

# **DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI**

**DR. BENCZE-NAGY JENNIFER**

**GEORGIKON CAMPUS**

**KESZTHELY**

**2023**



MAGYAR AGRÁR- ÉS ÉLETTUDOMÁNYI  
EGYETEM

GEORGIKON CAMPUS

**A MÁRIATÖVIS TAKARMÁNYOZÁS-ÉLETTANI ÉS  
ANTIMIKROBIÁLIS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA  
PECSENYEKACSAKBAN**

DOI: 10.54598/003980

**Dr. Bencze-Nagy Jennifer**

Keszthely

2023

## **A doktori iskola**

**megnevezése:** Festetics Doktori Iskola

**tudományága:** Állattenyésztési tudományok

**vezetője:** Dr. habil. Anda Angéla DSc  
egyetemi tanár, MTA doktora  
MATE, Georgikon Campus  
Növénytermesztés-tudományok Intézet, Agronómia Tanszék

**Témavezető:** Dr. Pál László, PhD  
egyetemi docens  
MATE, Georgikon Campus  
Élettani és Takarmányozástani Intézet,  
Takarmányozástani és Takarmányozás-élettani Tanszék

.....  
Az iskolavezető jóváhagyása

.....  
A témavezető jóváhagyása

## 1. A munka előzményei, célkitűzések

A víziszárnyas eredetű élelmiszerek előállítása hazánkban exportorientált ágazat, ahol a hatékonyság fokozása és a madárinfluenza miatt egyre nagyobb teret nyer a zárt tartás és intenzív takarmányozás. A közegészségügyi elvárások mellett a fogyasztók részéről is növekszik az igény az antibiotikumok felhasználása nélkül nevelt állományokból származó termékekre. Az antibiotikum felhasználás sikeres csökkentése csak a telepi állategészségügyi, tartástechnológiai és takarmányozási menedzsment egységes és összehangolt fejlesztésével érhető el. A takarmányozás oldaláról az antibiotikumok kiváltása érdekében az utóbbi évtizedekben egyre több tanulmány születik a legkülönbözőbb takarmánykiegészítőkkel, köztük a növények gyógyhatásán alapuló fitobiotikumokkal is. A kísérleteinkben vizsgálni kívánt gyógynövény kiválasztása során fontos szempont volt, hogy Magyarországon is könnyen és költséghatékonyan természetből és feldolgozható fajt alkalmazzunk. Választásunk a máriatövisre (*Silybum marianum*) esett, amelynek gyógyászati alkalmazásokban igazolt sikeressége sejtszinten a növény hatóanyagainak toxinellenes, antioxidáns, fehérjeszintézist fokozó, antifibrotikus, daganatellenes, vírusellenes és gyulladásgátló hatásainak köszönhető. A bélben kifejtett kedvező antimikrobiális hatásai révén hozzájárulhat az egészséges bélflóra kialakulásához. Mindezen hatások a kacsza hizlalás és máj előállítás során is érvényesülhetnek. Mivel ma még meglehetősen kevés kutatási és szakirodalmi adat áll rendelkezésre a máriatövis kacsák takarmányozásában történő felhasználásával kapcsolatban, vizsgálataimmal szeretnék hozzájárulni e sokoldalú növényfajjal kapcsolatos eredmények bővítéséhez.

Doktori kutatásom során többféle máriatövis termék (máriatövismag, máriatövismag pogácsa, máriatövismag olaj) hatásainak *in vitro* és *in vivo* vizsgálatával kapcsolatban a következő célkitűzéseket fogalmaztam meg:

Első kísérletem során célunk a máriatövismag pogácsa kivonat és a máriatövismag olaj által a kacsák csípőbél tartalmából származó négy mikrobacsoport szaporodására kifejtett antimikrobiális hatás vizsgálata volt agartenyésztéses módszer

segítségével. Az *in vitro* kísérlet során a máriatövis készítmények 0,5, illetve 1,5 g/100 ml tápközeg koncentrációjának hatására kialakuló baktérium szaporodási arányokat kívántam vizsgálni az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *coliform* (összes és fekális) és *Enterococcus* fakultatív patogén törzsekre, valamint a *Lactobacillus*-törzsekre nézve.

Második kísérletem célkitűzése a takarmány máriatövismag (0,5%), máriatövismag pogácsa (0,5%) és a máriatövismag olaj (0,1%) kiegészítésének vizsgálata volt deoxinivalenol (DON) és zearalenon (ZEN) mikotoxin szennyezettség mellett kacsák testsúlyára, egyes szervek (máj, lép, Fabricius-féle tömlő) relatív súlyára, a vérszérum klinikai-kémiai paramétereire (AST és ALT aktivitás, glükóz, koleszterin, triglicerid, kreatinin és húgysav koncentráció), illetve a máj, lép és Fabricius-féle tömlő korszövettani jellemzőire.

Harmadik kísérletemben arra kerestem a választ, hogy a takarmány 2% máriatövismag olaj kiegészítése egy frukto-oligoszacharidokat, valamint háromféle baktériumtörzset (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*) tartalmazó szimbiotikum kiegészítéssel együtt és külön, 2% napraforgóolaj kiegészítésű kontroll mellett milyen hatásokat vált ki kacsák hizlalása során. Célom volt a felnevelés során a hizlalási jellemzők (testsúly, súlygyarapodás, takarmányfelvétel, takarmányértékesítés) és egyes vágási mutatók (mell, combok és máj relatív súlya) meghatározása, a pankreatikus enzimek ( $\alpha$ -amiláz, lipáz, tripszin) aktivitásának, a vakbéltartalom rövid szénláncú zsírsav koncentrációjának, az aminosavak látszólagos ileális emészthetőségének, a máj antioxidáns rendszer működését jellemző fontosabb paramétereknek (GSH, GSHPx, MDA) mérése.

