, Z. G., & Chen, Y. (2013): Effects of storage period on the composition of whole crop wheat and corn silages, *Animal Feed Science and Technology*, 185(3–4), 196–200. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.08.009>



A NON-INVASIVE METHOD TO MONITOR THE SMOOTH MUSCLE ACTIVITY OF DIGESTIVE ORGANS IN GROWING PIGS

Orsolya Csötönyi, Gabriella Béres, Veronika Halas

Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Institute of Physiology and Animal Nutrition, Department of Farm Animal Nutrition, Kaposvár Campus, Guba Sándor Street 40, H-7400 Kaposvár

ABSTRACT

The negative impact of stress on physiological processes has been generally known for a long time, but few studies address the decrease in the motor activity of digestion because of stress. Electromyography, a non-invasive method used in humans for nearly 100 years, is suitable for measuring smooth muscle activity. In recent years, the method has also been adapted for pigs. The aim of our preliminary study was to determine whether ACTH induction affects the smooth muscle activity of the digestive organs in pigs and whether this can be demonstrated using electromyographic measurements. Measurements were performed on 30 kg Topigs x Duroc barrows (n = 4) under normal and stress conditions. Stress induction was carried out by intravenous administration of ACTH injection at a dose of 10 µg/kg body weight, which dose corresponds to a mild stress effect. Data were recorded continuously for 8 hours, segmented into 30-minute intervals during data processing, and analyzed using Fast Fourier Transformation and expressed as Power Spectrum maximum measure of value. Our results showed significant decrease in smooth muscle activity in stomach and a tendency for reduce in small intestine post ACTH induction, which may influence digestive processes through reduced motor activity.

ÖSSZEFOGLALÁS

A stressz élettani folyamatokra gyakorolt negatív hatása régóta ismert, de kevés kutatás foglalkozik az emésztés okozta stressz miatti motorikus aktivitásának csökkenésével. Az elektromiográfia, egy humán vonatkozásban közel 100 éve alkalmazott non-invazív mérési módszer, alkalmas a simaizmok aktivitásának mérésére. Néhány éve sertésekre is megtörtént a módszer adaptációja. Vizsgálatunk célja annak megállapítása volt, hogy enyhe, indukált stresszhatás befolyásolja-e a sertések emésztőszerveinek simaizom aktivitását, és ez elektromiográfiai mérésekkel igazolható-e. 30 kg-os Topigs x Duroc genotípusú ártányokon (n = 4) végeztünk elektromiográfiai méréseket normál és stressz körülmények között. A stresszindukció 10 µg/testtömegkilogramm ACTH injekció intravénás alkalmazásával történt, amely dózis enyhe stresszhatásnak felel meg. Az elektromiográfiai jeleket 8 órán át rögzítettük, az adatfeldolgozás során 30 perces szakaszokra bontva és Fast Fourier Transzformációval elemezve, Power Spectrum maximum értékével meghatározva. Eredményeink szerint az ACTH injekció beadása szignifikáns aktivitáscsökkenést eredményezett a gyomorban és tendenciózus aktivitáscsökkenést a vékonybélben, ami a motorikus aktivitás változása miatt befolyásolhatja az emésztési folyamatokat.

INTRODUCTION

The German Animal Welfare Act states: “No one may cause pain, suffering or harm to an animal without reasonable cause”. The criteria include health, natural behaviour and well-being of the individual animal (Martinez and von Nolting, 2023). These are the European principles nowadays, which relate to animal experiments. The 3R principles – Reduction, Refinement, and Replacement – are essential in modern in vivo experimental animal research to ensure ethical treatment of animals. Under Refinement, non-invasive methods that avoid harm or stress are prioritized, including advanced sampling techniques. One such method for monitoring gastrointestinal tract (GIT) activity is electromyography (EMG). This technique records the electrical activity of smooth muscles, offering a stress-free and harm-free alternative for assessing motility and function, aligning with ethical and scientific standards. The measurements are based on the electrical signals generated by the interstitial cells of Cajal. These cells generate the action potential, slow waves that regulate the rhythm of smooth muscle contractions in the gastrointestinal tract (Sanders et al., 2006).

Electromyographic measurements have a history of nearly 100 years in human terms (Alvarez, 1922). A few years ago, experiments were conducted with pigs also, in which the electromyographic method was used (Nagy et al., 2021; Roszkos, 2022). Research on stress is particularly important nowadays since stress negatively affects the performance and well-being of farm animals (Martínez-Miró et al., 2016). The goal of the research aiming to explore the effect of stress is to develop new, more effective strategies for preventing stress and alleviating its negative effects. Although studies with electromyographic measurements appear in preclinical studies mostly with rats (Szűcs et al., 2018), in a stress model with awake, free-moving pigs there was no example of it, yet.

The aim of our preliminary study was to determine whether adrenocorticotrophic hormone (ACTH) induction affects the smooth muscle activity of the digestive organs in pigs and whether this can be demonstrated using electromyographic measurements.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at the Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Department of Farm Animal Nutrition, in December 2023. During the study, 4 Topigs x Duroc growing barrows were involved with an average body weight of 30 kg. The pigs were kept in individual pens with concrete floors without bedding. Feeding occurred 2 times a day at 8 a.m. and 3 p.m. with *ad libitum* drinking water. Considering that we investigated the effect of stress in our self-control study, the animals needed to be well prepared for the measurements in a period which lasted for about one month. The animals had to become comfortable with handling and human presence as well as wearing the vest that holds the wires and the holter used for electromyographic measurements. A self-control experiment was designed, the same animals were measured on the control and on the stress-induced day. There were two following days, the first day was the control day without stress, while on the stressed day the animals got ACTH injection (Synachten 0,25 mg/1 ml) through a permanent vein catheter intravenously at a dose

of 10 µg per kilogram of body weight, in order to perform standardized stress induction. The dose stands for a mild stress effect due to a short-term increase in cortisol levels.

For electromyographic measurements, we used the data-collecting holter device from MSB-Met Kft., which is capable of gathering data using a wire connected to two electrodes placed on the surface of the skin. After shaving and cleaning the required area, two self-adhesive electrodes were applied to the skin. One electrode on the left side was placed near the heart, right behind the front left leg. The other electrode on the right side was placed on the fold of the skin connecting the pig's thigh and lower abdomen. The measurements lasted for 9 hours from which 8 hours were analysed. For data analysis, we used the EasyChart software. The measured 8 hours were divided into 30-minute intervals. From the 8-hour-long analysis we assigned the main interval: between the timepoint of the ACTH injection and 2 hours after the administration. For data analysis, we selected from the software the Power Spectrum maximum (PSmax) analysis function, which calculates with Fast Fourier Transformation the muscle work done by the organ in the selected 30-minute interval. Statistical analysis was performed with paired Student's t-test, comparing data of 30-minute intervals of the control day with data of the stress induction day of each animal's own.

RESULTS AND DISCUSSION

There was a significant difference in blood serum cortisol levels measured through the control day and the stressed day as shown in Figure 1.

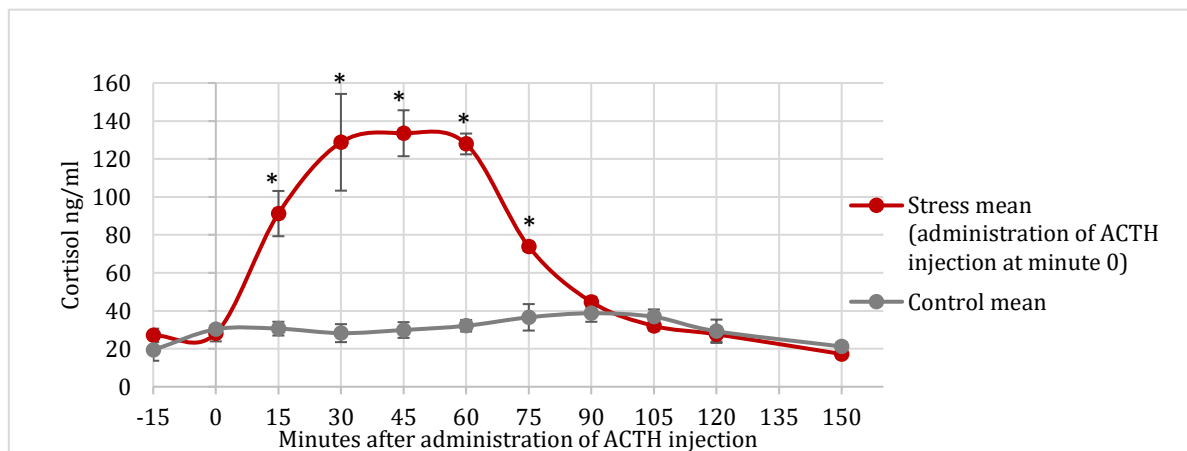


Figure 1 Blood serum total cortisol levels on the control day and stress-induced day, n = 4

Blood serum total cortisol levels were in a normal range on the control day (Plut et al., 2023). On the stress-induced day, the cortisol levels were significantly higher ($p < 0,05$) between the 15th and 75th minutes post-stress induction. This proves that the stress induction was successful. Results of the smooth muscle activity in different segments of the gastrointestinal tract right after the stress induction compared to the pairwise periods in nonstressed days are shown in Figure 2.

The smooth muscle activity of the stomach decreased significantly ($p < 0.05$) in the 60-minute interval after administration of ACTH injection. In 30-minute intervals 90 minutes after the ACTH injection the activity of the small intestine reduced slightly ($p = 0.09$) The activity of the large intestine was statistically the same on the control and stress-induced

day until the 120th and 150th-minute interval, the activity increased at that time point. The numerical decrease in smooth muscle activity is noticeable across all three digestive organs in most of the intervals post-ACTH induction.

The exact mechanisms by which stress influences gastrointestinal motility are primarily explored in the literature through review articles emphasizing hormonal interactions and invasive experiments conducted on rats. These studies typically confirm the occurrence of motility reduction without elucidating its precise pathways. To date, the impact of stress on digestive motility remains unclear (Pluske et al., 2019), particularly in swine, where the literature is notably sparse.

Some sources (Heymann-Mönnikes et al., 1991; Lewis et al., 2002) attribute this reduction to the effects of corticotropin-releasing factor (CRF). However, the process is considerably more complex in the body, involving a biochemical cascade where ACTH appears after CRF release, followed by cortisol production.

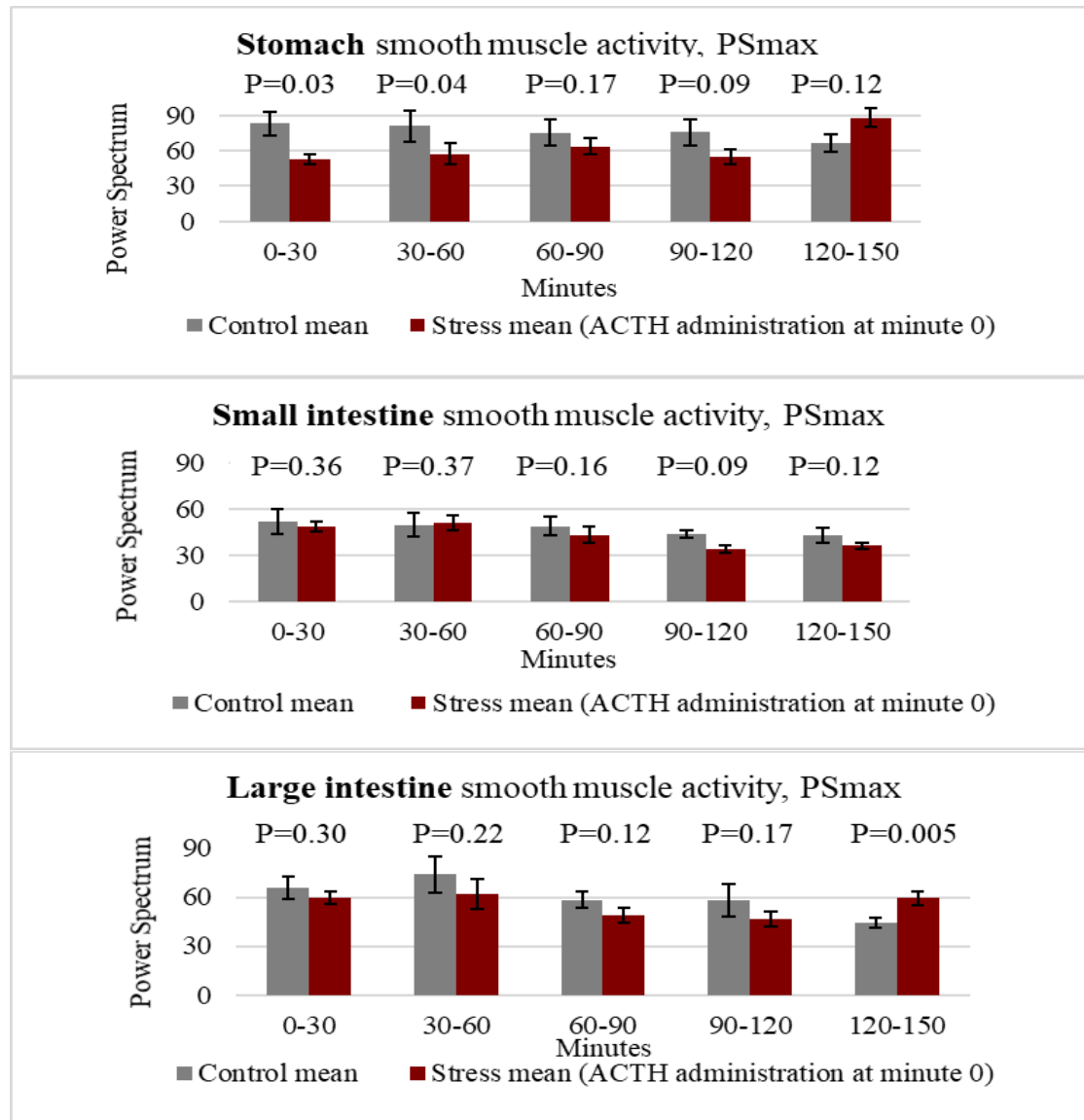


Figure 2 Means with standard errors of smooth muscle activity of the stomach, small intestine, and large intestine in each 30-minute interval post-stress induction

Other studies suggest that Prolactin-releasing peptide (PrRP) may regulate gastric motor activity within the dorsal vagal complex by modulating excitatory synaptic inputs from the nucleus tractus solitarius to vagus motor neurons projecting to the stomach (Grabauskas et al., 2004). Despite these findings, no literature addresses the time-domain reduction in the activity of digestive organs' smooth muscle, post-stress, but the answers are likely to be found in the hormonal background activity affecting the entire organism.

CONCLUSIONS

Electromyographic measurements can be performed on awake, freely moving pigs in a stress model. Using this method, the activity of the three measured digestive organs was detectable. Even mild induced stress (e.g., a low dose of ACTH) reduced the activity of the stomach and small intestine; in the stomach post-ACTH induction, this reduction was significant even with a low animal number.

ACKNOWLEDGEMENTS

The study is part of the PIGWEB project that has received funding from the European Union's Horizon 2020 research and innovation program under Grant Agreement No 101004770. This work was supported by the Flagship Research Groups Programme of the Hungarian University of Agriculture and Life Science and Orsolya Csötönyi is supported by EKÖP-MATE/2024/25/D New National Excellence Program of the Ministry for Culture and Innovation from the source of the National Research, Development and Innovation Fund.

REFERENCES

- Alvarez, W. C. (1922): The electrogastrogram and what it shows. *J. Am. Med. Assoc.*, 78, 1116–1118. DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.1922.02640680020008>
- Grabauskas, G., Zhou, S. Y., Das, S., Lu, Y., Owyang, C., & Moises, H. C. (2004): Prolactin-releasing peptide affects gastric motor function in rat by modulating synaptic transmission in the dorsal vagal complex. *The Journal of Physiology*, 561(Pt 3), 821–839. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2004.072736>
- Heymann-Mönnikes, I., Taché, Y., Trauner, M., Weiner, H., & Garrick, T. (1991): CRF microinjected into the dorsal vagal complex inhibits TRH analog- and kainic acid-stimulated gastric contractility in rats. *Brain Research*, 554(1–2), 139–144. DOI: [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90181-t](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90181-t)
- Lewis, M. W., Hermann, G. E., Rogers, R. C., & Travagli, R. A. (2002): In vitro and in vivo analysis of the effects of corticotropin releasing factor on rat dorsal vagal complex. *The Journal of Physiology*, 543(1), 135–146. DOI: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2002.019281>
- Martinez, J., & von Nolting, C. (2023): Review: "Animal welfare" – A European concept. *Animal: an international journal of animal bioscience*, 17 Suppl 4, 100839. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100839>
- Martínez-Miró, S., Tecles, F., Ramón, M., Escribano, D., Hernández, F., Madrid, J., Orengo, J., Martínez-Subiela, S., Manteca, X., & Cerón, J. J. (2016): Causes, consequences and biomarkers of stress in swine: an update. *BMC veterinary research*, 12(1), 171. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0791-8>

- Nagy, K., Fébel, H., Bazar, G., Grosz, G., Gáspár, R., Ferenc Szűcs, K., & Tóth, T. (2021): Non-invasive smooth muscle electromyography (SMEMG) as a novel monitoring technology of the gastrointestinal tract of awake, free-moving pigs – A pilot study. *Plos one*, 16(9), e0257311. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257311>
- Pluske, J. R., Miller, D. W., Sterndale, S. O., & Turpin, D. L. (2019): Associations between gastro-intestinal-tract function and the stress response after weaning in pigs. *Animal Production Science*, 59(11), 2015–2022. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN19279>
- Plut, J., Snoj, T., Golinar Oven, I., & Štukelj, M. (2023): The Combination of Serum and Oral Fluid Cortisol Levels and Welfare Quality Protocol® for Assessment of Pig Welfare on Intensive Farms. *Agriculture*, 13(2), 351. DOI: <https://doi.org/10.3390/agriculture13020351>
- Roszkos, R. (2022): The evolution of electromyography and the possibilities of its use in the reproduction biological processes of sows. *Állattenyésztés és Takarmányozás*, 71(2), 88–104. Retrieved from <https://www.szaktudas.hu>
- Sanders, K. M., Koh, S. D., & Ward, S. M. (2006): Interstitial cells of cajal as pacemakers in the gastrointestinal tract. *Annu. Rev. Physiol.*, 68, 307–343. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040504.094718>
- Szűcs, K. F., Grosz, G., Süle, M., Sztojkov-Ivanov, A., Ducza, E., Márki, A., Kothencz, A., Balogh, L., & Gáspár, R. (2018): Detection of stress and the effects of central nervous system depressants by gastrointestinal smooth muscle electromyography in wakeful rats. *Life sciences*, 205, 1–8. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.05.015>



NAGY LÉTSZÁMÚ SERTÉSTELEPEK JÁRVÁNYVÉDELME ÉS HIGIÉNIAI PROGRAMJÁNAK FELMÉRÉSE, VALAMINT A VÁLASZTÁSI HASMENÉS MEGOLDÁSI LEHETŐSÉGEI A ONE HEALTH KONCEPCIÓ TÜKRÉBEN – IRODALMI ÖSSZEFOGLALÓ

Sipos Roland¹, Molnár-Nagy Viviána², Könyves László Péter³

¹Állatorvostudományi Egyetem, Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika,
Budapest, 1078 Budapest, István utca 2.,

²Dr. Bata Zrt. 2364 Ócsa Bajcsy-Zsilinszky. u. 139.,

³Állatorvostudományi Egyetem, Állathigiéniai, Állomány-egészségtani Tanszék és Mobilklinika,
Budapest, 1078 Budapest, István utca 2.

ÖSSZEFOGLALÁS

A napjainkban zajló intenzív globális élőállat-kereskedelem és klímaváltozás egyre aktuálisabbá teszi a járványvédelem kérdéskörét. Ennek ellenére a járványvédelmi felmérésekről és azok lehetőségeiről elég szegényes a hazai tudományos szakirodalom. Egyre fontosabb, hogy szélesebb körben is foglalkozzunk ezzel a kérdéssel. Nemcsak a külső fenyegetés szempontjából kell gondolni a járványvédelemre, hanem a telepen jelen lévő kórokozók számának lecsökkentésében is nagy szerepe van. Ehhez fontos a megfelelő C&D-protokollok megléte és azok felmérése. Jelen közleményben a járványvédelem és C&D-protokollok történeti áttekintése és a nemzetközi irodalom releváns cikkei kerülnek összefoglalásra egy hazai kísérlettervezés megelőző lépéseként, mely kifejezetten koncentrál a választás utáni hasmenésre, amelyben mindkét említett téma jelentős szereppel bír.

ABSTRACT

Nowadays intense global livestock trade and climate change make the issue of disease control increasingly actual. Nevertheless, there are not enough scientific literature on biosecurity surveys and their importance in Hungary. It is increasingly important to address this issue in a broader context. When we are speaking about biosecurity besides risks from outside it also has an important role in reducing the number of pathogens on farm level. For this the right C&D protocols are important, and we have to assess them. In this paper, a historical review of disease control and C&D protocols and relevant articles from the international literature are summarised as a preliminary step of a pilot design specifically focusing on post-weaning diarrhoea, in which both play a significant role.