## 2. Anyag és módszer

Az ismertetett kutatási célkitűzéseknek megfelelően három különböző – egy *in vitro* és két *in vivo* – kísérletet végeztem el, amelyek módszertani részletei a következőkben kísérletenként kerülnek bemutatásra.

### 2.1. Máriatövismag pogácsa kivonat és máriatövismag olaj antimikrobiális hatásának *in vitro* meghatározása

#### 2.1.1. Kísérleti állatok

Vizsgálataimat a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézetében (korábbi Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ - Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom) végeztem. A kísérletben részt vevő összesen nyolc darab nyolchetes magyar fehér kacska a vágást megelőző napon érkezett meg Miskolczi Tibor pecsenyekacska-tenyésztőtől (2086 Tinnye, Damjanich u. 63.). Az állatok korábban nem kaptak gyógyszeres kezelést és nem is részesültek alternatív hozamfokozó kiegészítésben vagy vakcinázási programban, a kacsák felnevelési helyén az ökológiai állattenyésztés alapelveit alkalmazták. A kacsák a vágást megelőzően a takarmányt és az ivóvizet *ad libitum* fogyasztották, ami a mintavétel érdekében szükséges lehető legnagyobb mennyiségű béltartalmat is biztosította.

#### 2.1.2. Mintavétel

A vágás során az állatokat megfelelően rögzítettem, majd a nyaki erek átvágását követően sor került az állatok kivéreztetésére. A testeket nem forráztam és nem vetetem alá egyéb előkészítési eljárásnak sem. A friss hullák bontásakor a bőr nyaktól kloákáig történő felvágását követően került sor a bordák átvágása által a mellcsont eltávolítására és a hasüreg megnyitására. A máj kiemelését követően a belek láthatóvá váltak. Az emésztőtraktus felső elkötésére a belek sértetlen eltávolítása érdekében közvetlenül a zúzógyomortól proximálisan került sor, míg az alsó lekötés helye

a vastagbél kloákához közeli szakaszán történt. A belek sértetlen kiemelését követően az eltávolított szakaszt tálcára terítettem, majd a vakbél beszájadásánál elvágtam a beleket, így a vágástól 30-40 cm-re proximálisan lévő csípőbél szakaszból steril körülmények között nyertem ki a vizsgálandó ileális mintát (átlagosan 5 g/kacsa). Az egyedi mintákat egyesítettem és homogenizáltam, majd a vizsgálatokig  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  hőmérsékleten fagyasztva tároltam.

### 2.1.3. Mikrobiológiai vizsgálatok és kezelések

Kísérletem során a máriatövis két felhasználási formájának (magpogácsa és olaj) antibakteriális hatását vizsgáltam a bélflóra négy mikrobacsoportjára. A máriatövis préselvényt és az olajat a Safimpex Kft-től (2600 Vác, Pipitér utca 6.) vásároltam. A máriatövismag pogácsában található hatóanyagokat  $37^{\circ}\text{C}$ -on két órás desztillált vizes áztatás révén vontam ki, míg a növény olaját emulgeáló szerrel (hexán) tettem oldhatóvá.

A kísérleti csoportok az alábbiak voltak:

1. csoport: kontroll csoport
2. csoport: máriatövismag pogácsa kivonat 0,5 g/100 ml táptalaj koncentrációban
3. csoport: máriatövismag pogácsa kivonat 1,5 g/100 ml táptalaj koncentrációban
4. csoport: máriatövismag olaj emulgeátum 0,5 g/100 ml táptalaj koncentrációban
5. csoport: máriatövismag olaj emulgeátum 1,5 g/100 ml táptalaj koncentrációban

A klasszikus agartenyésztéses módszeren alapuló vizsgálatom során elkészítettem a kísérleti tápközegeket, a *Lactobacillus*-törzseket MRS (de Man, Rogosa, Sharpe; Scharlab Magyarország), az *Enterococcus*-törzseket SB (Slanetz és Bartley; Scharlab Magyarország), míg az *Enterobacteriaceae* családba tartozó *coliform*-törzseket MacConkey (Scharlab Magyarország) típusú szelektív táptalajokon tenyésztettem. A táptalajokhoz a sterilizést követően adtam hozzá a máriatövis alapú vizsgált anyagokat a kísérleti csoportoknak megfelelően. Kimértem 1 g béltartalom mintát és Erlenmeyer-lombikban hozzáadtam 90 ml Ringer oldathoz, majd ebből hígítási sort készítettem  $10^5$  nagyságrendig. A megfelelő hígításokból ( $10^1$ ,  $10^3$ ,  $10^4$ ,  $10^5$ ) 1-1 ml-

t Petri-csészébe pipettáztam, erre a megfelelő táptalajból 15 ml-t öntöttem, annak 50 °C-ra való hűlése után, és finoman elegyítettem vele. A mintákat az előírások szerint állandó hőmérsékleten, 37 C°-on (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, összes *coliform*) és 44 C°-on (fekális *coliformok*), 48 óráig inkubáltam. Az inkubációs idő leteltét követően a Petri-csészéket kiértékeltem, így a béltartalom minták összes és fekális *coliform*, *Enterococcus* és *Lactobacillus* telepképző számáról (TKE) és a fentebb leírt kezelések bélbaktériumokra ható legkisebb numerikus gátlásának koncentrációjáról kaptam információt. Minden kísérleti csoport esetében három mérési sorozat eredményeit átlagoltam (n=3). Az egyes kezelések esetén mért logTKE (telepképző egység) értéket a kontroll kezelés logTKE értékéhez (100%) viszonyítottam és így határoztam meg a gátlási %-ot.