A JÁRVÁNYVÉDELEM ÉS HIGIÉNIA JELENTŐSÉGE

Ha a járványvédelem lényegét szeretnénk összefoglalni egyszerűen, azt mondhatjuk, hogy célja a betegségek behurcolásának és állományon belüli terjedésének megakadályozása. Ha jók a járványvédelmi intézkedések, akkor egészségesebb lesz az állomány,

ami a kevesebb megbetegedésben és kevesebb elhullásban számszerűsíthető. E kettő szorosan összefügg egyre fontosabbá váló kérdésekkel, mint a hatékonyság és fenntarthatóság, illetve az antimikrobiális rezisztencia. Ha egyes mentesítési programokról tárgyalunk, ott is sarkalatos pont kell legyen a mentesíteni kívánt állomány járványvédelme. Sajnos több tanulmányból is kiderül, hogy a gazdák nem szívesen áldoznak a járványvédelemre sem forrást, sem időt (Brennan és mtsa., 2012). Ennek okaként a nem elegendő bizonyítékot jelölik meg annak megtérülésében. Valóban nehéz számszerűsíteni a járványvédelmi befektetések jövedelmezőségét, például költség-haszon aránnyal, de mindenképp elmondható, hogy a megelőzés és a kezelés hatékonysága közt nagyságrendnyi különbség van. Ennek hangsúlyozása elengedhetetlen a mindennapi állatorvosi munka során, folyamatosan időt kell szánni a gazdák oktatására és javaslatokat tenni a jobb járványvédelem érdekében. A járványvédelem szerves részét képezi a telepen használatos tisztítási és fertőtlenítési (C&D) protokoll, amelynek számos lényeges pontja befolyásolja annak hatékonyságát. A malacok választási hasmenésében mindkét említett tényező jelentős szerepet játszik, de ezek mellett számos egyéb menedzsmenti tényezőt is figyelembe kell venni.

A járványvédelem modern, három szintű megközelítése

A járványvédelem három szintje a koncepcionális, strukturális és procedurális járványvédelem. Koncepcionális járványvédelem alatt azt értjük, amikor megvizsgáljuk a telep környezetét és felmérjük az adott állomány állategészségügyi státuszát, majd meghatározzuk, milyen kockázati tényezőkkel kell számolnunk. Ide tartoznak a telepen jelen lévő kórokozók, a közelben lévő állattartók, külterületen található vadállomány, a nagy forgalmú utak, ahol jelentős állatszállítás történik, esetlegesen vágóhidak összefüggésben a földrajzi adottságokkal, például: szélirány, domborzati viszonyok. Az első pontban meghatározott kockázatokra felkészülve kell kialakítani azt a védelmi rendszert, ami a strukturális járványvédelmi rendszert alkotja. Ez olyan szerkezeti elemek összessége, melyek célja az előző pontban felmért lehetséges kórokozók bejutásának megakadályozása. A procedurális járványvédelem kapcsán a mindennapi gyakorlat folyamatait kell áttekinteni. A rendelkezésre álló szerkezeti elemeket rendeltetésszerűen használjuk-e, hogy azok betölthessék funkciójukat. A járványvédelem hatékonyságát az egyik legfontosabb indikátor, az állatok egészségi állapota általában jól jelzi. Ehhez a kezelésekkel, selejtezéssel és elhullással kapcsolatos adatokat szükséges áttekinteni. A megközelítés változik, de a járványvédelem alapvető eszközei már a 90-es években is hasonlóak voltak (Duncan, 1990).

Általános érvényű alapelvek:

- zárt állomány fenntartása,
- megfelelő szabályozás a vásárolt állatok esetében,
- biztonságos takarmány és ivóvíz biztosítása,
- jármű- és személyforgalom korlátozása,
- rágcsáló- és madárkontroll,
- állomány-egészségügyi státusz meghatározása és monitorozása.

Egy, a modern járványvédelemhez kapcsolódó egyenlet: $M = S \times I \times V$, ahol M = a megbetegedés mértéke, S = fogékonyság az adott kórokozóra, I = fertőzéses nyomás, V = virulencia (Búza, 2022).

A modern megközelítést egyelőre csak kitekintésként használnám, mivel a szakirodalom inkább még a hagyományos felosztás alapján íródott.

KÜLSŐ JÁRVÁNYVÉDELEM

Tenyészállat-utánpótlás, karanténozás, termékenyítő anyag

Az élő állatok bevitele az egyik legkockázatosabb folyamat újabb patogének bejutása szempontjából, azonban a mai modern termelési elvárások szinten tartásához elengedhetetlen a folyamatos állományfrissítés és genetikai előrehaladás. A tenyészállat-utánpótlásra lehetőség van külső állományból vagy saját tenyészsüldő-nevelésből, de a sperma az esetek nagy többségében külső kanállomásról származik. A saját süldőnevelés során zártabban tudjuk tartani a telepet, viszont megnehezíti egyes fertőző betegségektől való mentesítést, és nem is érhető el akkora genetikai előrehaladás, mint a külső állományból származó tenyészsüldők esetében. Mivel nem kerülhető el a sperma vagy tenyészállat beszállítása, így fontos, hogy meghatározzuk, milyen betegségektől kell mentes legyen a beszállítani kívánt állat vagy termékenyítő anyag, és ennek igazolására milyen vizsgálatokat kérünk. Az új állatok beszállításának leghatékonyabb járványvédelmi eljárása a megfelelő karanténozás (Barceló és mtsai., 1988). A karantén elhelyezkedését illetően minimum 1 km javasolt más sertéstartó létesítményektől, amely elegendő a legtöbb levegővel és vektorok útján terjedő betegségek kockázatának lecsökkentésére, azonban számos vírus terjedését ennél hosszabb távolságra is megfigyelték már korábban, a PPRS és a M.hyo (*Mycoplasma hyopneumoniae*) akár 9 km-re is terjedhet (Otake és mtsai., 2010).

A nagy sertéssűrűségű területeken a légbeejtőknél vagy ablakoknál alkalmazott szűrők megfelelő hatékonyságúnak bizonyultak a kórokozók bejutásának megakadályozása szempontjából. A szűrők közül a jelenleg elérhető legjobb a HEPA-szűrő, de más, olcsóbb lehetőségek is megfelelő hatékonyságot mutattak (Wenke és mtsai., 2017). A karantén ideje három tényezőtől függ. Az általunk elkerülni kívánt betegségek lappangási ideje, ezen betegségek fertőzésátadási ideje, valamint a diagnózis felállításához szükséges idő. Az esetleges betegségek mielőbbi felfedezése érdekében az állatokat naponta szükséges megvizsgálni. Az esetlegesen megerősített fertőző betegségek esetére vészhelyzeti forgatókönyvvel kell rendelkezni (Dewulf és mtsai., 2019). A karanténozás fő célja az esetleges fertőző betegségek behurcolásának megakadályozása, azonban ebben az időszakban kell elvégezni a beszállítandó állatok akklimatizációját is, hogy az immunrendszerük felkészüljön a telepen található kórokozókkal szemben (Garza-Moreno és mtsai., 2017). A termékenyítő anyagnak rendelkezni kell a megfelelő mentességi igazolásokkal, és legjobb, ha a tenyészállat-utánpótláshoz hasonlóan ennek beszerzése is egy eredetre korlátozódik (Maes és mtsai., 2016). A személy- és járműforgalom fontos bejutási útvonala lehet egyes új kórokozóknak, mert a mindennapi működéshez számos jármű és ember szükséges (Dee és mtsai., 2004).

Egyes ragályfogó tárgyak, mint a csizma vagy a ruházat, de akár a kontaminált bőrfelület is számos kórokozó terjedését segítheti (Otake és mtsai., 2002). Az emberek közvetlenül is megfertőzhetik a sertéseket olyan zoonotikus kórokozók, mint az influenza (Rajao és mtsai., 2019). Az alapvető korlátozó intézkedés a „tisztas” és szennyes övezetek elkülönítése kell legyen. Tisztas övezet a telep belső, jól körülhatárolt része, ahol lehetőség van a sertésekkel való közvetlen és közvetett érintkezésre. A szennyes övezetben előfordulhatnak olyan patogének, amelyek veszélyt jelenthetnek a sertésekre, ezért minden olyan felületre, ahol a szennyes és tisztas övezet közt átjárás van, higiéniai kaput kell létesíteni. A szennyes és tisztas útvonalakat szintén el kell különíteni, azok nem keresztezhetik egymást.

A kerítésnek megfelelően erős anyagból kell készülni, és a talajba is le kell ásnia a vadállatok bejutásának megakadályozása érdekében, mivel számos kórokozót terjeszthetnek, mint a klasszikus sertéspestis (KSP), afrikai sertéspestis (ASP) vagy az Aujeszky betegség (Filippitzi és mtsai., 2018). Jól elkülönített külső parkolót kell létrehozni csak a feltétlenül szükséges behajtásra tekintettel – pl. állatorvos. Vannak olyan folyamatok, amelyekhez elengedhetetlen a viszonylag nagy járműforgalom. Ilyenek a takarmány- és trágya-, valamint a hullaszállítás. A telepet úgy kell kialakítani, hogy ezek a járművek egy külső szennyes útról is elvégezhesék a feladatukat, és ne kelljen belépniük a telepre. A szállító járművek, azok sofőrjei semmiképp nem léphetnek kapcsolatba az állatokkal. Egy vizsgálat során a PEDV (Porcine epidemic diarrhea virus vagy a sertés járványoshasmenés-virusa) átvitelét elemezték, és megállapították, hogy a lábbeli és a külső öltözet könnyen kontaminálódik. Már csekély mennyiségű, ruházaton megtapadó szennyeződés is elegendő lehet egy telep fertőződéséhez (Lowe et al., 2017).

A minimum követelmény a telepre lépés előtt a kézmosás és fertőtlenítés, valamint a teljesöltözet- és csizmacsere, de a legnagyobb kockázatot a haj vagy az orr- és szájjá nyálkahártya kontaminációja jelenti. Egy kísérletben a PEDV örökítőanyagát fertőzött állattal találkozott dolgozó hajából a fertőzött állattal való találkozás után egy nappal is ki tudták mutatni, bár ez a fertőzésátvitel szempontjából nem volt releváns (Kim és mtsai., 2017). A telepre bevitt személyes tárgyak is kifejezett kockázatot jelenthetnek, mint a laptop vagy a mobiltelefon, ha azokat nem fertőtlenítik megfelelően. Egy 2016-os kísérletben azt találták, hogy a *M. hyo.* különböző felületeken 4 °C-on akár 8 napig is életképes maradhat (Browne és mtsai., 2017). Az Influenzával és PRRS-el kapcsolatos tanulmányok során bebizonyosodott, hogy a fertőzött sertésekkel kapcsolatba került csizma, kesztyű, öltözet, vagy emberi bőrfelület könnyen forrása lehet a fertőzésnek (Amass, 2004). A sertéstermékek fogyasztása a telepen belül szintén szigorúan korlátozandó olyan fontos kórokozók miatt, mint az ASP (Farez és mtsai., 1997).

Állatok szállítása

A telepek között vagy a vágóhídra állatokat szállító járművek fontos szerepet játszhatnak a patogének terjesztésében, ezért a legtöbb telep a sofőr által bemutatott fertőtlenítési igazolás mellett a telepre való belépés előtt maga is fertőtleníti a járműveket (Pitkin és mtsai., 2009). Az állatok be és kiszállítása az egyik legkockázatosabb folyamat, mert a telepen található állatok ebben az esetben kerülnek a legközelebb a telepen kívüli

járművekhez és személyekhez. A kockázat csökkentésének legjobb módja egy megfelelő rakodó terület kialakítása. Ennek része kell legyen egy külső „koszos” parkoló, amely egy kezelőfolyosóhoz vezet, ami elég szűk ahhoz, hogy a sertések egyesével tudjanak haladni. A folyosón egy alacsony magasságú kapu kell legyen, amin a sertések könnyen átférnek, de az emberek állva nem férnek át. A kapun belüli részt tiszta résznek kell tekinteni, ide már nem jöhet vissza sertés (Alarcón és mtsai., 2021).

Környező létesítmények

Egy korábbi kutatás szerint az árutermelő telepeken az új PRRS-kitörések 80%-a más gazdaságokból származott, de a fertőzés pontos útját nem sikerült azonosítani. Itt a kockázatbecsléshez ismerni kell a közelben lévő telepeket, vágóhidakat, egyéb létesítményeket, illetve az ott előforduló állatok egészségügyi státuszát (Torremorell és mtsai., 2004). Az ilyen létesítmények 1 km-en belüli elhelyezkedése jelentősen növeli a kockázatot (Barceló és mtsa., 1988). Az egyik lehetséges terjedési mód a különböző létesítmények között a levegőn keresztüli terjedés. Ez nemcsak a telepek közti távolságtól, hanem az időjárási viszonyoktól is függ, mint a szél csapadék vagy a páratartalom, valamint a földrajzi adottságoknak is fontos szerepe van (Alarcón és mtsai., 2021). Számos olyan kórokozó van, amelyet más állatok visznek át a sertésállományokra. Itt kiemelkedő a rágcsálók szerepe, bár általában az egerek csak 25-150 m-es körzetben mozognak (Backhans és mtsa., 2012). Egy-egy patkány esetében 3 km megtételét is megfigyelték egy éjszaka alatt (Akande, 2008). A rovarok is lehetnek mechanikai vektorok, amelyek 2-3 km-es zónában mozognak, bár eddig még csak néhány száz méterre való terjesztést igazoltak (Robinson, 2005). Néhány madárfajt korábban azonosítottak egyes kitörések okozóiként, ezért fontos az olyan szerkezeti elemek alkalmazása, amely lehetővé teszi a madarak fehér zónán kívül tartását. A szürke zónában elhelyezkedő takarmánysilók zártsága is fontos, mivel a benne lévő takarmány madárfajok ürülékével kontaminálódhat, ezáltal a Salmonella fertőzési forrása is lehet (Pilchard, 1965).

Takarmány és ivóvíz

A takarmánykeverő üzemben is szigorú járványvédelmet kell tartani. Itt a legnagyobb veszélyforrás a már kész takarmányok kontaminálódása. A gyártás során a hőkezelés és egyéb anyagok hozzáadása csökkenti az esetlegesen jelen lévő kórokozók fertőzőképességét, ezáltal minimalizálva a kockázatot (Cochrane és mtsai., 2017). Az ivóvíz szintén közvetítője lehet számos kórokozónak, ezért kifejezetten fontos a kutak megfelelő zártsága és védelme. A víz mikrobiológiai minőségének ellenőrzését évente érdemes elvégezni (Román és mtsai., 2006). A csővezetékben az éves működés során nagy esély van a biofilmképződésre, amely szintén lehet fertőzési forrás, ezért az ivóvízrendszert is rendszeresen kell tisztítani (Dewulf és mtsa., 2019).

BELSŐ JÁRVÁNYVÉDELEM

Menedzsment

A legfontosabb az all-in/all-out szigorú betartása, ezáltal nem keverednek az egyes korcsoportok és állatcsoportok, valamint jól kombinálható a tisztítási és fertőtlenítési folyamatokkal, ezért kiemelkedő a patogén cirkuláció lecsökkentésében (Isomura és mtsai., 2018). Ehhez a dolgozók megfelelő napi rutinja is hozzájárul.

Általános higiénia és C&D

A megfelelő menedzsmentet ki kell egészíteni, a jó általános higiéniai gyakorlatokkal, hogy a dolgozók se legyenek fertőzőközvetítők az egyes korcsoportok között. Ehhez a megfelelő napi gyakorlat szerint mindig a fiatalabb állatoktól kezdve kell haladni az idősebbek felé. Az egyes termelési egységek közt is fontos a megfelelő fertőtlenítés. A legjobb gyakorlat, ha minden egységnek megvan a saját dolgozója, aki csak az adott részlegben mozog, illetve ez jól szemléltethető azzal is, ha ezekhez az egységekhez különböző színű öltözék és eszközök tartoznak, ezzel megelőzve ezek fertőzésátvivő szerepét. Azonos egységben a korcsoportok között mindig szükséges a csizmamosók és fertőtlenítők használata, valamint a kézmosás és fertőtlenítés (Alarcón és mtsai., 2021). A lábfertőtlenítők használatánál fontos figyelembe venni a behatási időt, illetve annak változását a folyamatosan növekvő szervesanyag-szennyeződés miatt. A jó gyakorlat, ha először megtörténik a csizma tisztítása, majd utána a fertőtlenítése, mivel, ha nem távolítjuk el a szennyeződést, a fertőtlenítő nem képes lecsökkenteni a kórokozók számát (Amass és mtsai., 2000). A higiéniai elemek közül a legalapvetőbb a kutricák tisztítása és fertőtlenítése. Ezzel foglalkozó tanulmányok általános következtetése, hogy az összes fertőtlenítőszer jobb hatékonyságot mutat, ha a szerves anyag korábban megfelelően eltávolításra kerül.

Egy konkrét kísérletben a klórkrezolalapú készítményeket találták a leghatékonyabbnak a csizmák fertőtlenítésére, a felületek fertőtlenítése szempontjából az aldehidalapúak voltak kiemelkedőek (Gosling, 2018). Itt elengedhetetlen a megfelelő hétlépéses protokoll használata. Egy Ugandai tanulmányban 27 telepet vizsgálva a megfelelő fertőtlenítő használatával jelentős szeropozitivitás-csökkenést találtak a *Strep. suis* tekintetében (Dione és mtsai., 2018).

A járványvédelem értékelése és számszerűsítése

A Genti Egyetem kidolgozott egy kérdőíves rendszert, amely az egyes befertőződési lehetőségek esélyével korrigálva egy kockázat alapján súlyozott százalékos értékeléssel teszi összehasonlíthatóvá a telepeket és mutat rá azok gyenge pontjaira (Gelaude és mtsai., 2014). A kérdőívet használva 2019 és 2022 között több európai telep felmérése során azt találták, hogy az input anyagok bevitele során nem fordítanak elegendő figyelmet azok fertőtlenítésére, ami a külső járványvédelem szempontjából lenne fontos. A belső járványvédelem során pedig a nagyon alapvetőnek tűnő folyamatok, mint a kéz és lábbeli fertőtlenítése, szorulnak háttérbe. A legnagyobb hiányosság a C&D-protokollok

végrehajtása utáni ellenőrző mintavételekben mutatkozott, mivel ezt csak a vizsgált telepek 1%-án végezték el (Makovska és mtsai., 2024).

Egy 2023-as tanulmányban 20 sertésállományt vizsgáltak egy 12 hónapos időszakban a járványvédelem és a higiéniai gyakorlatok tekintetében. A hatékonyság ellenőrzésére az ATP-mérést és egyes sentinel kórokozók kimutatását használták. A telepek első felmérése után telepspecifikus javaslatok nyomán, folyamatos helyszíni oktatásokkal jelentős javulást tudtak elérni. A javulás ellenére még mindig nagy arányú *Meticillin Rezisztens Staphylococcus Aureus* (MRSA) -törzset tudtak kimutatni, amely hangsúlyozza a járványvédelem és higiénia további javításának szükségességét a dolgozók és a sertések védelme érdekében az egy egészség koncepció tükrében (Scollo és mtsai., 2023).

Választási hasmenés

A cinkoxid 2022-es betiltása, valamint az antibiotikum-felhasználás csökkentésének előtérbe kerülése miatt újra fókuszba került a választási hasmenés. Egy 2021-es tanulmányban két gazdaságban vizsgálták a választás utáni hasmenés előfordulását és a jellemző kórokozókat. A két telepen a választást követő 14 napban 41, és 51,1% volt a hasmenéses malacok aránya. A végbéltampon-vizsgálatok laboratóriumi vizsgálata során azt találták, hogy az ETEC (enterotoxint termelő *Escherichia coli*) csak kis arányban fordul elő, ezzel szemben a rotavírusos megbetegedések jelentős részarányt képviselnek. A többször ellett kocák malacainál kevésbé fordult elő hasmenés a választás után, míg a kisebb születésű súlyú malacoknál nagyobb eséllyel – 1100 g alatt 2,3-szor nagyobb valószínűséggel (Eriksen és mtsai., 2021).

A választási hasmenés összetett kóroktanú probléma, a malacok mind immunológiai, mind emésztésélettani szempontból egy érzékeny időszakban vannak, ezért kifejezetten fontos a megfelelő környezeti körülmények biztosítása. Egy 2017-es vizsgálatban 20 malacot választottak le rossz tartási körülmények közé, ezzel próbálták kiváltani a választási hasmenést. Választás után 2 héttel 20-ból 13 malacnál 2-3 napig folyékony bélsár volt megfigyelhető, ezeket a malacokat hasmenésesként azonosították. Az egészséges malacoknál a *Prevotellaceae*, *Lachnospiraceae*, *Ruminocacaceae* és *Lactobacillaceae* fajok változatosabbak voltak. Az egészséges és hasmenéses malacoknál már a választás előtt egy héttel is különbség mutatkozott a bél-mikrobiomban (Dou és mtsai., 2017).

SAJÁT KUTATÁSOK

A fenti összefoglaló alapján tervezzük elvégezni saját kutatásunkat, amelyben néhány (3–5) hazai nagy létszámú sertéstelepen végeznénk el a járványvédelem, valamint a C&D-protokollok felmérését és annak javítására vonatkozó javaslatokat tennénk, amit telepi oktatás keretében követnénk nyomon. Egy 12 hónapos időszak után újra értékelnénk a telepeket és meghatároznánk a javulás mértékét. A választási hasmenés megoldására a járványvédelmi és higiéniai gyakorlat javítása mellett egy takarmánykiegészítő etetését is kipróbálnánk. Összességében azt várjuk, hogy ezekkel az intézkedésekkel csökkenteni tudjuk az antibiotikumfelhasználást, ezáltal a rezisztencia kialakulásának esélyét; a megbetegedett és elhullott állatok számát, így növelve az állatjóllétet és a telepek termelési hatékonyságát.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A 2024-2.1.2-EKÖP-KDP-2024-00013 számú project a kutatás a Kulturális és Innovációs Minisztérium Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból nyújtott támogatásával az Egyetemi Kutatói Ösztöndíj Program (EKÖP-KDP-2024) finanszírozásában valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

- Akande, O. A. (2008): A study on wild rat behaviour and control on a pig farm: Master of Science Thesis, Department of Clinical Sciences, Division of Large Animal Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science, Swedish University of Agricultural Sciences; 2008. Report no. 72 ISSN 1403-2201.
- Alarcón, L. V., Allepuz, A., & Mateu, E. (2021): Biosecurity in pig farms: a review. *Porcine Health Management*, 7, 5. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40813-020-00181-z>
- Amass, S. F. (2004): Review of biosecurity research on mechanical transmission of porcine pathogens by people. In: Scruton, W. C. (Ed.) *Allen D. Leman Swine Conference*, 2004. (pp. 84–87). <https://hdl.handle.net/11299/144283>.
- Amass, S. F., Vyverberg, B. D., Ragland, D. R., Dowell, C. A., Anderson, J. H., & Beaudry, D. J. (2000): Evaluating the efficacy of boot baths in biosecurity protocols. *Swine Health Prod.*, 8(4), 169–173.
- Backhans, A., & Fellström, C. (2012): Rodents on pig and chicken farms – a potential threat to human and animal health. *Infect Ecol Epidemiol.*, 2(1), 17093. DOI: <https://doi.org/10.3402/iee.v2i0.17093>
- Barceló, J., & Marco, E. (1988): On-Farm biosecurity. In Varley, M. A. Done, S. & Thomson, J. (Eds.) *Proceedings of the 15th IPVS Congress*. (pp.129–133). Birmingham, England. International Pig Veterinary Society.
- Brennan, M. L., & Christley, R. M. (2012): Biosecurity on Cattle Farms: A Study in North-West England. *PLoS ONE*, 7(1), e28139. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0028139>
- Browne, C., Loeffler, A., Holt, H., Chang, Y., Lloyd, D., & Nevel, A. (2017): Low temperature and dust favour in vitro survival of *Mycoplasma hyopneumoniae*: time to revisit indirect transmission in pig housing. *Lett Appl Microbiol.*, 64(1), 2–7. DOI: <https://doi.org/10.1111/lam.12689>
- Búza, L. (2022): Külső-belső járványvédelem. 2022. március 23. előadás
- Cochrane, R. A., Schumacher, L. L., Dritz, S. S., et al. (2017): Effect of pelleting on survival of porcine epidemic diarrhea virus-contaminated feed. *J Anim Sci.*, 95(3), 1170–1178. DOI: <https://doi.org/10.2527/jas.2016.0961>
- Dee, S. A., Deen, J., Otake, S., et al. (2004): An experimental model to evaluate the role of transport vehicles as a source of transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus to susceptible pigs. *Can J Vet Res.*, 68, 128–133.
- Dewulf, J., Van Immerseel, F., Acco, editors. (2019): *Biosecurity in animal production and veterinary medicine*. Lovaina: Leuven Publishers. DOI: <https://doi.org/10.1079/9781789245684.0000>
- Dione, M., Masembe, C., Akol, J, et al. (2018): The importance of on-farm biosecurity: Sero-prevalence and risk factors of bacterial and viral pathogens in smallholder pig systems in Uganda. *Acta Trop.*, 187, 214–221. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2018.06.025>
- Dou, S., Gadonna-Widehem, P., Rome, V., Hamoudi, D., Rhazi, L., Lakhal, L., Larcher, T., Bahi-Jaber, N., Pinon-Quintana, A., Guyonvarch, A., Huërou-Luron, I. L., & Abdennebi-

- Najar, L. (2017): Characterisation of Early-Life Fecal Microbiota in Susceptible and Healthy Pigs to Post-Weaning Diarrhoea. *PLoS ONE*, 12(1), e0169851. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169851>
- Duncan, A. L. (1990): Health security in cattle herds. *Practice*, 12(1), 29–32. DOI: <https://doi.org/10.1136/inpract.12.1.29>
- Eriksen, E. O., Kudirkiene, E., Christensen, A. E., Agerlin, M. V., Weber, N. R., Nodtvedt, A., Nielsen, J. P., Hartmann, K. T., Skade, L., Larsen, L. E., Pankoke, K., Olsen, J. E., Jensen, H. E., & Pedersen, K. S. (2021): Post-weaning diarrhea in pigs weaned without medicinal zinc: risk factors, pathogen dynamics, and association to growth rate. *Porc Health Manag*, 7, 54. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40813-021-00232-z>
- Farez, S., & Morley, R. S. (1997): Potential animal health hazards of pork and pork products. *Rev. Sci. Tech.*, 16(1) 65–78. DOI: <https://doi.org/10.20506/rst.16.1.992>
- Filippitzi, M. E., Brinch Kruse, A., Postma, M., et al. (2018): Review of transmission routes of 24 infectious diseases preventable by biosecurity measures and comparison of the implementation of these measures in pig herds in six European countries. *Transbound Emerg Dis.*, 65, 381–398. DOI: <https://doi.org/10.1111/tbed.12758>
- Garza-Moreno, L., Segalés, J., Pieters, M., et al. (2017): Survey on *Mycoplasma hyopneumoniae* gilt acclimation practices in Europe. *Porc Health Manag.*, 3, 21. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40813-017-0069-y35>
- Gelaude, P., Schlepers, M., Verlinden, M., et al. (2014): Biocheck.UGent: A quantitative tool to measure biosecurity at broiler farms and the relationship with technical performances and antimicrobial use. *Poultry Sci.*, 93(11), 2740–2751. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04002>
- Gosling, R. J. (2018): A review of cleaning and disinfection studies in farming environments *Livestock*, 23(5), *Farm Practice*, DOI: <https://doi.org/10.12968/live.2018.23.5.232>
- Isomura, R., Matsuda, M., & Sugiura, K. (2018): An epidemiological analysis of the level of biosecurity and animal welfare on pig farms in Japan and their effect on the use of veterinary antimicrobials. *J. Vet. Med. Sci.*, 80(12) 1853–1860. DOI: <https://doi.org/10.1292/jvms.18-0287>
- Kim, Y., Yang, M., Goyal, S. M., et al. (2017): Evaluation of biosecurity measures to prevent indirect transmission of porcine epidemic diarrhea virus. *BMC Vet. Res.*, 13, 89. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12917-017-1017-4>
- Lowe, J., Gauger, P., Harmon, K., et al. (2017): Role of transportation in spread of porcine epidemic diarrhea virus infection, United States. *Emerg Infect Dis.*, 20(5), 872–874. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2005.131628>
- Maes, D., Van Soom, A., Appeltant, R., et al. (2016): Porcine semen as a vector for transmission of viral pathogens. *Theriogenol.*, 85(1), 27–38. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2015.09.046>
- Makovska, I., Chantziaras, I., Caekebeke, N., Dhaka, P., & Dewulf, J. (2024): Assessment of Cleaning and Disinfection Practices on Pig Farms across Ten European Countries. *Animals*, 14(4), 593. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani14040593>
- Otake, S., Dee, S., Corzo, C., et al. (2010): Long-distance airborne transport of infectious PRRSV and mycoplasma hyopneumoniae from a swine population infected with multiple viral variants. *Vet Microbiol.*, 145(3–4), 198–208. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.03.028>
- Otake, S., Dee, S. A., Rossow, K. D., et al. (2002): Transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus by fomites (boots and coveralls). *Swine Health Prod.*, 10, 59–65. DOI: <https://doi.org/10.54846/jshap/329>

- Pilchard, E. J. (1965): Experimental transmission of transmissible gastroenteritis virus by starlings. *Am J Vet Res.*, 114. 1177–1179.
- Pitkin, A., & Deen, J., Dee, S. (2009): Further assessment of fomites and personnel as vehicles for the mechanical transport and transmission of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. *Can J Vet Res.*, 73, 298–302.
- Rajao, D. S., Vincent, S. L., & Perez, D. R. (2019): Adaptation of Human Influenza Viruses to Swine. *Front. Vet. Sci.*, 5, 347. DOI: <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00347>
- Robinson, W. (2005): *Urban insects and arachnids: A handbook of urban entomology.* Cambridge: Cambridge University Press; 2005. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511542718>
- Román, A. V., Lukešová, D., Novák, P., et al. (2006): Biosecurity in pig breeding herds. *Agric Trop Subtrop.*, 39, 120–123.
- Scollo, A., Perrucci, A., Stella, M. C., Ferrari, P., Robino, P., & Nebbia, P. (2023): Biosecurity and Hygiene Procedures in Pig Farms: Effects of a Tailor-Made Approach as Monitored by Environmental Samples. *Animals*, 13(7), 1262. DOI: <https://doi.org/10.3390/ani13071262>
- Torremorell, M., Geiger, J. O., Thompson, B., et al. (2004): Evaluation of PRRSV outbreaks in negative herds. *Proc Int Pig Vet Soc.*, 1, 103.
- Wenke, C., Pospiech, J., Reutter, T., et al. (2017): Efficiency of different air filter types for pig facilities at laboratory scale. *PLoS One.*, 12(10), e0186558. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186558>



FATTY TISSUE OF MANGALITSA IN THE FUNCTION OF HUMAN HEALTH

Radović Čedomir¹, Radojković Dragan², Parunović Nenad³, Živković Vladimir¹, Stojiljković Nenad¹, Petrović Aleksandra¹, Gogić Marija¹

¹Institute for Animal Husbandry, 11080, Belgrade - Zemun, Republic of Serbia

²University of Belgrade, Faculty of Agriculture, 11080, Belgrade - Zemun, Republic of Serbia

³Institute of Meat Hygiene and Technology, 11000, Belgrade, Republic of Serbia

ABSTRACT

The study included 24 fatteners of Swallow-Belly Mangalitsa reared in different rearing and feeding/nutrition conditions. In the samples of the two groups (G1 and G2) of pigs, subcutaneous backfat tissue (SFT) was examined for the chemical composition and fatty acid concentrations. The obtained results of the analyses of solid fatty tissue show that the average share of protein and fat in samples of solid fatty tissue was $1.62 \pm 0.36\%$ and $87.57 \pm 6.50\%$ for G1 and $1.31 \pm 0.10\%$ and $91.07 \pm 1.43\%$ for G2. The determined difference in the share of protein and fat was highly statistically significant ($P < 0.0001$). The same level of significance was determined for the proportion of linoleic (LA, 18:2 n-6) MUFA, PUFA and n-6 fatty acids ($P < 0.0001$). The determined proportion of water was higher in the G1 group (4.94%) compared to G2 (4.44%), while the proportion of palmitoleic acid (PA, 16:1) was lower in the G1 group compared to G2 (3.01: 4.07%). The determined differences for both traits were statistically significant ($P < 0.05$). No statistically significant difference was found for the share of ash and the share of other fatty acids, SFA, n-3 and n-6/n-3 ($P > 0.05$). In the research, it was determined that the animals from the G2 group had a higher share of n-3 fatty acids (2.48%) compared to the animals from the G1 group (1.87%) and that the determined n-6/n-3 ratio was better in the G2 group compared to the G1 group (4.97:7.83). The best omega-6: omega-3 ratio should be 2:1. Humans get too much omega-6 in the diet and it's usually 5:1 to 10:1 in the human diet. Studies show that lowering the ratio of omega-6 (from vegetable oils) to omega-3 (from fatty fish, meat, fats and some vegetable oils) fatty acids is important for the reduction of the risk of developing malignant and cardiovascular diseases, inflammatory conditions and some forms of depression.

INTRODUCTION

Animal genetic resources, as a part of nature's biological diversity, have been developed through the domestication of wild species by mankind for mankind. Today's species of domestic animals have been shaped through selection, random genetic changes (genetic drift), and mutations, and they carry different phenotypes and genotypes. Their adaptive and productive potential varies from region to region due to changes in the set of genes they carry. These genetic variations accumulated over years of domestication in different places represent a resource for developing new strategies to combat environmental stress and face new production challenges. Agricultural biodiversity is the product of

thousands of years of human activity in which people try to meet needs in a wide range of social, climatic and ecological conditions. Well-adapted and developed livestock production is an essential element of the agricultural production system and is of key importance for the food security of the population. The preservation and improvement of animal husbandry, animal genetic diversity, the preservation of locally adapted (autochthonous) and the development of new breeds, as well as the preservation of genetically diverse populations, provide society with a greater range of options to meet future challenges and the development of agriculture (Radović et al., 2019a). In addition to the genotype, the diet and pig-rearing method are the most important factors affecting the quality of meat and fat tissue. The diet must be, first of all, balanced in a way to maximize the genetic potential of the animal during fattening.

The Mangalitsa, a fatty type of pig, is an autochthonous swine breed in Serbia, where it has been present for more than 100 years. Today, breeding Mangalitsa pigs are commercialized by processing high-quality meat into products to attract growing interest in food production and consumer markets. The Mangalitsa pig's future is heavily dependent on whether products derived from it can be used effectively, and whether long-term markets can be secured. Today, consumers not only select meat products according to perceived eating quality and accessible pricing, but they also consider the nutritional value and the ethical meat quality, as well as animal welfare issues and the level of impact on the environment caused by the production system (Parunović et al., 2020). Pigs have the highest level of accumulation of fat tissue in the carcass, of all the species of domestic animals. In the case of newborn piglets, the content of fat tissue in the carcass is only about 2% and its share in the carcass increases with the age of the animal. During the lifetime of pigs, until the end of the fattening period, mainly the subcutaneous fat tissue is accumulated, which on average accounts for 60 to 70% of the total fat tissue in the body; the fat tissue of the body cavities makes up 10 to 15%, and intermuscular fat 20 to 35% (Radović et al., 2019b). Pork fat is healthy and necessary in the human diet. Numerous studies have shown that pork fat has 33% less saturated "bad" fats than butter, twice as many "good" monounsaturated fats and three times the proportion of omega-3 fatty acids. Pork fat is an excellent source of vitamin B and minerals. Research by Staniewski et al. (2021) shows that butter made in summer has less myristic acid (C14:0) compared to butter made in winter (10.56%:12.74%; for both periods the average of 11.65%) was determined, which is ten times more than the proportion of the mentioned fatty acid (1.17%) determined in subcutaneous adipose tissue (backfat) in Krškopolje pigs (Furman et al., 2010). Oleic acid has multiple positive effects on human life and health (Arsić et al., 2019).

Sunlight exposure in pigs increases the vitamin D content of the loin and may provide an additional source of dietary vitamin D (Larson-Meyer et al., 2017). In addition to the importance of human nutrition, certain fatty acids of fats have an anti-infective effect, and in combination with the root of the comfrey plant, it is used for faster healing of wounds and broken bones. Mangalitsa is mostly grown extensively and/or semi-intensively. The meat and fat of these animals have a significant proportion of essential fatty acids and have an excellent taste, especially in cured products such as salami and hams. Mangalitsa

is considered a delicacy, and its rearing is becoming increasingly popular due to sustainable methods and traditional production (Migdal et al. 2018).

MATERIALS AND METHODS

The study included 24 fatteners of Swallow-Belly Mangalitsa reared in a free-range system with different feeding/nutrition conditions. The first group (G1, n = 12) was reared in the open system, and nutrition consisted of pasture, many different types of fruit (apple, plum, mulberry), and roots, with the addition of small amounts of addition bread from the bakery (to 0.3 kg/animal/day). During night and poor weather conditions, animals were kept in a facility of solid material (brick and concrete). The second group (G2, n = 12) was reared in the open system, in the wood, and nutrition consisted of pasture, roots, and oak acorn, with the addition of small amounts of corn (to 0.3 kg/animal/day). During the night and in poor weather conditions, animals were kept in a wooded area. Pigs with a body weight between 90 kg and 120 kg were transported at the end of the trial, in the morning, to the slaughterhouse. On the slaughter line, samples of subcutaneous adipose tissue (the back fat, SFT) were taken at the last rib for analysis.

The following measurements were taken of the chemical composition of the SFT of the pigs: protein, water, total fat, ash and fatty acid concentrations. Chemical composition was determined by following methods defined by the AOAC (*Association of Official Analytical Chemists*, 2016). To determine the concentration of fatty acids, total lipids were extracted by a rapid extraction method, using solvents on the Dionex ASE 200. A homogenized sample, mixed with diatomaceous earth, was extracted with a mixture of hexane and isopropanol (60:40 v/v) in a 33 mL extraction cell at 100 °C and under nitrogen pressure of 10.3 MPa. The extract thus obtained was steamed in a nitrogen flow at 50 °C until dry fat remains were obtained (Spiric et al., 2010). Fatty acids as methyl esters were detected by capillary gas chromatography with a flame ionization detector. A pre-determined quantity of lipid extracts, obtained by the rapid extraction method, was dissolved in tert-butyl methyl ether. Fatty acids were converted to fatty acids methyl esters (FAME) with trimethylsulfonium hydroxide, according to the SRPS EN ISO 5509:2007 method. FAMES were analysed with a GC-FID Shimadzu 2010 device (Kyoto, Japan) on a cyanopropyl-aryl column HP-88 (column length 100, internal diameter 0.25 mm, film thickness 0.20 µm). The injected volume was 1 µL. The temperatures of the injector and detector were 250 °C and 280 °C, respectively. Nitrogen was used as a carrier gas, 1.33 mL min⁻¹, with a split ratio of 1:50, while hydrogen and air were used as detector gases. The temperature of the column furnace was programmed to range between 120 °C and 230 °C. The total duration of the analysis was 50.5 min. Methyl esters of acids were identified according to their retention times, which were compared with those of the mixture of methyl esters of fatty acids in the standard Supelco 37 Component FAME mix (Spiric et al., 2010). Descriptive statistics were calculated using the SAS software package (SAS, Inst. Inc. 2011: The SAS System for Windows, Release 9.4.) using the MEANS procedure. To determine the differences between groups of animals, the statistical procedure TTEST was used, also within the SAS software package (SAS, Inst. Inc. 2011: The SAS System for Windows, Release 9.4.).

RESULTS AND DISCUSSION

Analysing the basic chemical composition of the subcutaneous backfat tissue (Table 1), we see that the proportion of animal fat tissue from the G2 rearing system is 91.10% which is higher than the determined proportion of fat in animals reared in the G1 rearing system, where it was 87.57%. The determined difference is statistically highly significant ($P < 0.0001$). The same level of significance is determined for the proportion of protein between animals of G1 and G2 rearing systems (1.62%:1.31%). A significantly higher ($P < 0.05$) proportion of water is found in the animals of the G1 rearing system compared to the animals of the G2 system (4.94%:4.44%).

Table 1 Chemical composition of the fat tissue

Fat properties	G1	G2	<i>P</i> -value ^a
Number of observations (n)	12	12	
Share of protein, %	1.62 ± 0.36	1.31 ± 0.10	***
Share of water, %	4.94 ± 1.35	4.44 ± 0.74	*
Share of total fat, %	87.57 ± 6.50	91.10 ± 1.43	***
Share of ash, %	0.004 ± 0.002	0.005 ± 0.003	NS

^a significance level for rearing system; NS – not significant; * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; G1 and G2 groups differed in their environment and feed, having mainly pasture and fruits vs pasture and oak acorn

In Table 2, the 8 most important fatty acids (FAs) with the highest percentage in each identified group of FAs were presented. In addition, the following ratios and indices were calculated (n-6/n-3). The determined difference for the share of linoleic (LA, 18:2 n-6) monounsaturated fatty acids (MUFA), polyunsaturated fatty acids (PUFA) and n-6 fatty acids ($P < 0.0001$). The proportion of palmitoleic acid (PA, 16:1) was lower in the G1 group compared to G2 (3.01:4.07%). The determined differences were statistically significant ($P < 0.05$). No statistically significant difference was found for the share of other fatty acids, SFA, n-3 and n-6/n-3 ($P > 0.05$).