#### 2.1.4. Statisztikai módszerek

Az agartenyésztés eredményeként kapott logTKE átlagok esetében a kísérleti kezelések hatásainak értékeléséhez Kruskal-Wallis analízist, majd szignifikáns hatás kimutatását követően a csoportok közötti különbségek vizsgálatához Mann-Whitney tesztet használtam. A szignifikancia-szintet  $P \leq 0,05$  értéken határoztam meg. A statisztikai elemzést az SPSS 20.0 for Windows szoftvercsomagokkal végeztem.

## **2.2. Mikotoxinokkal szennyezett takarmány különböző máriatövis kiegészítéseinek hatása a vérsérum klinikai kémiai és egyes szervek kórszöveti jellemzőire**

### 2.2.1. Kísérleti állatok és kezelések

Kísérletemet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézetének kísérleti telepén (korábbi Nemzeti Agrárkutatási és Innovációs Központ - Állattenyésztési, Takarmányozási és Húsipari Kutatóintézet, Herceghalom) végeztem összesen 80 db nőivarú fehér magyar kacsza felhasználásával. A kísérleti állatokat napos korukban Miskolczi Tibor (2086 Tinnye, Damjanich u. 63.) keltető telepéről szereztem be és mélyalmos fülkékben helyeztem el, melyekben



alomanyagként aprított búzaszalmát alkalmaztam. A kacsák a kísérlet során nem részesültek semmilyen gyógyszeres kezelésben vagy vakcinázásban. A terem hőmérsékletét, páratartalmát és szellőztetését a fajta igényeinek megfelelően részben számítógép, részben pedig manuálisan vezérelt rendszer segítségével szabályoztam a kísérlet teljes időtartama alatt. A naps állatok megfelelő testhőmérsékletének biztosítását fülkénként elhelyezve egy-egy infralámpa segítette. A fogadást követő napokban az infralámpák alatt 32-33°C-os, míg a teremben 30 °C-os átlaghőmérsékletet biztosítottunk a madarak számára, melyet fokozatosan csökkentettem az életkori igényeknek megfelelően. Az ivóvizet kúpos itatókkal, a takarmányt kézi feltöltésű etetőkkal biztosítottam, amelyekben az ivóvíz és a takarmány *ad libitum* állt az állatok rendelkezésére a kísérlet teljes ideje alatt. A felnevelés során kétfázisú takarmányozást alkalmaztam. A kísérlet 0-14. napja között indító, míg a 15-42. napja között nevelő tápot kaptak az állatok. A kísérleti keverékek a Farmermix Kft. takarmánykeverő üzemében (2072, Zsámbék, Etyeki út 23.) készültek. A kísérlet megfelelt 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről feltételeinek és azt jóváhagyta a Munkahelyi Állatjólleti Bizottság (MÁB-1/2017).

Az állatokat naps korban véletlenszerűen négy kezelési csoportra osztottam szét, kezelésként öt fülkében (n=20/kezelés, n=4/fülke). A kísérleti takarmánykezelési csoportok az alábbiak voltak: kontroll csoport (A), 0,1 % máriatövismag olaj kiegészítés (B), 0,5 % máriatövismag pogácsa kiegészítés (C) és 0,5 % máriatövismag kiegészítés (D). A máriatövis kiegészítőket a Safimpex Kft-től (2600 Vác, Pipitér utca 6.) vásároltam. A máriatövis kiegészítések a megadott koncentrációkban a kontroll keverékekhez lettek adagolva. A kísérleti takarmánykeverékekhez deoxinivalenol (DON) és zearalenon (ZEN) mikotoxinokkal természetesen szennyezett kukoricát alkalmaztam, melyben a mikotoxinok ELISA módszer segítségével mért koncentrációja 4,9 mg/kg DON és 0,66 mg/kg ZEN volt. A DON számított koncentrációja az indító tápban 3,43 mg/kg, a nevelő tápban 3,72 mg/kg volt, míg a ZEN számított koncentrációja 0,46 és 0,50 mg/kg volt az indító, illetve a nevelő tápban. A toxinok takarmányokra vonatkoztatott számított étrendi koncentrációja a DON

esetében alacsonyabb volt, mint a teljes értékű baromfitápok esetében a maximális irányérték (5,0 mg/kg; 2006/576/EK irányelv), míg a ZEN számított koncentrációja az indító tápban csaknem meghaladta azt (0,5 mg/kg; 2006/576/EK), sőt a nevelő takarmányban el is érte az irányértéket. A kísérleti takarmányokban a DON és ZEN gombatoxinokon kívül más fuzariotoxinok koncentrációját nem mértem, jelenlétük azonban nem zárható ki.