Table 2 Fatty acid composition (%) content (mg kg⁻¹) of the fat tissue

Fat properties	G1	G2	P-value ^a
Number of observations	12	12	
C14:0	2.58 ± 0.79	3.87 ± 1.06	NS
C16:0	27.97 ± 4.12	29.77 ± 5.18	NS
C16:1	3.01 ± 2.57	4.07 ± 1.24	*
C18:0	11.57 ± 3.38	9.89 ± 2.96	NS
C18:1 n-9	39.08 ± 2.52	35.89 ± 2.62	NS
C18:2 n-6	9.61 ± 1.89	10.13 ± 5.85	***
C18:3 n-3	ND ^b	ND	NS
C20:3 n-3	0.75 ± 0.68	1.16 ± 0.85	NS
SFA	45.50 ± 3.12	50.80 ± 5.50	NS
MUFA	42.73 ± 2.66	36.57 ± 8.85	***
PUFA	11.76 ± 2.22	12.62 ± 6.25	***
n-6	9.61 ± 1.89	10.13 ± 5.85	***
n-3	1.87 ± 1.47	2.48 ± 1.24	NS
n-6/n-3	7.83 ± 570	4.97 ± 4.77	NS

^a significance level for rearing system NS – not significant; * p < 0.05; ** p < 0.01; *** p < 0.001; ^b ND – not detected; SFA - saturated fatty acids, MUFA - monounsaturated fatty acids, PUFA – polyunsaturated fatty acids, n-6/n-3 ratio was calculated; G1 and G2 groups differed in their environment and feed, having mainly pasture and fruits vs pasture and oak acorn

In the research, it was determined that the animals from the G2 group had a higher share of n-3 fatty acids (2.48%) compared to the animals from the G1 group (1.87%), and that the determined n-6/n-3 ratio was better in the G2 group compared to the G1 group (4.97:7.83). The results of our research on the proportion of fat in the subcutaneous backfat tissue are similar to the research of Parunović et al., 2020 for Mangalitsa cattle reared in the free system with available acorns in the diet (91.10:90.75%). The aforementioned group of authors determined a higher proportion of water (6.96:4.44) and a higher proportion of protein in fat tissue (2.30:1.31%) compared to our research. For the mentioned traits, they determined a significant difference between free-range reared Mangalitsa pigs compared with the conventionally reared group (P < 0.001). In the same study for animals reared in the free system and had acorns in their diet, they had a lower proportion of C14:0, C16:0, C16:1, saturated fatty acids (SFA) (42.11:50.80%) and PUFA (8.27:12.62%) and a higher share was determined for C18:1n-9 (45.55:35.89%), C18:2n-6 (14.65:10.13%) and MUFA (55.66:36.57%). Furman et al., (2010) found a significantly higher proportion of oleic acid (C18:1n-9) in the intermuscular fat in the autochthonous breed of Krškopolje pigs compared to our research (43.27:39.08 and 35.89%). In the same research, they determined for commercial meaty fatteners in Slovenia the share of oleic acid of 37.74%. Also, in their research, a higher proportion of linoleic (C18:2n-6; 11.28%) was determined for Krškopolje pigs compared to our research. For the Italian local pig breed Cinta Senese reared outdoors Pugliese et al., (2005) found a lower proportion of C14:0, C16:0, C18:0 and SUFA (31.40:50.80%) in the subcutaneous fat tissue and a higher proportion of MUFA compared to our research (55.08:36.57%). Also in the samples of East Balkan pigs of the inner and outer backfat layer, taken at the last

rib, Popova et al., 2015 determined a lower proportion of C14:0, C16:0, C18:0 and SUFA a higher proportion of MUFA and PUFA compared to our research. For the Prestice Black-Pied pig, fed with complete mixtures with SFA 33.69, MUFA 37.12 and PUFA 29.19 (g/100 g of total fatty acids) of diets, Nevrla et al., 2017 established in the samples of the backfat (g/100 g of total fatty acids) of SFA 39.93, MUFA 46.55 and PUFA 13.52. In the samples of fatty tissue of the lumbar part, Catilo et al., 2021 determined for Italian Large White animals the highest proportion of oleic fatty acid of 38.71% in samples from animals with the lowest fleshiness score (class 0), with less about our research for animals from the G1 group (+0.37%) and more with the animals of the G2 rearing system by (-2.82%).

As a summary the obtained results the obtained results of the analyses of solid fatty tissue show that the average share of protein and fat in samples of solid fatty tissue was $1.62 \pm 0.36\%$ and $87.57 \pm 6.50\%$ for G1 and $1.31 \pm 0.10\%$ and $91.07 \pm 1.43\%$ for G2. The determined difference in the share of protein and fat was highly statistically significant ($P < 0.0001$). The same level of significance was determined for the proportion of linoleic (LA, 18:2 n-6) MUFA, PUFA and n-6 fatty acids ($P < 0.0001$). The determined proportion of water was higher in the G1 group (4.94%) compared to G2 (4.44%), while the proportion of palmitoleic acid (PA, 16:1) was lower in the G1 group compared to G2 (3.01:4.07%). The determined differences for both traits were statistically significant ($P < 0.05$). No statistically significant difference was found for the share of ash and the share of other fatty acids, SFA, n-3 and n-6/n-3 ($P > 0.05$). In the research, it was determined that the animals from the G2 group had a higher share of n-3 fatty acids (2.48%) compared to the animals from the G1 group (1.87%) and that the determined n-6/n-3 ratio was better in the G2 group compared to the G1 group (4.97:7.83).

The best omega-6: omega-3 ratio should be 2:1. Humans get too much omega-6 in the diet and it's usually 5:1 to 10:1 in the human diet. Studies show that lowering the ratio of omega-6 (from vegetable oils) to omega-3 (from fatty fish, meat, fats and some vegetable oils) fatty acids is important for the reduction of the risk of developing malignant and cardiovascular diseases, inflammatory conditions and some forms of depression. Saturated fats are stable at high temperatures and therefore there is less danger of ominous trans-fats with higher saturation in the fat composition. Saturated fatty acids are essential in our diet for the central nervous system and cell membranes. The most famous mono-unsaturated fatty acid, which is the trademark of the healthiest oil of the Mediterranean diet - olive oil, which all cardiologists zealously recommend, namely oleic acid - has been proven to reduce "bad" cholesterol-LDL, and "support" good-HDL cholesterol. The WHO (2003) recommended the consumption of 5–8% of n-6 PUFA, 1–2% of n-3 PUFA of lesser value (4% of n-6 PUFA, 0.8% n-3 PUFA) in 2001, as later stated by French Agency for Food Safety (Scientific Opinion, 2009).

In developing countries where children may be in an energy deficit, and where it is planned to increase the energy density of the diet with fats and oils, every encouragement should be given to the development of indigenous oils that are more physiologically balanced in terms of linoleic and linolenic acids rather than importing linoleic acid rich oils which dominate the Western markets.

Similarly, developing countries need to guard against importing food products that are rich in atherogenic and thrombogenic fats and do not provide a balance of essential fatty acids (FAO, 2010). In the human diet, it is necessary to have well-balanced meals and be moderate in diet even when it comes to the healthiest nutrients.

CONCLUSION AND RECOMMENDATION

Our study has confirmed that rearing conditions and feed basis could make difference in body composition and fatty acid profile of Mangalitsa. Pigs kept in wooded area and fed with parture and oak acorn mainly, exhibited a significantly higher fat content, lower protein content, and a more favorable omega-6 to omega-3 (n-6/n-3) fatty acid ratio than pigs kept in pastutre and fed fruits and roots (4.97 vs. 7.83). Additionally, wooded area kept pigs had higher levels of n-3 fatty acids, including beneficial polyunsaturated fats, which are associated with reduced risks of cardiovascular disease, cancer, inflammation, and depression. These results suggest that Mangalisa kept in wooded area, rather than fed fruits, offers a more nutritionally advantageous fatty acid profile, making it potentially more beneficial for human health.

ACKNOWLEDGEMENT

This research was funded by the Ministry of Science, Technological Development and Innovation of the Republic of Serbia, Agreement on the realization and financing of scientific research work of SRO 451-03-66/2024-03/200022; 451-03-65/2024-03/200116 and 451-03-66/2024-03/200050.

REFERENCES

- Arsić, A., Stojanović A., & Mikić M. (2019): Oleic acid - health benefits and status in plasma phospholipids in the Serbian population. *Serbian Journal of Experimental and Clinical Research*, 20(2), 3–8. DOI: <https://doi.org/10.1515/sjecr-2017-0077>
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC) (2016): Official methods of analysis of the AOAC. 20th ed. Arlington (VA): AOAC.
- Catillo, G., Zappaterra, M., Lo Fiego, D. P., Steri, R., & Davoli, R. (2021): Relationships between EUROP carcass grading and backfat fatty acid composition in Italian Large White heavy pigs. *Meat Science*, 171, 108291. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108291>
- FAO (2010): Fats and Fatty Acids in Human Nutrition. Report of an Expert Consultation. FAO Food and Nutrition paper, 91, 1–166.
- Furman, M., Malovrh Š., Levart A., & Kovač M. (2010). Fatty acid composition of meat and adipose tissue from Krškopolje pigs and commercial fatteners in Slovenia. *Arch. Anim. Breed.*, 53(1), 73–84. DOI: <https://doi.org/10.5194/aab-53-73-2010>
- Larson-Meyer, D. E., Ingold, B. C., Fensterseifer, S. R., Austin, K. J., Wechsler, P. J., Hollis, B. W., Makowski, A. J., & Alexander, B. M. (2017): Sun exposure in pigs increases the vitamin D nutritional quality of pork. *PLoS ONE*, 12(11), e0187877. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187877>
- Migdał, Ł., Radović, Č., Živković, V., Gogić, M., Migdał, A., & Migdał W., (2018): Characterization of meat traits and fatty acids profile from Swallow-Belly Mangalitsa, Moravka

- pigs and their crossbreeds, *Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW Animal Science*, Warsaw University of Life Sciences Press, 57(4), 365–378. DOI: <https://doi.org/10.22630/AAS.2018.57.4.36>
- Nevrkla, P., Kapelański, W., Václavková, E., Hadaš, Z., Cebulska, A., & Horký, P. (2017): Meat quality and fatty acid profile of pork and backfat from an indigenous breed and a commercial hybrid of pigs. *Annals of Animal Science*, 17(4), 1215–1227. DOI: <https://doi.org/10.1515/aoas-2017-0014>
- Parunović, N., Đorđević, V., Radović, Č., Savić, R., Karabasil, N., Trbović, D., & Ćirić, J. (2020): Effect of rearing system on carcass properties, chemical content and fatty acid composition of backfat from Mangalitsa pigs. *Meat technology*, 67(1), 37–43. DOI: <https://doi.org/10.18485/meattech.2020.61.1.2>
- Popova, T., Nakev, J., & Marchev Y. (2015): Fatty acid composition of subcutaneous and intramuscular adipose tissue in east Balkan pigs. *Biotechnology in Animal Husbandry*, 31(4), 543–550. DOI: <https://doi.org/10.2298/BAH1504543P>
- Pugliese, C., Bozzi, R., Campodoni, G., Acciaioli, A., Franci, O., & Gandini G. (2005): Performance of Cinta Senese pigs reared outdoors and indoors. 1. Meat and subcutaneous fat characteristics. *Meat Science*, 69(3), 459–464. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.09.001>
- Radović, Č., Gogić, M., Katanić, N., Novaković, M., Radojković, D., Terzić, N., & Savić, R. (2019): The share of tissues in the pig round depending on the genotype, gender and season, *Biotechnology in Animal Husbandry*, 35(4), 367–375. DOI: <https://doi.org/10.2298/BAH1904367R>
- Radović, Č., Gogić, M., Radojković, D., Živković, V., Parunović, N., Stanojković, A., & Savić, R. (2019): Agro biodiversity and livestock farming: autochthonous species and breeds in Serbia. *Proceedings of the 12th International Symposium Modern Trends in Livestock Production*, 9–11. Oct, 2019. Belgrade, 1–12.
- Radović, Č., Petrović, M., Parunović, N., Radojković, D., Savić, R., Stanišić, N., & Gogić, M. (2017): Carcass and pork quality traits of indigenous pure breeds (Mangalitsa, Moravka) and their crossbreeds. *Indian Journal of Animal Research*, 51(2), 371–376.
- SAS, Inst. Inc. (2011): *The SAS System for Windows*, Release 9.4. Cary, NC.
- Scientific Opinion of the Panel on Dietetic products (2009): Nutrition and Allergies on a request from European Commission related to labelling reference intake values for n-3 and n-6 polyunsaturated fatty acids. *The EFSA Journal*, 1176, 1–11.
- Spirić, A., Trbović, D., Vranić, D., Djinović, J., Petronijević, R., & Matekalo-Sverak, V. (2010): Statistical evaluation of fatty acid profile and cholesterol content in fish (common carp) lipids obtained by different sample preparation procedures. *Analytica Chimica Acta*, 672(1–2), 66–71. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2010.04.052>
- Staniewski, B., Ogrodowska, D., Staniewska, K., & Kowalik J. (2021): The effect of triacylglycerol and fatty acid composition on the rheological properties of butter. *International Dairy Journal*, 114, 104913. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104913>
- World Health Organization (2003): *Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases*. Report of joint WHO/FAO expert consultation. WHO technical report series 916, Geneva.



LISZTKUKAC- (*TENEBRIO MOLITOR*-) LISZT HATÁSA BROJLERCSIRKE TERMELÉSI PARAMÉTEREIRE

Tóth Márk^{1,2}, Sipiczki Ilka¹, Ancsin Zsolt¹, Zándoki Erika¹, Balogh Krisztián Milán¹, Kulcsár Szabina¹, Kövesi Benjamin¹, Mézes Miklós¹, Podmaniczky Béla³, Balláné Erdélyi Márta¹

¹Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.

²Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Állattenyésztési Tudományok Intézet, Állattenyésztés-technológiai és Állatjólléti Tanszék, 2100 Gödöllő, Páter Károly út 1.

³AgriSearch Hungary Kft, 2119 Pécel, Hősök útja 85.

ÖSSZEFOGLALÁS

A baromfifajok takarmányozásában az elsődleges termelési költséget a fehérjeforrások jelentik. A jó minőségű fehérjehordozók (extrahált szójadara, halliszt) alkalmazása kiemelt fontosságú, azonban ezen alapanyagok költsége folyamatosan emelkedik, továbbá a termelési lánc fenntarthatósága egyre kritikusabb kérdéssé válik. Ezen kihívások miatt a különböző eredetű rovarfehérjék potenciális alternatívaként merülhetnek fel. Kísérletünkben liszt kukacból (*Tenebrio molitor*) származó rovarlisztet alkalmaztunk 2% (LK2) és 4% (LK4) bekeverési arányban brojlercsirkék takarmányában, és vizsgáltuk annak hatását a termelési paraméterekre és egyes vágási paraméterekre. Az eredmények alapján a liszt kukacliszt potenciális fehérjeforrás lehet brojlercsirkék számára, ugyanis a termelési mutatókban egyik bekeverési arány sem okozott a termelésben minőségi csökkenést. A 4%-os bekeverési arányban pedig pozitív hatást gyakorolt a napi átlagos testtömeggyarapodásra ($p < 0,05$). A relatív combtömeg és a szervtömegek (máj, zúza) tekintetében nem mutatkozott szignifikáns különbség ($p > 0,05$). Ugyanakkor a liszt kukacliszt pozitív hatást gyakorolt ($p < 0,001$) a mellhús kihozatali arányára (LK2: 29,2% és LK4: 29,4%), összehasonlítva a kontrollcsoporttal (K: 27,6%).

ABSTRACT

Protein sources represent the primary production costs in poultry diets. The use of high-quality protein feedstuffs (such as soybean meal and fishmeal) is important. As the prices of these feed ingredients are continuously increasing, and the sustainability of the production chain has become critical, insect proteins from various sources may serve as a potential substitute for these ingredients. In our experiment, the broiler chicken diets were supplemented with mealworm (*Tenebrio molitor*) meal at 2% (LK2) and 4% (LK4) inclusion rates and we studied the production parameters and some slaughter traits. The results indicate that mealworm meal can be a potential protein source for broiler chickens. The mealworm meal had no negative effect on the performance (body weight, weight gain, feed intake, feed efficiency). At a 4% inclusion rate, a significant positive effect was observed on average daily weight gain ($p < 0.05$). No significant differences were observed in relative thigh and organ weights (liver, gizzard) ($p > 0.05$). However, in the experimental groups, mealworm meal had a positive effect ($p < 0.001$) on breast meat yield (LK2 – 29.2%, LK4 – 29.4%) compared to the control group (C-27.6%).

BEVEZETÉS

A baromfitermékek piaca világszerte növekszik (Korver 2023). A takarmányokban található fehérjeforrások jelentik a baromfitakarmányok elsődleges termelési költségeit (FAO, 2013). Az extrahált szójadara a leggyakrabban használt növényi fehérjeforrás a brojlercsirkék és tojóttyúk takarmányának összeállításában, a magas fehérjetartalom és a megfelelő aminosavprofil miatt. Azonban a termőterületek korlátozott volta és a folyamatosan emelkedő ár miatt ennek az ellátási láncnak a fenntarthatósága egyre nagyobb kihívást jelent (Biasato és mtsai., 2018).

Az extrahált szójadara alternatívájaként a rovarok és rovarból származó termékek az állattenyésztési ágazat fenntarthatóságának javítására legalább részben alkalmasak lehetnek, mivel számos ígéretes tulajdonsággal rendelkeznek: a rovarfarmok korlátozott helyet igényelnek, lehetőség van a vertikális termelésre, rövid életciklussal rendelkeznek, alacsony vízigényűek (a szükséges vizet gyakran közvetlenül a biztosított táplálék-alapanyagokból ki tudják nyerni), valamint bizonyos fajok alkalmasak a tömeges tenyésztésre is (Smetana és mtsai., 2021). Táplálkozási szempontból a rovarok nagy biológiai értékű fehérjetartalommal, jó minőségű lipidekkel, megfelelő ásványi anyaggal, vízben oldódó vitamin-készlettel rendelkeznek, emellett több specifikus hatású vegyületet, például kitint és antimikrobiális peptideket tartalmaznak (Koutsos és mtsai., 2023). Az Európai Unióban a jelenlegi jogszabályok nyolc tenyésztendő rovarfaj használatát engedélyezik élelmiszer-termelő állatok takarmányozásában történő felhasználásra (Commission Regulation (EU), 2021), ezek egyike a lisztukac (*Tenebrio molitor*). Jelenleg azonban limitált számú információ áll rendelkezésünkre, ezen rovarfajból készült teljes zsírtartalmú lisztek brojlercsirkével való etetésével kapcsolatban. Jelen tanulmány célja a termelési paraméterek, valamint a húskihozatal alakulásának vizsgálata volt szexált kakasállományban lisztukac liszt-tartalmú (0; 2; 4%) keveréktakarmány etetése esetén.

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletet az AgriSearch Hungary Kft.-nél végeztük. Az állatok gondozása az állatkísérletekre vonatkozó, az Európai Irányelv 2010/63/EU-ban foglalt irányelveknek (Európai Bizottság, 2010), valamint a magyar jogszabályoknak (32/1999. /III. 31./ és 178/2009. /XII. 29./) megfelelően történt. Összesen 1050 db napos Ross 308 szexált brojlercsirke kakas vett részt a kísérletben, amelyeket helyi kereskedelmi keltetőből szereztünk be. A csibéket Newcastle-betegség, fertőző hörghurut, fertőző bursitis és baromfihimlő ellen vakcinázták a keltetőben. Az érkezést követően véletlenszerűen három kezelési csoportba osztottuk őket, mindegyik kezelés 14 ismétlésből állt (25 állat/ismétlés). A fülkék alapterülete 2,5 m² volt (10 madár/m²), melyekben 8 cm vastagságban faforgács került szétterítésre. A madarak számára a víz és a takarmány *ad libitum* hozzáférése biztosítva volt. A tartástechnológia, a hőmérséklet és világítási program az AVIAGEN Ross 308 tartási útmutatójának irányelvei alapján kerültek meghatározásra. A kontrollcsoport kereskedelmi, kukorica-szója-alapú baromfi-keveréktakarmányt kapott (K). A kísérleti csoportokban ennek a kontrolltakarmánynak az összetétele változott úgy, hogy 2% (LK-2%), illetve 4% (LK-4%) lisztukac liszt került

bekeverésre, miközben a nyersfehérje, emészthető aminosav és metabolizálható energia koncentrációja változatlan maradt. A 42 napos nevelési időszak teljes ideje alatt egy keveréktakarmányt fogyasztottak (Vitafort Zrt., Dabas).

A kísérlet során a csirkék egyedi testtömegét hetente mértük (1., 7., 14., 21., 28., 35., 42. nap). Minden fülke heti takarmányfogyasztása rögzítésre került. A testtömeg-gyapodást és a takarmányértékesítést pedig kalkulált értéként kaptuk meg fülkénként. A 42. életnapon kezelési csoportonként 28 csirke (2 csirke/ismétlés) került kiválasztásra, majd vágásra. A fej, nyak, láb, hasi zsír és belső szervek eltávolítása után megmértük a test tömegét (a grilltömeget). Darabolást követően mértük a máj, zúza, mell és combok tömegét, majd a grilltömeghez viszonyítva fejeztük ki százalékos arányukat. Statisztikai értékeléshez SAS 9.1.3 programot használtunk.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A három csoportban az átlagos testsúly hasonlóan alakult a teljes nevelési időszakban (1. táblázat). A csirkék kezdeti testsúlya megegyezett mindhárom csoportban (átlagosan 41 g/egyed), és a 42. napra minden csoport átlagos testsúlya elérte a 2400 g-ot. A legnagyobb mértékű eltérés a csoportok átlagos testsúlyadatai között a 14. napon mutatkozott, amikor az LK-4% csoport értéke (429 g) szignifikánsan ($p < 0,05$) meghaladta az LK-2% csoportét (419 g).

A testsúlygyarapodás tekintetében (1. táblázat) a 2. héten (7–14. nap) szignifikáns különbség mutatkozott a két kísérleti csoport között. Azonban a többi mérési időpontban számottevő eltérés a csoportok között nem volt. A teljes nevelési időszakra vonatkozóan kiszámítva a napi testsúlygyarapodást, mindkét kísérleti csoport felülmúlta a kontroll értékét, azonban a 4% liszt kukacsliszt bekeverése esetén az eltérés már statisztikailag szignifikáns ($p < 0,05$) mértékű volt.

A napi takarmányfelvétel tekintetében a csoportok között nem mutatkozott jelentős eltérés (2. táblázat).

1. táblázat. A liszt kukacsliszt hatása a brojlercsirkék élősúlyára és az átlagos napi súlygyarapodásra

	Kezelés			p-érték
	K	LK-2%	LK-4%	
Élősúly, g				
1. nap	41,3	41,4	41,5	0,40
7. nap	169	169	170	0,73
14. nap	426 ^{ab}	419 ^b	429 ^a	< 0,05
21. nap	826	827	825	0,97
28. nap	1304	1283	1287	0,38
35. nap	1834	1862	1864	0,28
42. nap	2407	2426	2450	0,25
Átlagos napi súlygyarapodás (g/nap)				
1–7. nap	18,3	18,2	18,4	0,74
7–14. nap	36,2 ^{ab}	35,7 ^b	36,9 ^a	< 0,05
14–21. nap	57,6	58,2	56,6	0,28
21–28. nap	68,3	65,2	66,0	0,48
28–35. nap	75,7	82,7	82,5	0,12
35–42. nap	81,9	80,9	84,1	0,70
1–42. nap	55,3 ^b	56,7 ^{ab}	57,4 ^a	< 0,05

K: kontroll, LK-2%: 2% liszt kukacsliszt, LK-4%: 4% liszt kukacsliszt, ^{a,b} A különböző betűvel jelölt értékek között szignifikáns ($p < 0,05$) különbség van

2. táblázat. A lisztlucacliszt hatása a brojlercsirkék takarmányfelvételére és takarmányértékesítésére

	Kezelés			p-érték
	K	LK-2%	LK-4%	
Takarmányfelvétel (g/nap)				
1-7. nap	21,3	21,1	21,1	0,34
7-14. nap	43,7	43,3	43,1	0,50
14-21. nap	82,5	83,1	84,0	0,51
21-28. nap	137	135	135	0,76
28-35. nap	145	147	147	0,68
35-42. nap	189	178	182	0,47
1-42. nap	103	101	102	0,47
Takarmányértékesítés (kg/kg)				
1-7. nap	1,17	1,16	1,15	0,48
7-14. nap	1,21	1,21	1,17	0,07
14-21. nap	1,44	1,43	1,49	0,25
21-28. nap	2,01	2,13	2,07	0,57
28-35. nap	1,93	1,81	1,82	0,45
35-42. nap	2,32	2,23	2,19	0,60
1-42. nap	1,83	1,78	1,78	0,13

K: kontroll, LK-2%: 2% lisztlucacliszt, LK-4%: 4% lisztlucacliszt; szign. szint: $p < 0,05$

A kísérlet teljes időtartamára vonatkoztatott napi takarmányfelvétel pedig szinte teljesen azonos volt a három csoportban.

A takarmányértékesítés tekintetében egyik héten sem mutatkozott szignifikáns különbség a csoportok között (2. táblázat). A teljes kísérleti időszakra vonatkoztatott érték azonban az LK-2% és LK-4% csoportokban hasonlóan (1,78 kg/kg) és a kontrollcsoportnál (1,83 kg/kg) valamivel kedvezőbben alakult, azonban az eltérés nem bizonyult statisztikailag igazolhatónak ($p = 0,13$).

Az 3. táblázatban láthatók a hústermelésre vonatkozó kihozatali arányok. A grilltömeg százalékos aránya (élő súlyra vonatkoztatva) minden csoportban hasonlóan alakult. A mellhús kihozatalra (grilltömegre vonatkoztatva) a lisztlucacliszt pozitív hatást gyakorolt, ugyanis szignifikánsan nagyobb ($p < 0,001$) volt a kísérleti takarmányt fogyasztó állatok esetében (LK-2% (29,4%); LK-4% (29,2%)), mint a kontrollcsoportban (27,6%). A comb százalékos arányában, valamint a relatív szervtömegekben azonban nem találtunk eltérést a csoportok között.

3. táblázat. Lisztlucacliszt hatása brojler csirkék carcass, értékes húsrészek és szerveik relatív százalékos arányára

	Kezelés			p-érték
	K	LK-2%	LK-4%	
Carcass, %	68,8	68,9	68,9	0,26
Mell %, ^{a,b}	27,6 ^b	29,4 ^a	29,2 ^a	< 0,001
Comb, %	30,5	30,5	30,0	0,46
Máj, %	2,14	2,09	2,09	0,84
Zúza, %	1,40	1,38	1,46	0,44

K: kontroll, LK-2%: 2% lisztlucacliszt, LK-4%: 4% lisztlucacliszt,
^{a,b} A különböző betűvel jelölt értékek között szignifikáns ($p < 0,05$) különbség van

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

A rovarliszt 2 illetve 4%-os bekeverése esetén a vizsgált paraméterek egyikében sem tapasztaltunk visszaesést. A lisztlucacliszt 4%-os dózisban használva kedvezően befolyásolhatja ($p < 0.05$) a napi testtömeg-gyarapodást a teljes kísérlet alatt. Valamint a 2, illetve a 4%-os lisztlucaclisztet tartalmazó receptúrák esetében is szignifikánsan nőtt ($p < 0.001$) a mellhús kihozatali aránya.

A jelen tanulmány eredményei azt sugallják, hogy a lisztlucacliszt alternatív fehérjeforrás lehet a brojlercsirkék takarmányában, azonban ennek pontosabb megítélése céljából további kísérletek elvégzésére van szükség a lisztkukac nagyobb arányú bekeverése mellett.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A kísérlet és a publikáció a 2020-1.1.2-PIACI-KFI-2021-00300 számú projekt támogatásával valósult meg.

IRODALOM

- Biasato, I., Gasco, L., De Marco, M., Renna, M., Rotolo, L., Dabbou, S., & Schiavone, A. (2018): Yellow mealworm larvae (*Tenebrio molitor*) inclusion in diets for male broiler chickens: effects on growth performance, gut morphology, and histological findings. *Poultry Science*, 97(2), 540–548. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pex308>
- Commission Regulation (EU). 2021 amending certain Annexes to Regulation (EU) No 142/2011 as regards the requirements for placing on the market of certain insect products and the adaptation of a containment method (Text with EEA relevance).
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2013. Edible insects – future prospects for food and feed security. FAO Forestry Paper 171.
- Korver, D. R. (2023): Review: Current challenges in poultry nutrition, health, and welfare. *animal* 17, 100755. In Selected keynote lectures of the 73rd Annual Meeting of the European Federation of Animal Science (Porto, Portugal). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.animal.2023.100755>
- Koutsos, E. A., Patterson, P. H., Livingston, K. A., & Freel, T. A. (2023): The role of insects for poultry feed: present and future perspective. In *Mass Production of Beneficial Organisms* (pp. 493–509). Academic Press. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822106-8.00002-6>



EGY ROVARFEHÉRJE-KONCENTRÁTUM (*ADALBAPRO*) ETETÉSÉNEK HATÁSA AZ ÉTKEZÉSI TOJÁS MINŐSÉGÉRE

Csiszér Tivadar, Such Nikolett, Kesete Goitom Tewelde, Kiss Brigitta, Pál László,
Dublec Károly

Magyar Agrár- és Élettudományi egyetem Georgikon Campus, Takarmányozástani és Takarmányozás-
élettani Tanszék, 8360 Keszthely, Deák Ferenc u. 16.

ÖSSZEFOGLALÁS

Az *AdalbaPro* (AP) értékes rovarlárva- (*Alphitobius diaperinus*-) fehérjekoncentrátum, melyet elsősorban a humán élelmezésben használnak. Tojótúkokkal végzett kísérletünkben az étkezési tojás minőségére gyakorolt hatását vizsgáltuk. Az egyedi ketrecekben elhelyezett 35 hetes Tetra SL tojótúkokat kontrolltáppal, illetve az AP-t 10, illetve 15%-ban tartalmazó azonos fehérje- és energiatartalmú kísérleti tápokkal etettük. A kísérlet hat hétig tartott, az ismétlésszám 18 volt. A tojástömeget (Wt), a héjszilárdságot (Str), a fehérje magasságát (Ht), a Haugh-egységet (Hu), a tojássárgája színét (Yc), a tojássárgája magasságát (Yh), a tojássárgája átmérőjét (Yd), a tojássárgája-indexet (Yi) hetente egy alkalommal minden tojás esetében automata tojásvizsgáló készülékkel (DET6000) vizsgáltuk. A főtt tojásokat kóstolási próbával is összehasonlítottuk. A tojástömeg mindegyik AP-s kezelés esetében (AP10: 64,55g; AP15: 64,62g) szignifikánsan kisebb volt, mint a kontroll (67,40 g). Egyéb tojás-minőségi paraméter nem változott a kezelések hatására. Nem volt szignifikáns különbség a tojássárgája zsírtartalmában sem. Az érzékszervi bírálók értékelése alapján az AP-s tojások sárgájának preferenciája magasabb volt, mint a kontrolltojásoké. Az elektronikus orr (Alpha MOS Heracles NEO) által detektált aromaprofil alapján pedig jól elkülönült a konvencionális és a rovarlárvafehérje-koncentrátumos kezelésből származó tojás.

ABSTRACT

AdalbaPro (AP) is a valuable insect larvae meal (*Alphitobius diaperinus*), used mainly in human nutrition. Its effect on the quality of table eggs was investigated in this trial. 35-week-old Tetra SL laying hens were fed a control layer diet and two test diets containing AB at 10 and 15%. The isocaloric and isonitrogenous diets were fed in 18 replicates of individually housed hens for 6 weeks. The egg weight (Wt), shell strength (Str), albumen height (Ht), Haugh-unit (Hu), yolk colour (Yc), yolk height (Yh), yolk diameter (Yd), yolk index (Yi) of all eggs were measured weekly with an automatic egg tester (DET6000). At the end the sensory characteristics of boiled eggs were also compared. The egg weight of both AP treatments (AP10: 64.55g; AP15: 64.62g) was significantly lower, compared with the control (67.40g). None of the other egg quality parameters were affected by the treatments. No significant differences were found in the fat content of egg yolk. According to the organoleptic evaluation of the volunteers, the yolk colour preference of the AP eggs was significantly higher. Regarding the electronic nose (Alpha MOS Heracles NEO) aroma profile, the egg from the conventional and the insect larvae concentrate fed, differ.

BEVEZETÉS

A tojótyúkállományok száma folyamatosan emelkedik, legfőképpen Indiában és Kínában. A tojástermelés növelése az egyik legnagyobb prioritás Európában. A tenyésztői munkával elérhető célnak tartható a 90–100 hetes tojástermelési ciklus és az ez alatti folyamatosan stabil tojásmínőség. Továbbá, a tojás az egyik leggazdaságosabban előállítható fehérjeforrás (Bain et al., 2016). Az állati eredetű termékek fogyasztása az előrejelzések szerint 2019-től 20250-re közel 40%-kal növekedni fog. Az állatállomány számára elsődlegesen szükséges fehérjeforrások a szójabab, borsó, halliszt iránti igény egyre nő, később egyre drágább és hosszú távon nem less fenntartható. A rovarok tekintetében a fekete katonalégy (*Hermetia illucens*), tücsök (*Gryllus testaceus Walker*), közönséges lisztbogár (*Tenebrio molitor*) kínálnak jó takarmányalternatívát energia, fehérje és zsír szempontjából (de Souza-Vilela et al., 2019). Továbbá a kis alombogár (*Alphitobius diaperinus*) gazdag zsírokban és fehérjékben, több mint 70 g/100 g DM a nyersfehérje-tartalma, ami rendkívül jó fehérjeforrássá teszi (Kurečka et al., 2021). A tojás mint állati eredetű termék és élelmiszer a tápanyagokat jól emészthető formában, megfelelő mennyiségben tartalmazza (Kopacz et al., 2018). A tojásnak továbbá az élelmiszeripari termékekben kelesztést, emulzifikálást elősegítő, íz- és állománykialakító hatása van (Jones, 2007). Minősége függ a morfológiai, kémiai, fizikai, organoleptikus és mikrobiológiai jellemzőitől (Ledvinka et al., 2012). A tojás minőségi jellemzői gazdasági szempontból is fontosak, mely minőségi jellemzők a fogyasztó által jobban keresett, értékesíthetőbb terméket eredményezhetnek (Hanusová et al., 2015).

A tojás minőségi jellemzésére széles körben alkalmazzák a tojástömeg-, héjvastagság-, sárgájaindex-, albuminmagasság, pH-, Haugh-egység-, és kémiai összetétel alkotta adatokat (Paes de Oliveira-Boreli et al., 2023). A fekete katonalégyrovarlárva-darával készített takarmány etetése egy kísérletben azt mutatta, hogy az étkezési tojás tömege szignifikánsan csökkent a rovarlárva 50 g/kg-os hozzáadásával a kontrollcsoportéhoz képest. Az íze, sárgája színe, textúrája és elfogadottsága érzékszervi bírálók általi véleményezés során szignifikánsan jobb eredményt kapott (Al-Qazzaz et al., 2016). Ellenkező eredményekről számol be az a kutatás, ahol 18-60 hétig vizsgálták a tojótyúkok teljesítményét, és szintén *Hermetia illucens*-lárvaráival dúsították a kísérleti tápokot és ennek eredményeképpen a kontrolltáp teljesítménye maradt alul a lárvaradásokkal szemben (Wamai et al., 2024). A gyors gázkromatográfia (GC), Alpha MOS elektromos orr nagy érzékenységgű és szelektivitású gázkromatográf, mely alacsony koncentrációban jelenlévő szénhidrogének, illóanyagok mérésére képes. Alkalmas továbbá a tojás tárolása során bekövetkező változások e-orros vizsgálatára, illetve az élelmiszeripari minőség-ellenőrzési feladatokra (Yimenu et al., 2017). Egy tojásokon végzett kísérlet során az érzékszervi bírálat eredménye nem mutatott jelentős organoleptikus eltérést a szeszipari melléktermékkel dúsított tápos (ZP 2,5%, 5%) és a kontrolltápos tojások között, míg az e-orros vizsgálat jól látható különbségeket detektált a kromatogramok alapján (Aguinaga et al., 2021).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletet 48 Tetra SL tojótyúkkal végeztük, melyeket 35 hetes korukban választottunk ki. A madarakat véletlenszerű elosztásban különálló anyagcsereketrecekben helyeztük el

egy klimatizált helyiségben. A világítási program szerint a kísérleti térben naponta 8 óra sötét és 16 óra világos órát biztosítottunk. A kísérlet 6 héten keresztül tartott. Az etetőket kézzel töltöttük fel, a takarmány *ad libitum* állt rendelkezésre. A kihelyezett automata önitatókból *ad libitum* fogyaszthattak vizet a tyúkok. A kísérlet során három különböző tápot etettünk. A kontrolltáp nem tartalmazott *Alphitobius diaperinus*-lárvalisztet, míg az AP10 és az AP15 csoportok takarmánya 10%, illetve 15% arányban tartalmazta azt. A kísérleti tápok azonos fehérje- és energiatartalmúak voltak. Az *Alphitobius diaperinus*-lárvalisztékészítmény az AdalbaPro por (AP) volt (összetevők: *Alphitobius diaperinus*-lárva, víz, rozmarying olaj, gyártó: Ynsect NL, Hollandia). Minden táptípust 16 különböző tojótyúkkal etettünk, amelyek a C/1–C/16, 10/1–10/16 és 15/1–15/16 kódjelzést kapták. A takarmányreceptúrák azonos fehérje- és energiatartalmúak voltak.

A tojásparaméterek mérését a DET 6000 (Nabel Co., Ltd., Kyoto, Japan) digitális tojástesztelő géppel végeztük. Minden tojótyúk heti tojástermeléséből egy tojás került a tojásmínőséget tesztelő berendezésbe. A mért tojásmínőségi paraméterek a következők voltak: tojástömeg (Wt), tojáshéjerősség (Str), albuminmagasság (Ht), Haugh unit (Hu), tojássárgája színe (YF), tojássárgája magassága (YH), tojássárgája szélessége (YD), tojássárgája-index (YI), tojáshéjvastagság (Thk).

Az érzékszervi bírálatot 11 fő végezte, akik a MATE Georgikon Campus munkatársai és hallgatói voltak. A bírálat során keményre főtt tojásokat teszteltek. A tojásokat egy időben, ugyanabban az edényben főztük, és csoportonként külön megjelölt hálók (kontroll, AP10, AP15) segítségével különítettük el. A hűtést és tisztítást követően a tojásokat kettévágtuk, külön jelölt tányérokba a bírálók elé helyeztük. A tesztermet az ISO 8589:1988-as szabvány alapján rendeztük be. Az érzékszervi bírálat az ISO 4121:1987-es szabvány útmutatása mentén történt. A bírálók tojásfehérje és tojássárgája vonatkozásában külön-külön: a szín, az illat, az íz, a textúra, végül a kedveltségi összbenyomás paramétereit strukturálatlan hedonisztikus skálákon értékelték, melyek az adott paraméter intenzitását, fogyasztói megítélését mérték. A skálák 100 mm hosszúságúak voltak, ahol a bejelölt pont távolsága a kezdeti 0-ponthoz képest pontértéket is jelölt. Az érzékszervi bírálat megkezdése előtt a bírálók oktatásban részesültek a bírálati szempontok és azok értékelésével kapcsolatban.

Az ultragyors gázkromatográfiás „elektromos orr” vizsgálat az ADEXGO Kft. Correltech Laboratóriumában történt. A főtt tojások 0, 10, 15-ös jelöléssel kerültek a laboratóriumba, jelölésenként 2–2 db. Az egyjelű tojások homogenizálását követően $2,0 \pm 0,1$ g került bemérésre teflonkupakos, 20 ml-es headspace üvegcsékbe. A méréseket Alpha MOS Heracles NEO elektronikus orr berendezés végezte. A vizsgálatához a 10 percen át 50 vagy 80 °C-on inkubált minták fölött kialakuló gőztérből vett mintákat használtuk. A gőztérből $T + 10$ °C-ra melegített Hamilton-fecskendővel 5 ml gázminta került levételre, ezt követően analízálásra. A kolonnák Restek MXT-5 (10 m) és Restek MXT-1701 (10 m) voltak, a vivőgáz hidrogén volt, mely 30 ml/perc sebességgel áramlott. A minták kromatogramja a Kováts-féle (C6–C16 alkánsor retenciós ideje) retenciós index alapján értelmezhető.

Az adatok statisztikai értékelését kéttényezős varianciaanalízissal végeztük, ahol a független változó a kísérletben töltött idő (hét, $I = 6$) és a takarmányozási kezelések ($j = 3$) voltak.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

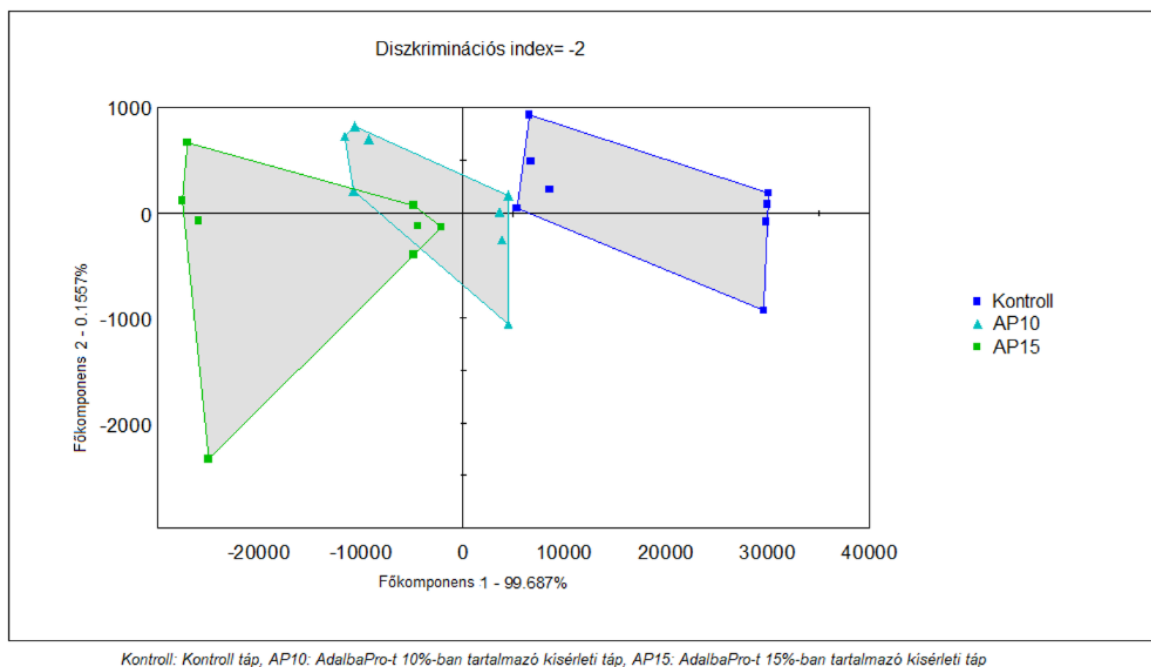
A tojások mért minőségi paramétereit az 1. táblázat ismerteti. A mért minőségi mutatók közül a Wt (tojástömeg) paraméterei különböztek egymástól a tápok típusának vonatkozásában, miszerint a kontrolltáp tojástömegadatai nagyobbak voltak az AP10 és AP15 adatainál. Az időfaktor több tojásminőségi paraméternél is szignifikáns különbséget mutatott, ugyanakkor nem mutatott szignifikáns különbséget a Wt esetében, továbbá a két-tényezős ANOVA-elemzés sem mutatott párhuzamot a táp x idő vonatkozásában, így megállapítható, hogy a táptípusok (kontroll, AP10, AP15) egyedül a Wt minőségi paramétert befolyásolták szignifikáns mértékben.