### 2.2.2. Klinikai állapot, szervek súlymérése és mintavételek

Az állatok klinikai állapotát naponta megfigyeltem, különös tekintettel a takarmányvisszautasításra, az emésztőszervi problémákra utaló hasmenéses esetekre és az emésztetlen takarmány jelenlétére az ürülékben, illetve a fajra jellemző viselkedési mintázattól való eltérések (bágyadtság, tónusos mozdulatlanság, feszültség és idegesség) esetleges jelenlétére. A kísérlet 14. és 28. napján a kísérleti állatok közül kezelésenként 5-5 db, míg a 42. napon csoportonként 8-8 db kacska került véletlenszerűen kiválasztásra és vágásra az egyedi súlymérést és vérvételt követően. A vérvétel megfelelő rögzítés mellett a kacsák szárnyvénájából (*v. cutanea ulnaris*) történt. Állatonként 1-1 ml mintát gyűjtöttem véralvadásgátlót nem tartalmazó vérvételi csövekbe. A szérumot 5500 g-os 10 perces centrifugálást követően leválasztottam, majd pipetta segítségével 1,5 ml-es Eppendorf-csövekbe helyeztem, végül -20 °C-on tároltam a további elemzésig. Ezután sor került az állatok szén-dioxid gázzal történő kábítására, végül pedig a nyaki erek átvágásával történő kivéreztetésre. Makroszkóposan megvizsgáltam az állatok szájgaratüregét és nyelőcsövét. A testüreg megnyitását követően eltávolításra és súlymérésre került a máj, a lép, valamint a Fabricius-féle tömlő (*bursa Fabricii*). Kiszámítottam a szervek relatív súlyát, melyet a vágás előtt mért testsúlyhoz viszonyítva százalékban fejeztem ki. Hisztológiai vizsgálat céljából a fentebb felsorolt szervekből 10-10 g mintát 10 %-os pufferolt formaldehid oldatban tartósítottam.

### 2.2.3. Analitikai és kórszövettani vizsgálati módszerek

A felhasznált kukorica DON- és ZEN-koncentrációját a kereskedelemben kapható RIDASCREEN™ DON és RIDASCREEN™ ZEN ELISA kitek (R-Biopharm GmbH, Darmstadt, Németország) segítségével határoztam meg. A vérszérumminták klinikai kémiai elemzését (AST és ALT-aktivitás, glükóz-, koleszterin-, triglicerid-, kreatinin- és húgysav-koncentráció) a Vet-Med-Labor Kft. végezte kolorimetriás reagens készletekkel (Diagnosticum Zrt., Budapest), spektrofotometriás módszer segítségével. A kórszövettani vizsgálatokat az Autopsy KKT végezte a 42/2014. (VIII. 19.) EMMI rendelet a helyes laboratóriumi gyakorlat alkalmazásáról és ellenőrzéséről szóló rendelet szerint, mely megfelel az OECD-GLP, ENV/MC/CHEM (98) 17. 12. irányelveinek. A 10 %-os pufferolt formaldehid oldatban fixált máj-, lép- és Fabricius-féle tömlő mintákat paraffinba ágyasztuk, majd 5 µm vastag metszeteket készítettem, melyeket hematoxin-eozinnal festettem meg. A szövetek morfológiáját fénymikroszkóp alatt figyeltem meg. Az átlagos szövettani pontszámot az érintett állatok vizsgált szerveiben észlelt szövettani lézió fokozatából és stádiumából származtattam. A felsorolt elváltozásokat egyedenként jellemeztem (1 pont = enyhe, 2 pont = közepes, 3 pont = erős elváltozások), majd kiszámítottam a csoport átlagértékeit. A máj esetében sor került a májsejtek citoplazmájának vakuolás degenerációjának, a magános májsejtelhalás, a mononukleáris phagocita rendszer (MPS)-hez tartozó sejtek elhalásának, a lymphocytás és histiocytás beszűrődések, valamint az interstitialis kötőszövet szaporulat (fibrózis) mértékének meghatározására. A lép vizsgálata során a Malpighi-testek, a Fabricius-féle tömlő esetében a lymphocyta-állomány megfogyása, azaz a lymphocyta-kiürülés mértéke került osztályozásra.

### 2.2.4. Statisztikai módszerek

Az állatok testsúlyát, a szervek súlyát és a vérszérum klinikai kémiai paramétereit egytényezős varianciaanalízis (ANOVA) segítségével értékeltem az adatok normál eloszlásának (Kolmogorov-Smirnov teszt) és a varianciák homogenitásának

(Levene-teszt) ellenőrzését követően. A kórszöveti adatok esetében Kruskal-Wallis analízist, illetve Khi-négyzet tesztet alkalmaztam az átlagos pontszám és az érintett állatok arányának értékeléséhez. A szignifikanciát  $P \leq 0,05$  értéken határoztam meg. A statisztikai elemzést az SPSS 20.0 for Windows szoftvercsomagokkal végeztem.

### **2.3. A takarmány máriatövismag olaj és szimbiotikum kiegészítésének hatása egyes hizlalási, vágási, emésztés-élettani és antioxidáns paraméterekre**

#### 2.3.1. Kísérleti állatok és takarmánykezelések

Kísérletemet a Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élettani és Takarmányozástani Intézetének kísérleti telepén (Georgikon Campus, Keszthely) végeztem összesen 240 db Cherry Valley SM3 hibrid gácsér részvételével. A kísérlet megfelelt 40/2013. (II. 14.) Korm. rendelet az állatkísérletekről feltételeinek és azt jóváhagyta a Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (MÁB-2/2017). A víziszárnyasok napos korban a Hungerit Zrt. (6600 Szentés, Attila út 3.) keltetőjéből kerültek szállításra. A kacsák a kísérlet során nem kaptak gyógyszeres kezelést vagy vakcinát. Az állatokat véletlenszerűen négy csoportra osztottam, majd kezelésenként hat ismétlésben, összesen 24 fülkében, fülkénként 10-10 egynapos kacsát helyeztem el. A horganyzott huzalból és lemezből készült, sorszámmal ellátott mélyalmos fülkékben szecskázott búzaszalmát alkalmaztam alomanyagként. A fülkék hasznos alapterülete  $1,75 \text{ m}^2/\text{fülke}$  volt, így a telepítési sűrűség  $5,71 \text{ állat/m}^2$ -nek felelt meg. A terem hőmérsékleti, páratartalom és ventilációs paramétereit a hibrid igényeinek megfelelően szabályoztam automata, számítógéppel vezérelt rendszer segítségével a kísérlet teljes időtartama alatt. A fiatal kacsák számára optimális hőmérséklet biztosítása érdekében minden fülkében egy-egy infralámpát helyeztem el. A betelepítést követő napokban az infralámpák alatt  $32-33^\circ\text{C}$ , míg a teremben  $30^\circ\text{C}$ -os átlaghőmérséklet volt jelen, melyet fokozatosan csökkentettem az életkori igényeknek megfelelően. A 22. naptól a kísérlet végéig folyamatosan  $18^\circ\text{C}$ -os hőmérsékletet biztosítottam az állatok szintjén

mérve. Az ivóvizet harang önitatók, a takarmányt kézi feltöltésű etetők segítségével biztosítottam, amelyekben az ivóvíz és a takarmány *ad libitum* állt a kacsák rendelkezésére. A 43 napos hizlalási kísérlet alatt háromfázisú takarmányozást alkalmaztam, melynek mindhárom szakaszában (indító: 0-9. nap, nevelő: 10-16. nap, befejező: 17-43. nap) fogyasztották a négy kezelés takarmánykeverékeit.

A kísérleti kezelések a következők voltak: 2 %-os napraforgóolaj kiegészítés szimbiotikum nélkül (A), 2 %-os máriatövismag olaj kiegészítés szimbiotikum nélkül (B), 2 %-os napraforgóolaj kiegészítés 1 g/kg szimbiotikummal (C), 2 %-os máriatövismag olaj kiegészítés + 1 g/kg szimbiotikummal (D). Kísérletem során a kereskedelemben is kapható Floriol finomított napraforgó étolajat alkalmaztam. A hidegen préselt máriatövismag olajat a Natúr Press Team Kft-től (2948 Kisigmánd Újpuszta 0195/1 Hrsz) vásároltam. A Poultry Star® (Biomim GmbH, Ausztria) nevű, kereskedelmi forgalomban kapható szimbiotikum prebiotikus hatású frukto-oligoszacharidokat és SPF csirkék béltartalmából izolált baktérium törzseket (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*) tartalmazott.

A dercés takarmányok összetételét és számított táplálóanyag-tartalmát a fajta igényeinek megfelelően állítottam össze. A kísérlet utolsó napján végzett a mintavételek előtti öt nap folyamán (38-43. nap) a kísérleti állatok 0,5%-ban TiO<sub>2</sub> jelzőanyagot tartalmazó tápokot fogyasztottak. A jelzőanyag 0,5%-os bekeverése érdekében a befejező táp kukorica-koncentrációja került 0,5%-kal csökkentésre. A máriatövismag olaj szilimarin-tartalma két minta átlagában 164 µg/ml volt, a meghatározást a Bálint Analitikai Kft. (1116 Budapest, Fehérvári út 144.) végezte.

### 2.3.2. Termelési paraméterek mérése

A kacsák egyedi testsúlyának mérésére a kísérlet 0., 9., 16. és 43. napján került sor, majd a kapott eredményekből a mérési napok közötti időszakok és a teljes kísérletre vonatkozó súlygyarapodást számítottam ki. A takarmányfelvétel meghatározását fülkénként és kezelési csoportonként végeztem a 0., 9., 16. és 43. életnap időszakaira

és a teljes kísérletre nézve. A fülkénkénti súlygyarapodás és takarmányfelvétel adatok alapján a kezelésenkénti takarmányértékesítés számítását is elvégeztem.

### 2.3.3. Mintavételek

A nevelés 43. napján mintagyűjtés céljából kezelésenként 5 fülkéből 2 darab, azaz kezelésenként 10, összesen pedig 40 kacsza került véletlenszerűen kiválasztásra. Az élősúlyok lemerését követően sor került az állatok szén-dioxid gázzal történő kábítására és kíméletes levágására. A testüreg megnyitása után eltávolításra és súlymérésre kerültek a mellfilé, a combok és a máj. A jobb lebenyből gyűjtött májmintákat azonnal folyékony nitrogénbe helyeztem és  $-80^{\circ}\text{C}$ -on tároltam az antioxidáns paraméter vizsgálatok elvégzéséig. Egyedenként béltartalom-mintákat gyűjtöttem az éhbélből (jejunum), a csípőbélből (ileum) és a vakbél mindkét oldali részéből (caecum). Az éhbélből származó mintákat az éhbél teljes hosszának hozzávetőleg 50 %-ot kitevő proximális részéből gyűjtöttem. A csípőbél tartalmát a vakbél beszajázdása és a Meckel-féle diverticulum közti bélszakaszból gyűjtöttem. A béltartalom mintákat az analíziselig  $-20^{\circ}\text{C}$ -on tároltam.