1. táblázat. Tojásminőségi paraméterek

Táptípus	Idő	Paraméterek középértékei								
		Wt	Str	Ht	Hu	Yc	Yh	Yd	Yi	Thk
Kontroll	1.hét	67,83	4,52	7,44	83,87	15,00	18,08	40,42	0,44	0,45
	2.hét	65,76	4,54	7,18	82,33	15,00	18,31	40,87	0,44	0,39
	3.hét	68,17	4,40	7,35	83,50	14,67	18,34	39,98	0,46	0,44
	4.hét	67,37	4,52	6,79	79,55	14,27	17,98	41,77	0,43	0,43
	5.hét	68,18	4,56	8,16	87,76	15,00	18,19	40,36	0,45	0,43
	6.hét	66,90	4,43	7,86	86,60	15,00	18,39	39,87	0,46	0,41
AP10	1.hét	64,87	4,58	7,40	84,59	14,33	18,11	39,60	0,46	0,45
	2.hét	64,37	4,87	7,58	84,91	14,80	18,37	39,80	0,47	0,37
	3.hét	65,86	4,85	7,55	86,34	15,09	18,84	40,75	0,47	0,45
	4.hét	64,65	4,76	6,89	81,74	14,88	18,15	4,88	0,45	0,44
	5.hét	63,67	4,24	8,07	88,01	15,67	18,39	39,75	0,46	0,41
	6.hét	64,20	4,74	7,51	84,68	15,00	18,39	39,78	0,47	0,41
AP15	1.hét	65,62	4,80	7,65	85,75	14,46	17,92	39,68	0,45	0,46
	2.hét	63,72	4,95	7,01	81,24	15,00	18,05	39,46	0,46	0,38
	3.hét	63,96	4,44	7,67	86,36	15,00	18,38	40,09	0,47	0,45
	4.hét	64,88	4,47	7,36	82,96	14,69	18,16	40,76	0,45	0,45
	5.hét	64,08	4,57	8,19	87,95	15,00	18,03	40,30	0,46	0,41
	6.hét	65,64	4,58	7,98	87,55	15,00	18,60	40,48	0,46	0,41
Időtényező										
	1.hét	66,05	4,63	7,49 ^{ab}	84,73 ^{abc}	14,59 ^c	18,04	39,89	0,45 ^{ab}	0,45 ^a
	2.hét	64,60	4,79	7,27 ^b	82,93 ^{bc}	14,93 ^{ab}	18,25	40,03	0,46 ^{ab}	0,38 ^c
	3.hét	66,06	4,54	7,52 ^{ab}	85,28 ^{abc}	14,90 ^{ab}	18,49	40,23	0,46 ^a	0,45 ^a
	4.hét	65,60	4,58	7,02 ^b	81,46 ^c	14,62 ^{bc}	18,10	41,12	0,44 ^b	0,44 ^a
	5.hét	65,30	4,45	8,14 ^a	87,91 ^a	15,02 ^a	18,21	40,12	0,46 ^{ab}	0,42 ^b
	6.hét	65,58	4,58	7,77 ^{ab}	86,21 ^{ab}	15,00 ^a	18,45	40,02	0,46 ^a	0,41 ^b
Táptípus										
Kontroll		67,40 ^a	4,49	7,46	83,87	14,80	18,21	40,56	0,45	0,43
AP10		64,55 ^b	4,66	7,49	84,95	14,85	18,35	40,08	0,46	0,42
AP15		64,62 ^b	4,63	7,63	85,17	14,85	18,18	40,14	0,46	0,43
SEM		0,24	0,06	0,08	0,48	0,03	0,06	0,16	0,00208	0,0025
P-értékek										
Táp		<0,01	0,425	0,624	0,453	0,855	0,433	0,466	0,046	0,778
Idő		0,47	0,726	<0,01	<0,01	<0,01	0,192	0,241	0,010	<0,01
Táp x Idő		0,767	0,871	0,930	0,913	<0,01	0,984	0,935	0,998	0,218

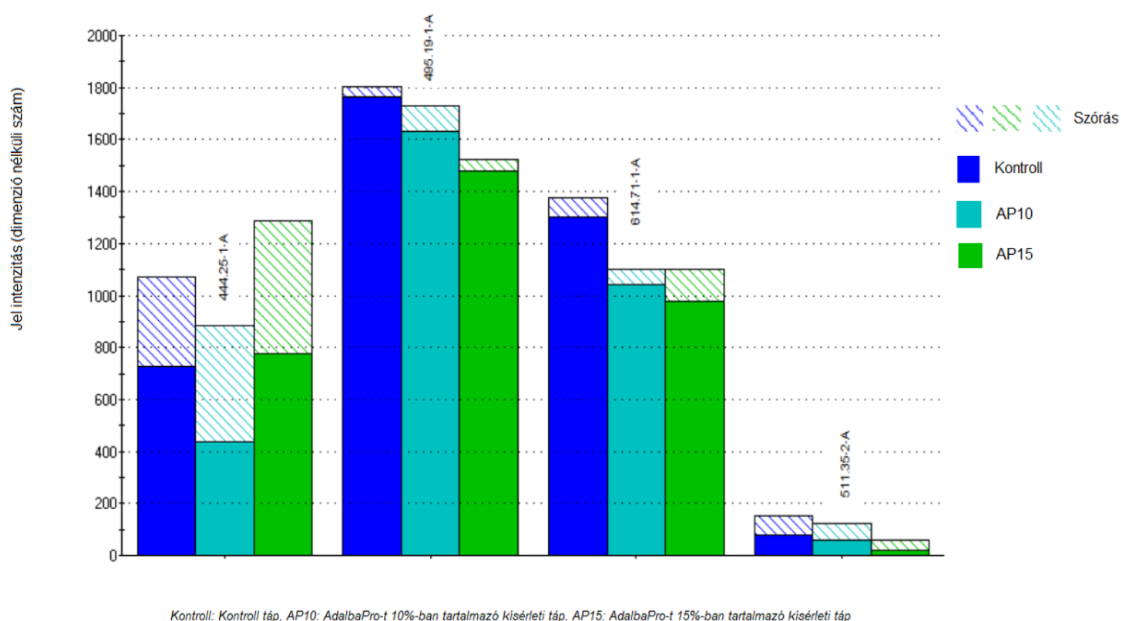
tojástömeg (Wt), héjszilárdság (Str), albuminmagasság (Ht), Haugh-egység (Hu), tojássárgája színe (Yc), tojássárgája magassága (Yh), tojássárgája szélessége (Yd), tojássárgája-index (Yi), tojáshéjvastagság (Thk). ^{a, b, c} A különböző betűvel jelölt értékek között szignifikáns különbség (p < 0,05) van. AP10: 10% lárvaliszt, AP15: 15% lárvaliszt

Az ultragyors gázkromatográfiás vizsgálat során két inkubációs hőmérséklet-beállítást alkalmaztunk (50 °C és 80 °C). A két beállításból kapott aromaprofil különbözött egymástól.



1. ábra. Az 50 °C-os inkubációs beállítás aromaprofilja

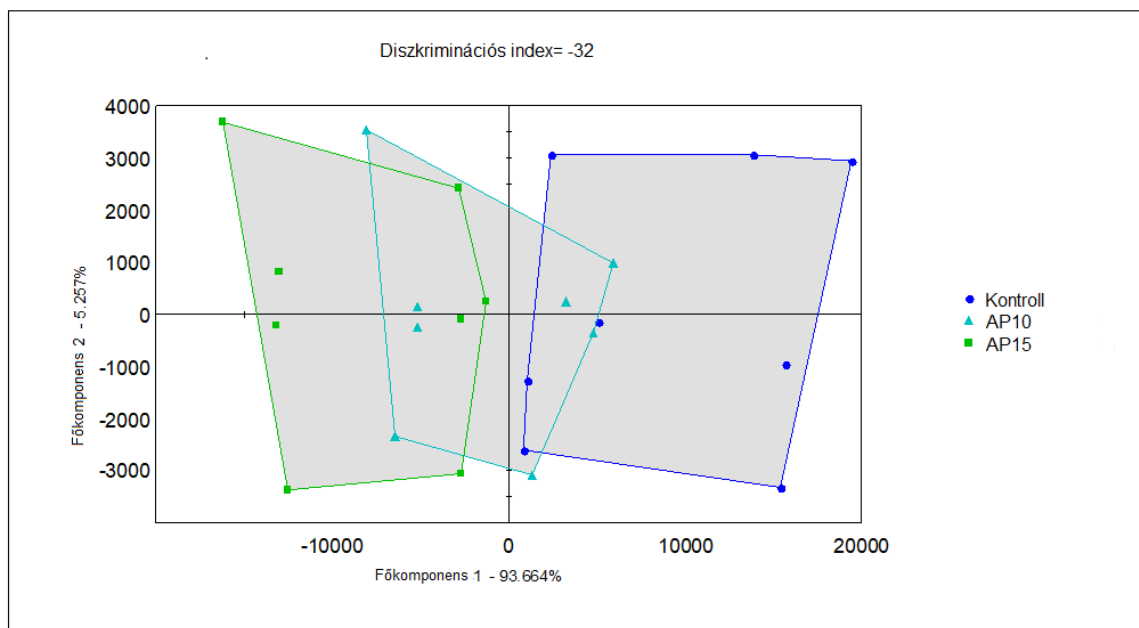
Az 1. ábra és a 2. ábra alapján megállapíthatjuk, hogy a rovarfehérjés kezelések hatására, a dimetil-szulfid (retenciós index 495), az etil-acetát (retenciós index 614) és az acetaldehid (retenciós index 511) mennyisége a rovarfehérjét fogyasztó tyúkok tojásaiban csökkent.



2. ábra. Az 50 °C-os inkubációs beállítás aromaanyag-koncentrációja

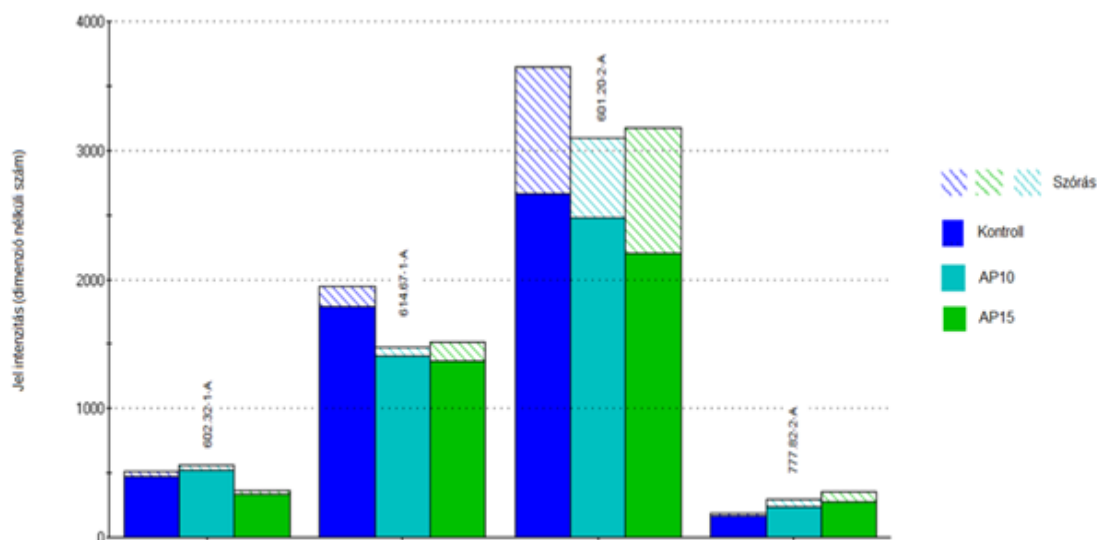
A 80 °C-os inkubációs beállítás hatására (3. ábra és 4. ábra) több átfedést tapasztaltunk az előzőkhöz képest, mind a molekulákra, mind pedig a molekulák koncentrációjára nézve. Ennél a hőmérsékleti beállításnál a 2-butanol (retenciós index 602), az etil-acetát (retenciós index 614), a 2-propanol (retenciós index 601), valamint a pentanal (retenciós index 777) voltak.

A 80 °C-os beállításnál a rovarfehérjés táp hatására az etil-acetát, a 2-propanol esetében csökkenés a pentanal esetében pedig növekedés volt tapasztalható a koncentrációkban.



Kontroll: Kontroll táp, AP10: AdalbaPro-t 10%-ban tartalmazó kísérleti táp, AP15: AdalbaPro-t 15%-ban tartalmazó kísérleti táp

3. ábra. A 80 °C-os inkubációs beállítás aromaprofilja



Kontroll: Kontroll táp, AP10: AdalbaPro-t 10%-ban tartalmazó kísérleti táp, AP15: AdalbaPro-t 15%-ban tartalmazó kísérleti táp

4. ábra. A 80 °C-os inkubációs beállítás aromaanyag-koncentrációja

Az érzékszervi bírálat eredményei (2. táblázat) alapján az organoleptikus jellemzők közül egyedül a tojássárgája színe és annak kedveltségi értékei mutattak szignifikáns eltérést. Jól látható, hogy a rovarfehérjével etetett csoportok tojásai szignifikánsan ($p < 0,05$) kedvezőbb értékelést kaptak, mint a kontrolltápos kezelés tojásai.

2. táblázat. Az érzékszervi bírálat eredményei

Paraméter	Kezelés		
	Kontroll	AP10	AP15
Tojásfehérje színe	73,09	85,36	80,09
Tojássárgája színe	66,82 ^b	87,86 ^a	85,32 ^a
Tojásfehérje illata	85,32	75,45	78,50
Tojássárgája illata	77,59	71,06	72,50
Tojásfehérje íze	70,36	70,82	70,82
Tojássárgája íze	73,91	72,00	76,73
Tojásfehérje textúrája	85,36	82,59	86,64
Tojássárgája textúrája	65,14	69,32	65,95
Összbenyomás	78,18	79,32	82,32

AP10: 10% lárvaliszt, AP15: 15% lárvaliszt; ^{a, b} $p < 0,05$

KÖVETKEZTETÉSEK

A kísérlet eredményei alapján megállapítható, hogy a rovarfehérjés tápok etetésének hatására mindkét bekeverési szinten csökkent a tojástömeg. Miután a tápok fehérje-, energia- és aminosav-tartalma azonos volt, a változás okának megismeréséhez további kutatások szükségesek. A tojás nem kívánatos aromakomponenseinek koncentrációját ugyanakkor a rovarfehérjét tartalmazó tápok etetése csökkentette. Az érzékszervi bírálat során a rovarfehérjés tojások sárgájának színe szignifikánsan magasabb pontszámokat kapott a kóstolási próbán résztvevőktől.

IRODALOMJEGYZÉK

- Aguinaga Bósquez, J. P., Kovács, Z., Gillay, Z., Bázár, G., Palkó, C., Hingyi, H., Csavajda, É., Üveges, M., Jókainé Szatura, Z., Barbulescu, I.D., Begea, & M., Tóth, T. (2021). Evaluating the effect of a brewery by-product as feed supplementation on the quality of eggs by means of a human panel and e-tongue and e-nose analysis. *Chemosensors*, 9(8), 213. DOI: <https://doi.org/10.3390/chemosensors9080213>
- Al-Qazzaz, M. F. A., Ismail, D., Akit, H., & Idris, L. H. (2016): Effect of using insect larvae meal as a complete protein source on quality and productivity characteristics of laying hens. *Revista Brasileira De Zootecnia*, 45(9), 518–523. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902016000900003>
- Bain, M. M., Nys, Y., & Dunn, I. C. (2016): Increasing persistency in lay and stabilising egg quality in longer laying cycles. What are the challenges? *British Poultry Science*, 57(3), 330–338. DOI: <https://doi.org/10.1080/00071668.2016.1161727>

- De Souza-Vilela, J., Andrew, N. R., & Ruhnke, I. (2019): Insect protein in animal nutrition, *Animal Production Science*, 59(11), 2029–2036. DOI: <https://doi.org/10.1071/AN19255>
- Hanusová, E., Hrnčár, C., Hanus, A., & Oravcová, M. (2015): Effect of breed on some parameters of egg quality in laying hens. *Acta fytotechnica et zootechnica*, 18(1), 20–24. DOI: <https://doi.org/10.15414/afz.2015.18.01.12-24>
- Jones, D. R. (2007): Egg functionality and quality during long-term storage. *International Journal of Poultry Science*, 6(3), 157–162. DOI: <https://doi.org/10.3923/ijps.2007.157.162>
- Kopacz, M., & Dražbo, A. (2018): Changes in the quality of table eggs depending on storage method and time. *Animal Science and Genetics*, 14(3), 37–45. DOI: <https://doi.org/10.5604/01.3001.0013.5084>
- Kurečka, M., Kulma, M., Petříčková, D., Vladimír Plachý, & Kouřimská, L. (2021): Larvae and pupae of *Alphitobius diaperinus* as promising protein alternatives. *Eur Food Res Technol*, 247, 2527–2532. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-021-03807-w>
- Ledvinka, Z., Lukáš, Z., & Klesalová, L. (2012): Egg quality and some factors influencing it: A review. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 43(2), 79–87.
- Paes de Oliveira-Boreli F., Pereira D. F., Gonçalves J. A., da Silva V. Z., & de Alencar Nääs I. (2023): Non-destructive assessment of hens' eggs quality using image analysis and machine learning, *Smart Agricultural Technology*, 4, 100161. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.atech.2022.100161>
- Wamai, L. K., Munga, L. M., Osuga, I. M., Munguti, J. M., Subramanian, S., Kidoido, M. K., Ghemoh, J. C., Mwendia, C. M., & Tanga, C. M. (2024): Big opportunities for tiny bugs: rush to boost laying hen performance using black soldier fly larvae meal, *Journal of Economic Entomology*, 117(1), 58–72. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/toad230>
- Yimenu, S. M., Kim, J. Y., & Kim, B. S. (2017): Prediction of egg freshness during storage using an electronic nose, *Poultry Science*, 96(10), 3733–3746. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pex193>



NAGY CSALÁN (*URTICA DIOICA*) ÉS GYERMEKLÁNCFŰ (*TARAXACUM OFFICINALE*) HATÁSA TOJÓTYÚKOK TOJÁSTERMELÉSI ÉS TOJÁSMÍNŐSÉGI PARAMÉTEREIRE

Ancsin Zsolt, Molnárné Donkó Katalin, Zándoki Erika, Balogh Krisztián Milán,
Mézes Miklós, Balláné Erdélyi Márta

Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem, Élettani és Takarmányozástani Intézet, Takarmánybiztonsági Tanszék, 2100 Gödöllő, Péter Károly utca 1.

ÖSSZEFOGLALÁS

Kísérletünkben 24 tojótyúkból három csoportot alakítottunk ki, amelyek eltérő keveréktakarmányt kaptak: kontroll, 2% szárítottcsalán-őrlemény és 2% szárított pitypang-őrlemény. A tyúkokat egyedi ketrecekben helyeztük el és adagoltan etettük (125 g/egyed/nap). Naponta mértük a tojások súlyát, továbbá a kísérlet 1., 3., 7., 10., 14., 17. és 21. napján vizsgáltuk a héjszilárdságot, héjsúlyt, héjvastagságot, Haugh-egységet, a szik súlyát, színét és a sárgájaindexet. A pitypangot fogyasztó csoport tojásainak átlagsúlya szignifikánsan meghaladta a kontroll értékeit, miközben csalánkiegészítés esetén nem találtunk jelentős eltérést a másik két csoporttól. A 21. napon a csalánkiegészítés hatására a tojások mind a héjszilárdság ($p < 0,05$), mind héjvastagság ($p < 0,05$) szempontjából jelentősen felülmúlták a kontroll értékeit. A sárgája színintenzitása a 7. naptól kezdve a csalán- és a pitypangkiegészítés esetében is szignifikánsan ($p < 0,001$ ill. $p < 0,01$) és szabad szemmel is jól látható módon növekedett a kontrollcsoportéhoz viszonyítva.

ABSTRACT

In our experiment, we formed 3 groups from 24 laying hens, each receiving a different complete feed: control, 2% dried nettle powder and 2% dried dandelion powder. Birds ($n=8/\text{group}$) were housed in individual cages and portion feeding (125 g/bird/day) was used in the experimental period. We measured the weight of the eggs daily, while shell strength, shell weight and thickness, Haugh-unit, yolk weight, yolk index and yolk colour were measured on days 1, 3, 7, 10, 14, 17 and 21 of the experiment. The average weight of the eggs in the dandelion-treated group was significantly higher than that of the control. In contrast, the weights in the nettle-treated group were not significantly different from the two groups. On day 21, the eggs from the nettle-treated group significantly outperformed the control group in terms of both shell strength ($p < 0.05$) and shell thickness ($p < 0.05$). The colour intensity of the yolk was significant ($p < 0.001$ and $p < 0.01$) and visibly superior to the control group from day 7 onwards in both the nettle-treated and the dandelion-treated groups, respectively.