### 2.3.4. Analitikai módszerek

#### 2.3.4.1. A májminták mérésének analitikai módszerei

A májminták antioxidáns paramétereinek mérése a MATE ÉTI Takarmánybiztonsági Tanszék laboratóriumában történt. A redukált glutation (GSH) koncentráció a májszövetből készített 1:9 homogenizátum 10.000 g szupernatans frakciójából volt mérhető (Sedlak és Lindsay, 1968). A fehérje-szulfhidril csoportok eltávolítása érdekében a reakciót 10 % (w/v) TCA oldattal történő fehérjekicsapást követően végeztem el. A nem-fehérje szulfhidril-csoportokkal színes komplexet képező reagens 5,5'-ditiobis-(2-nitro-benzoésav) volt, amely a Tris-pufferrel (pH: 8,9) történő 8,0-8,2 pH beállítását követően 412 nm-en adszorpciós maximumot mutat, így spektrofotometriásan mérhető. A mennyiségi meghatározás a GSH adott rendszerben meghatározott moláris extinkciós koefficiens értéke ( $E_{1\text{cm}} 1\% = 13100$ ) alapján történt.

A glutation-peroxidáz (GSHPx) enzim aktivitását a májszövetből készített 1:9 homogenizátum 10.000 g szupernatans frakciójában mértem (Matkovics et al., 1988). A módszer elvének alapja, hogy a GSH glutation-diszulfiddá (GSSG) dimerizálódik egy, az enzim közreműködésével indukált oxidációs folyamatban, oxigén szabadgyökök jelenlétében. A mérést kumul-hidroperoxid (CHPO) és GSH ko-szubsztrátok jelenlétében végeztem, ahol Tris- pufferrel (pH 7,6) történt a megfelelő kémhatás beállítása. Az inkubációs idő 10 perc volt szobahőmérsékleten, amelyet 10 % (w/v) TCA oldattal állítottam le. A glutation oxidációjának mérésére ebben az esetben is 5,5'-ditiobis-(2-nitro-benzoészav) szulfhidril reagenst alkalmaztam, amely a Tris-pufferrel történő 8,0-8,2 pH beállítását követően 412 nm-en spektrofotometriásan mérhető sárga komplexet képez a maradék reaktív SH-csoportokkal.

A tiobarbitursav-reaktív malondialdehid (MDA) koncentrációját a májszövet natív homogenizátumában mértem (Placer et al., 1966; Matkovics et al., 1988). A mérés elve, hogy a malondialdehid 2-tiobarbitursavval 100°C-on, 20 perc alatt savanyú közegben sárgás-vörös színű komplexet alkot, amelynek 535 nm-en adszorpciós maximuma van, amely hullámhosszon spektrofotometriásan mérhető.

A máj szövethomogenizátumok fehérje koncentrációját a 10.000 g szupernatans frakció Folin-fenol reagenssel adott színreakciója alapján mértem, ahol szarvasmarha szérum albumin szolgált standardként (Lowry et al., 1951).

#### 2.3.4.2. A takarmány és béltartalom minták mérésének analitikai módszerei

Az éhbéltartalom-eredetű mintákból meghatároztam egyes pankreatikus enzimek, így az  $\alpha$ -amiláz, lipáz és tripszin aktivitását spektrofotometriás módszerrel. Az  $\alpha$ -amiláz aktivitását Dahlqvist (1962), míg a lipáz aktivitást Schön et al. (1961) által kidolgozott módszerrel határoztam meg. A tripszinaktivitást Boehringer-tesztel mértem, Kakade et al. (1969) módszere alapján.

Mérésre került a kísérleti takarmánykeverékek nyerszsír (MSZ EN ISO 6492), nyersrost (MSZ EN ISO 6865: 2001), teljes foszfor (MSZ EN ISO 6491: 2001) és kalcium (MSZ EN ISO 6869: 2001) tartalma. A csípőbéltartalom- és takarmánymintákból

meghatározásra került a szárazanyag-tartalom (MSZ EN ISO 6496:2001), a nyersfehérje-tartalom (MSZ EN ISO 5983-2:2009), egyes aminosavak (lizin, metionin, treonin, arginin, hisztidin, fenilalanin, prolin, glicin, valin, leucin, izoleucin, cisztein, aszparaginsav, szerin, glutaminsav, alanin, tirozin) és a TiO<sub>2</sub> koncentrációja. Az aminosavak koncentrációjának mérése automata aminosav-analízátorral történt (Ingos Amino Acid Analyser AAA 400; Ingos, Csehország). A meghatározás előtt a mintákat hangyasavban oxidáltam, hogy a metionin és cisztin tartalom veszteségét megelőzzem. Ezt követően a mintákkal 24 órán keresztül, 110 °C-os hőmérsékleten, 6M-os HCl oldattal savas hidrolízist végeztem. A TiO<sub>2</sub> tartalmat Libra S12 UV-VIS spektrofotométer segítségével határoztam meg, 410 nm-es hullámhosszon mérve, Short et al. (1996) módszere alapján. Az aminosavak látszólagos ileális emészthetőségét a következő egyenlet alapján számítottam ki. Aminosav emészthetőség (%) =  $\{(IAAb - IAAt) / IAAb\} \times 100$ ; ahol IAAb: indikátor/aminosav arány a béltartalomban; IAAt: indikátor/aminosav arány a takarmányban.