BEVEZETÉS

A tyúktartás a COVID-19 időszakában különösen népszerűvé vált, mivel háztáji környezetben való tartása nem igényel jelentős beruházást vagy speciális szaktudást. Az

embereket elsősorban a saját fogyasztásra megtermelt tojás iránti igény motiválta. Ezzel egy időben pedig kiemelten fontossá vált számukra az adott állomány takarmányozása, ezáltal a házi tojás minőségi paramétereinek, esetleg beltartalmi értékeinek javítása. Habár a járványhelyzet enyhülésével korlátozás nélkül tartottak nyitva az üzletek, és a tojáskínálat is folyamatos volt, az emelkedő árak és a korábbi évek tapasztalatai sokakat az egészségtudatosabb életforma felé tereltek. Emiatt az egyes élelmiszerek származása és beltartalmi mutatói méginkább kiemelt fontosságú szempontnak számítanak a fogyasztók szemében az adott termékek megvásárlásakor. Célunk az volt, hogy a tojótyúkokkal (Nick Brown) beállított kísérlet során megtudjuk, hogy a Magyarországon közönséges nagy csalán (*Urtica dioica* L.) és a gyermekláncfű (*Taraxacum officinale* W.) szárított formában történő etetése hatással van-e a tojások minőségi paramétereire, köztük is elsősorban a tojáshéjszilárdságra, amelynek időszakos leromlása a háztáji gazdaságokban jelentős probléma.

A tojás minőségét számos paraméter befolyásolja, ilyen a tojóállomány fajtája, takarmányozása, tartástechnológiája és állategészségügyi állapota, de befolyásolják a minőségi paramétereket a tárolás ideje és annak körülményei is. Az általunk mért tojásmiőségi paraméterek a tojássúly, héjszilárdság, héjsúly, héjvastagság, héjtömeg, szik-tömeg, Haugh-egység és a tojásszik színe voltak.

A tojás súlya egy jól öröklődő tulajdonság ($h^2 = 0,5-0,6$), de ez nagymértékben függ a tyúk korától is. Az 1990-es években a szelekciós munka eredményeként a tenyésztők elérték, hogy az ivarérettség után a tojástömeg sokkal nagyobb ütemben növekedjen, mint ami egyébként a tyúkfajra jellemző volt (Horn és mtsai., 2000). A tojás tömegét negatívan befolyásolja a magas istállóhőmérséklet, a nem megfelelő világítási program (túl sok a világos órák száma) és a takarmány alacsony fehérjetartalma (Bogenfurst és mtsai., 2011).

A héjszilárdság fontos minőségi paraméter, a csomagolásnál és a szállításkor nagy szerepe van. A repedt és/vagy törött tojásokkal összefüggő értékesítési veszteséget évente 247 millió dollárra becsülik az Amerikai Egyesült Államokban. A megtermelt tojás megközelítőleg 5–6%-a nem használható fel, vagy nem értékesíthető az elégtelen héjminőség miatt (Sahin és mtsai., 2018). Közepesen öröklődő tulajdonság ($h^2 = 0,3-0,5$). Negatívan befolyásolja a magas hőmérséklet (gyenge héjú tojások előfordulása nő), valamint a takarmány alacsony ásványianyag-tartalma. A héjszilárdság szintén romolhat a tojóidőszak végén, valamint egyes betegségek megjelenésekor (bronchitis, Eggs Drop syndrome –EDS, a baromfi adenovírus okozta betegsége) (Bogenfurst és mtsai., 2011). Fontos megemlíteni, hogy héj szilárdsága és vastagsága között csupán közepesen szoros összefüggés van (Babinszky és Halas, 2019).

A szik színe rosszul öröklődő tulajdonság, leginkább külső tényezők befolyásolják. A takarmányok xantofiltartalma és a különböző antioxidánsok növelhetik a színintenzitást. Fogyasztói szempontból rendkívül lényeges tulajdonság, ezért a termelők sokszor adnak természetes vagy szintetikus karotinoidokat a takarmányokhoz (Pupos és mtsai., 2013). A szik színét az 1-től 15-ig terjedő LaRoche-skálán határozzák meg.

A nagy csalánban található kémiai anyagok közé tartoznak a karotinoidok, a fenolos vegyületek, a flavonoidok, a tanninok, a szaponinok, a zsírsavak és aminosavak, amelyeknek köszönhetően antioxidáns, vírusellenes, gombaellenes és gyulladásgátló tulajdonságokkal rendelkezik (Sharma és mtsai., 2023). Petefészek-eltávolított patkányokban az eredmények alapján a nagy csalán kivonatának alkalmazása hatásosnak bizonyult a csontritkulás megelőzésében, illetve kezelésében (Gupta és mtsai., 2015, Irgin és mtsai., 2016).

A gyermekláncfű fehérjét, zsírt és nyersrostot lényegesen többet tartalmaz, mint a homoktövis levelei, valamint előbbi gazdag foszforban, káliumban, kalciumban, vasban és cinkben. Bioaktív vegyületei közé tartoznak többek között a fenolos vegyületek, az illóolajok, a szacharidok, a flavonoidok, a szfingolipidek, a szterolok és a kumarinok (Fan és mtsai., 2023). Petefészek-eltávolított patkányokon beállított kísérlet során a csontok mikroszerkezetét elemezve megállapították, hogy a gyermekláncfűvel etetett egyedek kezdeti oszteoklaszt differenciálódása csökkent. Az oszteoporózis patkányok combcsonkjában a gyermekláncfűvel történő etetés hatására pedig nőtt a csontsűrűség (Heo és mtsai., 2022).

ANYAG ÉS MÓDSZER

A kísérletet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézet Takarmánybiztonsági Tanszékének kísérleti telepén végeztük. A kísérletben barna héjú tojást termelő Nick Brown tojóhibrideket használtunk. A vizsgálatot az 51. termelési héten kezdtük, a tojástermelés intenzitása 90% felett volt. A kísérletbe 24 darab Nick Brown tojóhibridet vontunk be, melyekből 3 csoportot alakítottunk ki, csoportonként 8-8 egyeddel. A kontroll- (K) csoport egyedei színezőhatású adalékanyagoktól mentes kereskedelmi tojótápot fogyasztottak. A csalán- (CS) csoport esetében a fent említett kontrolltáphoz 2% szárított csalánőrleményt adagoltunk. A pityang- (P) csoport esetében a kontrolltojótáphoz 2% gyermekláncfű-őrleményt kevertünk. A tyúkokat egyedenként elkülönítve, ketreces tartásban helyeztük el. Az etetőkebe tyúkonként naponta 125 g tápot juttattunk ki. A tojásokat a kísérlet minden napján összegyűjtöttük, jelöltük és lemértük a súlyukat. Az egyéb paraméterek méréséhez a tojásgyűjtést a kísérlet 1., 3., 7., 10., 14., 17. és 21. napján végeztük. Mérésig a tojásokat 4 °C-on, hűtőszekrényben tároltuk. A méréseket Digital Egg Tester DET6500 géppel végeztük. Az adatok statisztikai elemzéséhez (ANOVA) a Graphad Instat 3.05 verziószámú statisztikai programot használtuk.

EREDMÉNYEK ÉS MEGBESZÉLÉS

A begyűjtött tojások súlyát naponta mértük. A 21 nap alatt a kontrollcsoport összesen 162, a csaláncsoport 158, míg a pityangcsoport 161 tojást termelt. Az első héten mért és a teljes időszakban vizsgált átlagos tojássúly a kontrollcsoportban volt a legkisebb, a pityangot fogyasztó csoportban pedig mindkét esetben a K csoporthoz képest statisztikailag is igazolhatóan ($p < 0,05$) nagyobb volt a tojások átlagos súlya (1. táblázat).

1. táblázat. A tojássúlyok alakulása heti bontásban és összesítve (g)

Hét		Kezelés		
		kontroll	csalán	pitypang
1.	átlag	57,38 ^a	59,55 ^{ab}	60,91 ^c
	szórás	3,29	4,24	5,23
2.	átlag	59,80	60,28	61,91
	szórás	3,91	5,23	4,83
3.	átlag	61,30	60,96	61,21
	szórás	3,18	3,68	4,54
összes minta	átlag	59,18 ^a	60,21 ^{ab}	61,29 ^c
	szórás	3,78	4,37	4,85

^{a,b,c} az eltérő betűkkel jelölt számok szignifikánsan (min. $p < 0,05$) eltérnek egymástól

Az eredmények alapján arra következtettünk, hogy a pitypang pozitívan befolyásolhatja a tojássúlyt, ami feltehetően a biológiailag aktív anyagainak anyagcserére gyakorolt jótékony hatására vezethető vissza. Keserű anyagai közül taraxacin és taraxasterol májműködést segítő, és epetermelést serkentő hatásáról is ismert (Jiao és mtsai., 2022)

Ami a héjszilárdságot és a héjvastagságot illeti (2. táblázat), fontos megjegyezni, hogy habár voltak látszólagos különbségek, szignifikáns különbséget mindkét paraméter esetében csak a 21. napon tudtunk kimutatni. E nap tojásmintái esetében a CS csoport tojásai mind törőerő ($p < 0,05$), mind héjvastagság ($p < 0,05$) szempontjából jelentősen felülmúlták a K csoport mintáit, miközben a P csoport egyik paraméterben sem tért el jelentősen a másik két csoporttól. Hozzá kell tenni, hogy ez a tendencia, habár statisztikailag nem igazolható formában, de már a 14. naptól kezdett kirajzolódni, amikor is gyakoribbá váltak a repedt héjú tojások a K csoportban. Ezek alapján a csalán úgy tűnik, hogy 3 hetes etetést követően már alkalmas lehet a héjszilárdság és a héjvastagság növelésére is, ami nem a Ca-tartalmával, hanem sokkal inkább a biológiailag aktív anyagainak Ca-anyagcserére, illetve tojáshéjképződésre gyakorolt, egyelőre kevésbé ismert jótékony hatásával hozható összefüggésbe.

2. táblázat. A törőerő és a héjvastagság alakulása az 21. mintavételi napon

	Kezelés					
	kontroll		csalán		pitypang	
	Törőerő (kgf)	Héjvastagság (mm)	Törőerő	Héjvastagság	Törőerő	Héjvastagság
átlag	4,88 ^a	0,36 ^a	5,59 ^b	0,39 ^b	5,22 ^{ab}	0,38 ^{ab}
szórás	0,37	0,01	0,56	0,03	1,23	0,04

^{a,b,c} az eltérő betűkkel jelölt számok szignifikánsan (min. $p < 0,05$) eltérnek egymástól

Az általam vizsgált paraméterek közül a szik színében tapasztaltam a legjelentősebb változásokat, ugyanis a gyógynövennyel kezelt egyik vagy mindkét csoport tojássárgájának színe a 7. naptól kezdve szignifikánsan felülmúlt a kontrollcsoport mintáit, illetve néhány esetben a kezelt csoportok között is jelentős volt a különbség (3. táblázat.). A 17. mintavételi napon a CS csoport mintái is ($p < 0,01$), valamint a P csoport mintái is ($p < 0,05$) sötétebb sárgák voltak a kontrollhoz viszonyítva, továbbá a

CS csoport a P csoporthoz képest is sárgább szikű tojásokat termelt ($p < 0,05$). A különbségek a 2. héttől kezdve szabad szemmel is jól láthatóak voltak. Ennek hátterében a zöld növényekre jellemző karotinoidok állnak, melynek hatása régóta ismert, és ezek a szárított növények 2%-os koncentrációban alkalmazva is kifejtik már ezt a jótékony hatásukat.

KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK

Eredményeink alapján arra a következtetésre jutottam, hogy mindkét fitobiotikum alkalmas lehet bizonyos tojásmínőségi paraméterek pozitív befolyásolására, ugyanakkor a még hatékonyabb dózis, illetve a pozitív hatás hátterében álló biológiai folyamatok feltárása további kísérleteket igényel.

3. táblázat. A tojásszik színének alakulása az egyes mintavételi napokon

Mintavételi nap		Kezelés		
		kontroll	csalán	pitypang
1. nap	átlag	4,86	5,50	5,29
	szórás	0,99	0,84	0,49
3. nap	átlag	5,14	5,00	4,86
	szórás	0,90	0,76	1,07
7. nap	átlag	4,25 ^a	5,33 ^c	4,63 ^{ab}
	szórás	0,46	0,52	0,52
10. nap	átlag	4,50 ^a	5,50 ^c	4,75 ^{ab}
	szórás	0,76	0,76	0,46
14. nap	átlag	4,25 ^a	4,63 ^{ab}	5,00 ^b
	szórás	0,46	1,51	0,53
17. nap	átlag	4,00 ^a	5,75 ^c	4,86 ^b
	szórás	0,82	0,89	0,38
21. nap	átlag	4,17 ^a	5,13 ^b	4,88 ^{ab}
	szórás	0,75	0,83	0,83

^{a,b} az eltérő betűkkel jelölt számok szignifikánsan (min. $p < 0,05$) eltérnek egymástól

IRODALOMJEGYZÉK

- Babinszky, L., Halas, V. (2019): Innovatív takarmányozás, Akadémiai Kiadó. DOI: <https://doi.org/10.1556/9789634540571>
- Bogenfürst, F., Áprily, Sz. (szerk.) (2011): Baromfitenyésztés. „E-tananyag” az Állattenyésztő mérnöki BSc szak hallgatói számára. 399 p.
- Horn, P. (szerk.) (2000): Állattenyésztés 2. Baromfi, haszongalamb, Budapest, Mezőgazda Kiadó
- Fan, M., Zhang, X., Song, H., Zhang, Y. (2023): Dandelion (*Taraxacum* Genus): A review of chemical constituents and pharmacological effects, *Molecules*, 28(13), 5022. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28135022>
- Gupta, R., Singh, M., Kumar, M., Kumar, S., Singh, S. P. (2015): Anti-osteoporotic effect of *Urtica dioica* on ovariectomised rat, *Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology*, 2. 1015–1019.

- Heo, J., Kim, M., Kim, J-H., Shin, H., Lim, S-E., Jung, H-S., Sohn, Y., Ku, J. (2022): Effect of taraxaci herba on bone loss in an OVX-induced model through the regulation of osteoclast differentiation, *Nutrients*, 14(20), 4354. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu14204354>
- Irgin, C., Corekci B., Ozan, F., Halicioglu K., Toptas, O., Yildirim, A.B., Turker, A., Yilmaz F. (2016): Does stinging nettle (*Urtica dioica*) have an effect on bone formation in the expanded inter-premaxillary suture? *Archives of Oral Biology*, 69. 13–18. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.05.003>
- Jiao, F., Tan, Z., Yu, Z., Zhou, B., Meng, L., Shi, X. (2022). The phytochemical and pharmacological profile of taraxasterol. *Frontiers in Pharmacology*, 13. 927365. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.927365>
- Pupos T., Sütő Z., Szöllősi L. (szerk.) (2013): Versenyképes tojástermelés. Budapest, Szaktudás Kiadó Ház
- Sahin, K., Orhan, C., Tuzcu, M., Hayirli, A., Komorowski, J. R., Sahin, N. (2018): Effects of dietary supplementation of arginine-silicate-inositol complex on absorption and metabolism of calcium of laying hens, *Plos One*, 1–12. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189329>



STATE OF ANIMAL WELFARE IN AGRO-FOOD SUPPLY CHAINS: A CASE OF CHICKEN FARMING IN KENYA

Vivian Cherono¹, Csaba Szűcs²

¹Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Doctoral School of Economic and Regional Sciences, Károly Róbert Campus, H-3200 Gyöngyös, Mátrai Rd. 36, Hungary

²Hungarian University of Agriculture and Life Sciences, Economics and Regional Sciences, Károly Róbert Campus, H-3200 Gyöngyös, Mátrai Rd. 36, Hungary

ABSTRACT

As the demand for animal products rises, cases of animal cruelty are becoming more common, particularly in the effort to meet this demand. In Kenya, chicken farming plays a significant role in food security and provides a source of livelihood for many. However, it is often characterised by poor treatment and handling of chicken across various farming systems, including small-scale, backyard operations, and large-scale farms. Common issues include beak trimming, overcrowding, uncontrolled use of antibiotics, and cruel transportation practices. This study aims to explore the extent of these harmful practices, assess existing animal protection policies, and identify possible solutions to improve animal welfare while maintaining production levels. By reviewing the existing literature on the subject, this research hopes to inform policymakers, industry stakeholders, and consumers about respecting animal rights in farming. A balanced approach that considers both animal welfare and economic viability is the ultimate goal of a more sustainable and humane agro-food sector in Kenya.

INTRODUCTION

The rising demand for livestock products to meet the nutritional needs of the human population can compromise animal welfare standards in a livestock production system. (Onono, 2023). In Kenya, animals suffer from a variety of issues such as neglect, malicious physical harm, deprivation of food, confinement, use of improper transportation methods or facilities, assault during transportation (Photo 1), congestion, overloading, overworking, cruel treatment at slaughterhouses, inhumane capture practices, branding, and improper working tools (Mogoa et al., 2005).

Chicken farming in particular rearing of indigenous chicken is highly popular in Kenya's rural areas where most of the population lives. It is the main source of livelihood and a source of animal protein (Magothe et al., 2012). Policymakers in developing countries, especially in sub-Saharan Africa, have been hesitant to formulate animal welfare policies despite the potential advantages of such policies such as the rise in the demand from domestic and international consumers for products that are compliant with the humane treatment of animals (Otieno and Ogutu, 2015).

It is therefore against this background that this research is established to highlight the various forms of animal welfare issues in Kenya particularly in chicken farming and identify efforts in place to ensure the humane treatment of the animals in terms of policies and regulations. The research findings will be used to recommend policy-making and implementation to ensure sustainability in agro-food supply chains within Kenya.



Photo 1 Trader loaded with chicken on a motorcycle (Messo, 2023)

MATERIALS AND METHODS

For this research photographs retrieved from various sources were used to display the reality of the cruelty that chickens are subjected to whether on the farm or in transit to the markets. The use of photographs as a research method in social sciences has proven to be an essential tool in the provision of unique perspectives of a wide range of organizational dynamics and human experience. Researchers can take their images or engage participants in photo-taking activities (Holm, 2014).

Information on animal welfare was extracted from relevant documents such as policy drafts/documents, sessional papers, commissioned or non-commissioned specific studies, project appraisals, mid-term or terminal evaluations, progress reports, and various articles in journals and newspapers (Aklilu, 2008).

DISCUSSION

Current practices in chicken farming

In Kenya, chicken is slaughtered in a variety of brutal ways. These include strangling or twisting a chicken's neck, and manually removing its feathers. At the same time, it is still alive and inflicting agonizing death on chickens by dipping them in boiling water before severing their neck (Mogoa et al., 2005). Due to the prevalence of poultry diseases in Kenya, most farmers administer drugs without prescription leading to uncontrolled use of antibiotics which compromises the health of the animals and that of the consumers of poultry products (Onono, 2023).

Review of animal protection policies in Kenya

Kenya was ranked D for its incorporation into the law of the World Organisation for Animal Health (OIE)'s animal welfare standards. The Prevention of Cruelty to Animals (Transport of Animals) Regulations 1984 provides guidelines for the humane transport of animals, including provisions on safe unloading and loading, overcrowding, vehicle construction, and care during transport. Despite this there's no policy looks into the welfare of broiler chickens (Animal Protection Index, 2020)

Proposed solutions

Promoting animal welfare in chicken farming requires raising awareness of its benefits, enforcement of legislation, punishing extreme suffering and investing in mobile abattoirs and welfare-friendly transportation (Otieno and Ogutu, 2019). Veterinary education should focus more on the welfare of farm animals (Ostović et al., 2016) while advanced AI technologies can enhance disease detection, improve flock health management and reduce antibiotic use (Elango et al., 2024).

CONCLUSION

This paper highlights welfare issues in chicken farming in Kenya's agro-food supply chains, including beak trimming, overcrowding, excessive use of antibiotics, and cruel transport methods. Kenya's ranking on the Animal Protection Index reflects progress, but enforcement and monitoring remain weak. Therefore, it advocates for stronger policies, awareness initiatives, and improved infrastructure for ethical animal treatment.