A rövid szénláncú zsírsav (SCFA) tartalmat a takarmánymintákból, a napraforgó- és a máriatövismag olajból, valamint a vakbél jobb és bal oldali bélszakaszának elegyített tartalmából határoztam meg gázkromatográfiás módszerrel (TRACE 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). A módszer rövid leírása: a fagyasztott mintákat felolvasztottam és alaposan összekevertem. Ezt követően 250 µl béltartalmat vettem és összekevertem 600 µl 1,11 M sósavval. A gázkromatográfot 30 m (0,25 mm belső átmérőjű) olvasztott szilikagél oszloppal (Nukol oszlop, Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) szereltem fel. Lángionizációs detektort (FID) használtam osztott split-tel (1:50), az injektálási térfogat 1 µL volt 220 °C-on, a detektálás 250 °C-on történt. A hordozógáz hélium volt 83 kPa nyomással. A kalibráláshoz szabványos SCFA-k (1, 4, 8 és 20 mM) keverékeit használtam, amelyek külső standardként acetátot, propionátot, n-butirátot és n-valerátot tartalmaztak.

A takarmányok és olajok zsírsavösszetételének meghatározása érdekében a teljes zsírtartalmat extraháltuk, és a lipidkivonatokat BF3-metanollal zsírsav-



metilészterekké alakítottuk (AOAC, 1990). A zsírsav-metilésztereket elválasztottuk és gázkromatográfiával elemeztük Omegavax 320 kapillárisoszloppal (30 m hosszú x 0,32 mm belső átmérő, 0,25 µm film) TRACE 2000 gázkromatográfival (TRACE 2000, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA). A kemence és a lángionizációs detektor hőmérsékletét 200, illetve 260 °C-ra állítottuk be. Héliumot használtunk vivőgázként (25 cm/s, 200 °C-ra állítva), és a split arány 100:1 volt. Az egyes zsírsavak azonosítását zsírsav-metilészterek ismert standard keverékével (PUFA-2, Supelco katalógusszám: 4-7015-U; Supelco, Bellefonte, PA, USA) összehasonlítva végeztük.

#### 2.3.5. Statisztikai módszerek

Az adatokat kéttényezős varianciaanalízis és Tukey post hoc teszt segítségével értékeltem az adatok normál eloszlásának (Kolmogorov-Smirnov teszt) és a variancia homogenitásának (Levene-teszt) vizsgálatát követően. A szignifikanciát  $P \leq 0,05$  értéken határoztam meg. A statisztikai elemzést az SPSS 20.0 for Windows szoftvercsomagokkal végeztem.

### 3. Eredmények és értékelésük

*In vitro* vizsgálatom során mind a máriatövismag pogácsa kivonat, mind pedig a máriatövismag olaj mindkét (0,5 és 1,5 g/100 ml tápközeg) koncentrációjának alkalmazása esetén a kontroll kezeléshez képest az összes és fekális *coliform*, illetve az *Enterococcus* baktériumok logTKE értékei szignifikánsan nem különböztek ( $P>0,05$ ). Az eredmények viszont tendenciaszerűen a kezelések kismértékű antimikrobiális hatását mutatták a vizsgált fakultatív patogén baktérium csoportokra. Ugyanakkor a *Lactobacillus*-törzseket vizsgálva a máriatövismag pogácsa kivonat 1,5 g/100 ml dózisa, illetve a máriatövismag olaj mindkét alkalmazott koncentrációja a kontroll csoporthoz képest szignifikánsan nagyobb logTKE értékeket eredményezett, a *Lactobacillusok* száma magasabb volt a kontroll csoporthoz képest ( $P<0,05$ ). A kontroll csoporthoz (100%) viszonyított, relatív logTKE értékek alapján számított gátlási arányok kezelésenként az 1. táblázatban láthatók.

#### 1. táblázat: A kísérleti kezelések hatása egyes baktérium csoportok gátlási arányára (%).

Kísérleti kezelés	Adalék konc. a tápközegben	Coli-form (összes)	Fekális coli-form	Enterococcus	Lactobacillus
Kontroll	0g/100 ml	0	0	0	0
Máriatövismag pogácsa kivonat	0,5 g/100 ml	2,5	3,1	1,7	0,4
	1,5 g/100 ml	11,5	11,4	8,0	-20,4
Máriatövismag olaj	0,5 g/100 ml	4,1	3,7	2,2	-17,1
	1,5 g/100 ml	6,9	9,2	8,3	-16,7

Kísérletem eredményei alapján valószínűsíthető, hogy a máriatövis aktív hatóanyagainak köszönhetően nagyobb számban jelen lévő *Lactobacillus* fajok a kompetíció által, illetve az általuk termelt tejsav béltartalom pH-ját csökkentő hatása révén gátló hatást fejthetnek ki a fakultatív patogén kórokozókra.

Második kísérletem során a máriatövismag olajat fogyasztó csoportban a 42. napon szignifikánsan kisebb volt a kacsák testsúlya a kontroll állatokhoz képest ( $P<0,05$ ; 2. táblázat). Az állatok relatív májsúlyát a máriatövis kezelések nem befolyásolták

szignifikánsan (2. táblázat). A 28. napon a lép relatív súlya jelentősen kisebb volt a máriatövismag pogácsa kísérleti csoportban a kontroll csoporttal összehasonlítva, míg a Fabricius-féle tömlő relatív súlya szintén ebben a csoportban szignifikánsan elmaradt a máriatövismag olaj kiegészítésben részesülő csoporthoz képest ( $P < 0,05$ ). A kísérlet végére a lép és a Fabricius-féle tömlő esetén tapasztalható szignifikáns eltérések kiegyenlítődték, a szervek relatív súlyát vizsgálva egyik kezelésnél sem tapasztaltam igazolható különbségeket a kontroll csoporthoz viszonyítva.