REFERENCE

- Aklilu, Y. (2008): Livestock marketing in Kenya and Ethiopia: A review of policies and practice. Feinstein International Center, Addis Ababa, 38.
- Alamy, A. (2024): Overcrowding chickens hi-res stock photography and images. Alamy. <https://www.alamy.com/stock-photo/overcrowding-chickens.html>
- Animal Protection Index. (2020): Kenya. World Animal Protection. <https://api.worldanimalprotection.org/country/kenya>
- Danda, M. K., Mwamachi, D. M., Lewal, K., & Jefa, F. (2010): Characterization of the indigenous chicken sub-sector in the Coastal lowlands of Kenya. In Proceedings of the 12th Kenya Agricultural Research Institute Biennial Scientific Conference, Nairobi, Kenya, (pp. 898–905).
- Elango, M. K., Harini, A., Soundar, R., & Suroopa, P. (2024): AI-Based Digital Disease Recognition Using Collaborative Conveyor Machine for Poultry Farming. 2024 IEEE International Conference on Computing, Power and Communication Technologies (IC2PCT), 5, 1716–1721. DOI: <https://doi.org/10.1109/IC2PCT60090.2024.10486780>
- Holm, G. (2014): Photography as a Research Method. In Leavy, P. (Ed.), The Oxford Handbook of Qualitative Research (pp. 379–402). Oxford University Press. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordhb/9780199811755.013.031>
- Klaura, J., Breeman, G., & Scherer, L. (2023): Animal lives are embodied in food loss and waste. Sustainable Production and Consumption, 43, 308–318. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.spc.2023.11.004>

- Magothe, T. M., Okeno, T. O., Muhuyi, W. B., & Kahi, A. K. (2012): Indigenous chicken production in Kenya: I. Current status. *World's Poultry Science Journal*, 68(1), 119–132. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933912000128>
- Masiga, W. N., & Munyua, S. J. M. (2005): Global perspectives on animal welfare: Africa.
- Messo, D. W. (2023): How to humanely transport chicken. *The Standard*. <http://www.standardmedia.co.ke/sports/livestock/article/2001478436/how-to-humanely-transport-chicken>
- Mogoa, E., Wabacha, J., Mbithi, P., & Kiama, S. (2005): An Overview of Animal Welfare Issues in Kenya. 29. DOI: <https://doi.org/10.4314/kenvet.v29i1.39597>
- Onono, J. O. (2023): Economics and welfare of broiler chicken from selected farms in Kenya. *Journal of Agricultural Extension and Rural Development*, 15(1), 1–12. DOI: <https://doi.org/10.5897/JAERD2022.1347>
- Ostović, M., Mesić, Ž., Mikuš, T., Matković, K., & Pavičić, Ž. (2016): Attitudes of veterinary students in Croatia toward farm animal welfare. *Animal Welfare*, 25(1), 21–28. DOI: <https://doi.org/10.7120/09627286.25.1.021>
- Otieno, D., & Ogutu, S. (Eds.). (2015): Consumer willingness to pay for animal welfare attributes in a developing country context: The case of chicken in Nairobi, Kenya. DOI: <https://doi.org/10.22004/ag.econ.212602>
- Otieno, D., & Ogutu, S. (2019): Consumer willingness to pay for chicken welfare attributes in Kenya. *Journal of International Food & Agribusiness Marketing*, 32(4), 1–24. DOI: <https://doi.org/10.1080/08974438.2019.1673275>



PRELIMINARY ASSESSMENT OF BSF LARVAL-BASED DIETS ON GROWTH PERFORMANCE OF HYBRID AFRICAN CATFISH *HETEROCLARIAS*

Christopher Teye-Gaga^{1,2*}, Péter István Molnár^{1,2}, Attila Kertész^{1,2},
Milán Fehér¹, Péter Bársony³

¹University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Animal Science, Biotechnology and Nature, Department of Animal Husbandry, H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1., Hungary

²University of Debrecen, Doctoral School of Animal Science, H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1., Hungary

³University of Debrecen, Faculty of Agricultural and Food Sciences and Environmental Management, Institute of Animal Science, Biotechnology and Nature, Department of Nutrition Physiology, H-4032 Debrecen, Egyetem tér 1., Hungary

ABSTRACT

*A six-week study was conducted to assess the growth performance of hybrid African catfish, *Heteroclaris* fed on black soldier fly (BSF) larval-based diets. The experiment was conducted in RAS, circular plastic tanks (350 L) in a completely randomized design. Four isonitrogenous (400 kg⁻¹ crude protein) and isolipidic (140 g kg⁻¹ crude fat) diets were formulated where fishmeal (400 kg⁻¹) was replaced at 0, 25, 50, and 75% with BSF larval meal. Fish oil was completely replaced with corn oil in the test diets. Fish (initial body weight of 200 ± 25g, 15 fish per tank, 4 treatments, 3 replicates,) were hand-fed at 3% body weight. The results showed fish fed with BSF 50 diet were more efficient at utilizing dietary nutrients for growth than other groups by having the highest final mean weight, weight gain and specific growth rate, which was similar to the fish fed the Control diet and BSF 25 diets but significantly higher ($p < 0.05$) than fish fed BSF 75. There is no significant difference ($p < 0.05$) in feed conversion ratio (FCR) among the dietary treatments. However, fish-fed BSF 50 had the lowest FCR while the highest was seen in fish-fed BSF 75. This preliminary assessment shows that fishmeal could be partially replaced with BSF larval meal up to 50% and fish oil could be completely replaced with corn oil without negatively affecting the healthy growth of hybrid African catfish *Heteroclaris*.*

ÖSSZEFOGLALÁS

*Hathetes kísérletet végeztünk hibrid afrikai harcsával (*Heteroclaris*), amelyben a fekete katonalégy (BSF) lárvá liszt etetésének hatását vizsgáltuk a halak növekedési teljesítményére. A kísérletet recirkulációs rendszerben végeztük, kör alakú műanyag tartályokban (350 l), teljesen véletlenszerű elrendezésben. Négy izonitrogén (400 g kg⁻¹ nyersfehérje) és izolipid (140 g kg⁻¹ nyerszsír) receptúrát állítottunk össze, ahol a hal-lisztet (400 g kg⁻¹) 0, 25, 50 és 75%-ban BSF lárvaliszttel helyettesítettük. A halolajat teljesen kiváltottuk kukoricaolajjal a kísérleti takarmányokban. A halakat (kezdeti testtömeg 200 ± 25g, 15 hal akváriumonként, 4 kezelés, 3 ismétlés) kézzel etettük és az összbiomassza 3%-át kapták a halak naponta. Az eredmények azt mutatták, hogy a BSF 50 csoport esetében a kiegészítés pozitívan hatott a halak növekedésére, mivel ebben a*

csoporthan mértük a legnagyobb élsúlyt a vizsgálat végén, valamint a legkedvezőbb súlygyarapodást és fajlagos növekedési rátát is. Ez az érték hasonló volt a kontroll és a BSF 25 diétával etetett halakéhoz, de szignifikánsan magasabb volt ($p < 0,05$), mint a BSF 75 csoport halai esetében. A takarmányértékesítés tekintetében (FCR) nem találtunk szignifikáns különbséget ($p > 0,05$) a kezelések között. Azonban a BSF 50 csoport mutatta a legalacsonyabb FCR, míg a legmagasabb érték a BSF 75 csoportnál volt megfigyelhető. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a halliszt 50%-ig rész-ben helyettesíthető BSF lárvaliszttel, a halolaj pedig teljesen helyettesíthető kukoricolajjal anélkül, hogy negatívan befolyásolná az afrikai hibrid harcsa növekedését.

INTRODUCTION

Fish is an essential food source, providing over 15% of animal protein for human consumption, globally (FAO, 2024). While the supply of fish from capture fishery has remained stagnant since the 1990s, aquaculture production has been steadily growing and is currently the fastest-growing animal food production sector worldwide. Fishmeal and fish oil are the major ingredients in aquafeed. Fishmeal is high in protein with well-balanced amino acids. It is palatable and highly digestible. On the other hand, fish oil is an excellent source of valuable long-chain polyunsaturated fatty acids (LC-PUFA) such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) (Henry et al., 2015; Renna et al., 2017). However, the rising cost of fishmeal and fish oil due to overexploitation of its marine source is a major constraint to aquaculture growth, especially in developing countries. In recent decades, several research has been conducted to find alternative, cost-effective, sustainable ingredients that could wholly or partially replace fishmeal and fish oil.

There has been a renewed interest in using insects, especially larvae as ingredients in aquafeed due to their appreciably high protein and fat contents. These insects include the common housefly (*Musca domestica*), silkworm (*Bombyx mori*), field cricket (*Gryllus assimilis*), yellow mealworm (*Tenebrio molitor*) and the black soldier fly (*Hermetia illucens*) (Henry et al., 2015). Among these insects, the black soldier fly (BSF) larvae seemed to be the ideal ingredient as an alternative to fishmeal as it contains high protein content with well-balanced amino acids similar to the amino acid profile of fishmeal. It contains high levels of saturated fatty acids (SFA) and monounsaturated fatty acids (MUFA) but low levels of long-chain polyunsaturated fatty acids, especially EPA and DHA. However, because the fatty acid profile of the larvae reflects the fat content of their feed, it is possible to enrich the larvae to meet the fatty acid requirements of the target species (Makkar et al., 2014).

Several studies have shown that using BSF larval meal as a component of aquafeed supports healthy growth of numerous fish species including African catfish *Clarias gariepinus* (Adeoye et al., 2020), rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Renna et al., 2017), Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Devic et al., 2018), turbot *Scophthalmus maximus* (Kroeckel et al., 2012). However, little information is known on how hybrid African catfish, *Heteroclarias* responds to dietary fishmeal and fish oil replacement with BSF larval meal and corn oil regarding growth performance and nutrient utilization.

The objective of this study is therefore to assess the growth performance and nutrient utilization of hybrid African catfish, *Heteroclarias* fed on BSF larval-based diets.

MATERIALS AND METHODS

The experiment was conducted at the Fish Biology Laboratory, University of Debrecen, Hungary. It was conducted in a recirculatory system, in a completely randomized design. Hybrid African catfish, (*Heterobranchus longifilis* male × *Clarias gariepinus* female) with an initial body weight of 200 ± 25 g were cultured for six weeks in circular plastic tanks, 350 L (4 treatments, 3 replicates, 12 experimental units, 15 fish per tank). Four isonitrogenous (40 g kg^{-1}) and isolipidic (14 g kg^{-1}) diets were formulated whereby fishmeal (400 g kg^{-1}) was replaced by BSF larval meal at 0, 25, 50, and 75%. Fish oil was completely replaced with corn oil. The ingredients were weighed and thoroughly mixed with a mixer while 6% water was sprayed on it to form a homogenous dough. The mixture was pelleted at 4.5 mm and dried in an oven at 50°C for 48 h. The diets were stored in a clean plastic container at room temperature (24°C). Fish were hand-fed 3% of body weight, 3 times daily for 6 weeks. Sampling was carried out weekly. Chemical analysis was performed to determine the proximate composition, according to the Hungarian Standard methods as described in Molnár et al. (2022).

The following indices were calculated as follows;

- Weight Gain (%) = $(\text{Initial mean weight} - \text{final mean weight}) \times 100$
- Specific Growth Rate (SGR) = $\ln [(\text{mean final weight}) - \ln (\text{mean initial weight})] / (\text{time /days}) \times 100$
- Feed Conversion Ratio (FCR) = $(\text{weight of feed fed}) / (\text{weight gain of fish})$
- Fulton conditioning factor (K) = $W/L^3 \times 100$ (where W is the wet weight (g), L is the standard length (cm)).
- Feed intake (g) = Total feed intake per fish/no of days.

Data was checked for normality of distribution with the Kruskal-Wallis test. One-way analysis of variance (ANOVA) was applied to check the effects of the graded dietary BSF larval-meal inclusion on growth performance parameters. Homogeneity by Leven test, polynomial contrast to check the trend response, post-hoc by Turkey test. $P < 0.05$ is considered significant. All analyses were carried out using IBM SPSS version 29.

RESULTS AND DISCUSSION

Growth performance indices are presented as means $\pm$ standard error of the mean (Figure 1). All diets were accepted by fish. No mortality was recorded during the experiment. Fish fed the BSF 50 diet were more efficient at utilizing dietary nutrients for growth than other groups by having the highest final mean weight similar to fish fed the Control diet and BSF 25 diets but significantly higher ($p < 0.05$) than fish fed BSF 75 diet. This has been reflected in it having the highest weight gain and specific growth rate which was similar to fish fed the Control and BSF 25 diets but significantly different from fish fed BSF 75 diet which had the lowest mean of all the growth indices. In all, the trend response was quadratic. There is no significant difference ($p < 0.05$) in feed conversion ratio among the dietary treatments. However, fish-fed BSF 50 had the lowest FCR while the highest was seen in fish fed BSF 75.

Previous studies have shown no significant differences when fishmeal is substituted with alternative protein ingredients to a limited extent. Fishmeal is the main ingredient responsible for the palatability of feed (Kroeckel et al., 2012; Nephale et al., 2024). Substituting it at a high level could lead to low palatability and reduced feed intake. Although in the present study, feed intake was not significantly different ($p > 0.05$) among the dietary treatments, the feed intake was lowest in fish fed BSF 75.

The chemical composition of diets (data not included in this article) indicates a higher level of fibre and chitin contents with increasing levels of BSF larval meal inclusion. Previous studies have shown that while chitin is beneficial as an immunostimulant, it negatively affects nutrient uptake and digestibility in fish since most fish lack chitinase to break down dietary chitin (Kroeckel et al., 2012). This might have affected tissue accumulation of fish-fed BSF 75. The increased fibre content might have affected the relatively lower growth seen in fish-fed BSF 75 diets compared to the other groups.

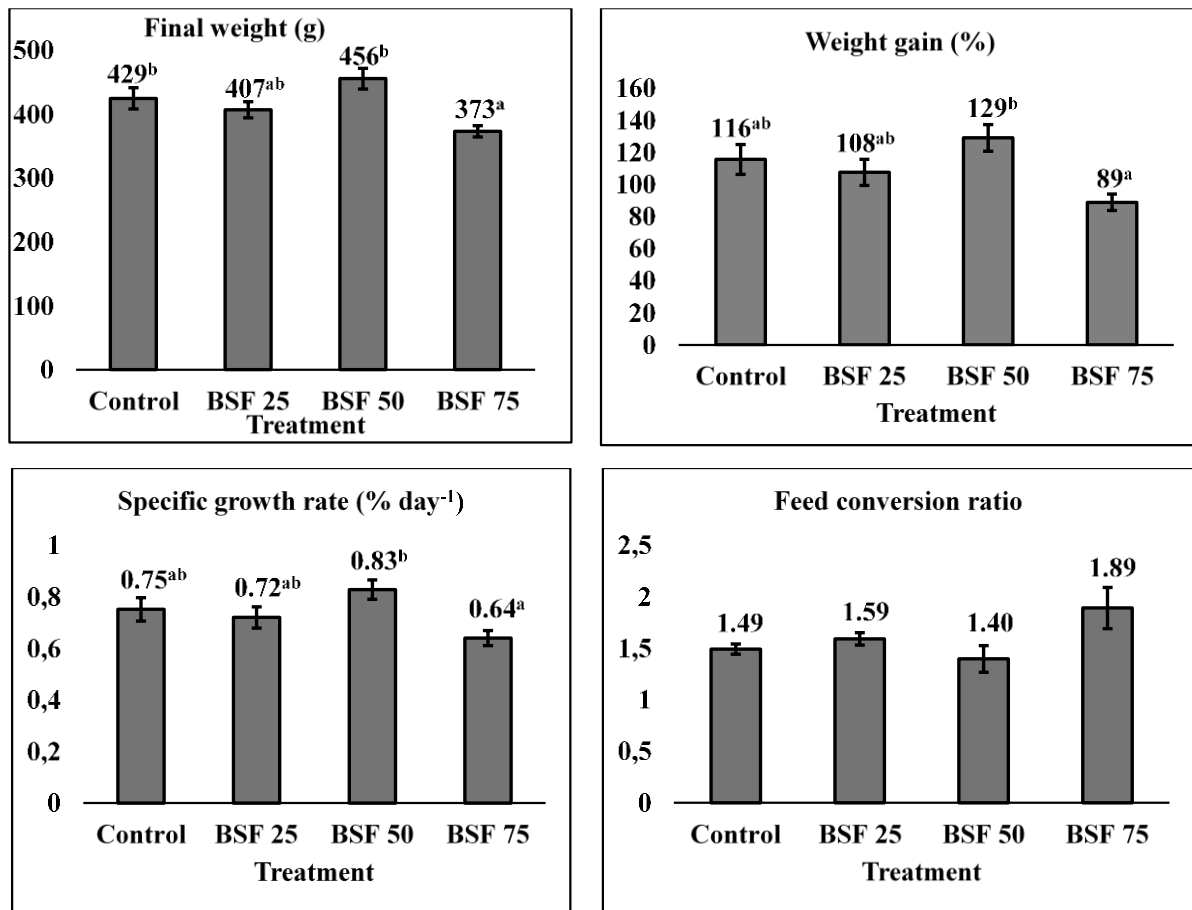


Figure 1 Growth performance indices of hybrid African catfish fed on graded levels of BSF larval diets. BSF25, BSF50, BSF75 – black soldier fly larva-based diet applied in 25, 50 and 75 g/kg feed

The present study agrees with a previous report by Adeoye et al. (2020) and Renna et al. (2017) in which the replacement of fishmeal up to 50% supported the healthy growth of African catfish *Clarias gariepinus* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*, respectively. In contrast, other researchers found that replacing fishmeal with BSF larval meal up to or above 75% did not negatively affect the healthy growth of African catfish *Clarias gariepinus* (Fawole et al., 2020).

Complete fishmeal substitution with BSF larval meal was reported for Atlantic salmon *Salmo salar* (Lock et al., 2016), and European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (Abdel-Tawwab et al., 2020). The differences could be attributed to the substrate the BSF larvae were reared on, the processing methods of the larvae, and the species and size of the experimental fish.

CONCLUSION AND RECOMMENDATION

This preliminary assessment of the effects of dietary replacement of fishmeal and fish oil with BSF larval meal and corn oil, respectively, shows that fishmeal could be partially replaced with BSF larval meal up to 50% and fish oil could be completely replaced with corn oil without negatively affecting the healthy growth of hybrid African catfish *Heteroclarias*.

Further studies need to be conducted to assess the long-term effects of fishmeal and fish oil substitution with BSF larval meal and corn oil, respectively, on growth, nutrient utilization and health profile of hybrid African catfish, *Heterobranchus*.

REFERENCES

- Abdel-Tawaab, A. A., Shakweer, M. S., Khallaf, M. A., & Abdel-Latif, H. M. R. (2020): Effects of black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal on growth performance, organsomatic indices, body composition, and hemato-biochemical variables of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 522(February), 735136. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735136>
- Adeoye, A. A., Akegbejo-Samsons, Y., Fawole, F. J., & Davies, S. J. (2020): Preliminary assessment of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larval meal in the diet of African catfish (*Clarias gariepinus*): Impact on growth, body index, and hematological parameters. *Journal of the World Aquaculture Society*, 51(4), 1024–1033. DOI: <https://doi.org/10.1111/jwas.12691>
- FAO (2024): The State of World Fisheries and Aquaculture 2024. Blue Transformation in action. Rome. DOI: <https://doi.org/10.4060/cd0683en>
- Fawole, F. J., Adeoye, A. A., Tihamiyu, L. O., Ajala, K. I., Obadara, S. O., & Ganiyu, I. O. (2020): Substituting fishmeal with *Hermetia illucens* in the diets of African catfish (*Clarias gariepinus*): effects on growth, nutrient utilization, haemato-physiological response, and oxidative stress biomarker. *Aquaculture*, 518. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734849>
- Henry, M., Gasco, L., Piccolo, G., & Fountoulaki, E. (2015): Review on the use of insects in the diet of farmed fish: Past and future. *Animal Feed Science and Technology*, 203(1), 1–22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2015.03.001>
- Kroeckel, S., Harjes, A., Roth, I., Katz, H., Wuertz, S., Susenbeth, A., & Schulz, C. (2012): When a turbot catches a fly: evaluation of a pre-pupae meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*) as fish meal substitute – growth performance and chitin degradation in juvenile turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture* 364. 345–352 DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.08.041>
- Lock, E. R., Arsiwalla, T., & Waagbø, R., (2016): Insect larvae meal as an alternative source of nutrients in the diet of Atlantic salmon (*Salmo salar*) postsmolt. *Aquac. Nutr.* 22, 1202–1213.

- Makkar, H. P. S., Tran, G., Heuzé, V., & Ankers, P. (2014): State-of-the-art on the use of insects as animal feed. *Animal Feed Science and Technology*, 197, 1–33. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008>
- Molnár, A. Toviho, O. A., & Fehér, M. (2022): Investigation of the production parameters, nutrient and mineral composition of mealworm (*Tenebrio molitor*) larvae grown on different substrates. *Acta Agraria Debreceniensis*, (1), 129–133. DOI: <https://doi.org/10.34101/actaagrar/1/10418>
- Nephale, L. E., Moyo, N. A. G., & Rapatsa-Malatji, M. M. (2024): Utilization of an insect-based diet by herbivorous fish (*Oreochromis mossambicus*) and opportunistic predator (*Clarias gariepinus*). *Scientific Africa*, 24, e02125. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sciaf.2024.e02125>
- Renna, M., Schiavone, A., Gai, F., Dabbou, S., Lussiana, C., Malfatto, V., Prearo, M., Capucchio, M. T., Biasato, I., Biasibetti, E., De Marco, M., Brugiapaglia, A., Zoccarato, I., & Gasco, L. (2017): Evaluation of the suitability of a partially defatted black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae meal as ingredient for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum) diets. *J. Anim. Sci. Biotechnol.*, 8(4), 957–969. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0191-3>

**KÜLÖN KÖSZÖNETÜNKET FEJEZZÜK KI
A 21. NEMZETKÖZI TAKARMÁNYOZÁSI SZIMPÓZIUM
ÉS EGY EGÉSZSÉG NAP KONFERENCIA
SZPONZORAINAK!**

Agrofeed Kft.

Agroszász Kft.

Alltech Hungary Kft.

ALPHA-VET Állatgyógyászati Kft.

Bólyi Mezőgazdasági Termelő és Kereskedelmi Zrt.

Eurofins Vetcontrol Kft.

Fino-Food Kft.

KOMÉTA 99 Zrt.

Noack Magyarország Kft.

PRO-FEED Kft.

UBM Feed Zrt.

Vitafort Zrt.