## 2. táblázat: A kísérleti kezelések hatása a kacsák testsúlyára (g), valamint a máj relatív súlyára (%)

	Kezelés	14. nap		28. nap		42. nap	
		Átlag	SEM	Átlag	SEM	Átlag	SEM
Testsúly (g)	A	313,60	15,75	1160,40	66,21	2393,00 <sup>a</sup>	80,23
	B	307,60	23,18	1184,80	38,40	2102,75 <sup>b</sup>	42,53
	C	268,40	23,99	1090,40	40,53	2262,00 <sup>ab</sup>	52,54
	D	355,20	32,61	1216,00	29,83	2152,50 <sup>ab</sup>	52,42
	<i>P-érték</i>		<i>NS</i>		<i>NS</i>		<i>P = 0,044</i>
Máj relatív sú- lya (%)	A	4,55	0,42	2,73	0,20	2,72	0,06
	B	4,15	0,07	2,79	0,15	2,34	0,09
	C	4,55	0,32	2,54	0,11	2,54	0,09
	D	4,12	0,22	2,74	0,11	2,67	0,16
	<i>P-érték</i>		<i>NS</i>		<i>NS</i>		<i>NS</i>

*A: kontroll, B: 0,1 % máriatövismag olaj, C: 0,5 % máriatövismag pogácsa, D: 0,5 % máriatövismag; NS: nem szignifikáns ( $P > 0,05$ ); <sup>abc</sup> Az azonos oszlopban lévő eltérő felső betűvel ellátott átlagértékek szignifikánsan különböznek ( $P < 0,05$ )*

A mért klinikai kémiai paraméterek közül csak a szérumban a kreatinin-koncentrációt befolyásolták szignifikánsan a kísérleti kezelések, a többi paraméter (AST, ALT, glükóz, koleszterin, trigliceridek, húgysav) esetén nem tapasztaltam igazolható különbségeket. A kísérleti kezelések hatását a máj, a lép és a Fabricius-féle tömlő kórszöveti eredményeire a 3. táblázat tartalmazza. A kísérletem során alkalmazott máriatövis kezelések hatékonyan csökkentették a megfigyelt kórszöveti elváltozások előfordulási arányát és súlyosságát.

**3. táblázat: A kísérleti kezelések hatása a máj-, lép- és Fabricius-féle tömlő kórszövettani paramétereire**

Kezelés	14. nap		28. nap		42. nap		
	Átlag pont	Előfordulás (%)	Átlag pont	Előfordulás (%)	Átlag pont	Előfordulás (%)	
<b>Máj</b>							
vakuolás	A	2,6 <sup>a</sup>	100,0	1,2	40,0	2,4 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>
sejtdegeneráció	B	1,0 <sup>b</sup>	60,0	0,4	40,0	0,6 <sup>b</sup>	50,0 <sup>b</sup>
	C	2,0 <sup>ab</sup>	100,0	1,0	80,0	1,4 <sup>ab</sup>	62,5 <sup>a</sup>
	D	1,0 <sup>b</sup>	60,0	0,6	40,0	1,6 <sup>ab</sup>	100,0 <sup>a</sup>
	<i>P-érték</i>	<i>P=0,026</i>	NS	NS	NS	<i>P=0,001</i>	<i>P=0,001</i>
magános májsejt-elhalás	A	0,0	0,0	1,0 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>	0,1	12,5
	B	0,0	0,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0
	C	0,0	0,0	0,4 <sup>ab</sup>	40,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0
	D	0,0	0,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0
	<i>P-érték</i>	NS	NS	<i>P=0,032</i>	<i>P=0,030</i>	NS	NS
MPS-hez tartozó sejtek elhalása	A	0,0	0,0	0,4	40,0	0,1	12,5
	B	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	C	0,0	0,0	0,2	20,0	0,0	0,0
	D	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
	<i>P-érték</i>	NS	NS	NS	NS	NS	NS
interstitialis kötőszövet lymphocytás beszűrődése	A	0,0	0,0	1,6 <sup>a</sup>	80,0 <sup>a</sup>	1,1	87,5
	B	0,2	20,0	0,4 <sup>ab</sup>	40,0 <sup>b</sup>	1,1	87,5
	C	0,0	0,0	0,2 <sup>b</sup>	20,0 <sup>b</sup>	0,9	62,5
	D	0,2	20,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,9	75,0
	<i>P-érték</i>	NS	NS	<i>P=0,001</i>	<i>P=0,001</i>	NS	NS
interstitialis fibrózis	A	0,0	0,0	1,6 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>	1,1	87,5 <sup>a</sup>
	B	0,0	0,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,3	12,5 <sup>b</sup>
	C	0,0	0,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,9	62,5 <sup>a</sup>
	D	0,0	0,0	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,6	50,0 <sup>a</sup>
	<i>P-érték</i>	NS	NS	<i>P=0,026</i>	<i>P=0,026</i>	NS	<i>P=0,033</i>
<b>Lép</b>							
lymphocyta állomány megfogyása	A	1,0 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	B	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	C	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	D	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	<i>P-érték</i>	<i>P=0,001</i>	<i>P=0,001</i>	NS	NS	NS	NS
<b>Fabricius-féle tömlő</b>							
lymphocyta állomány megfogyása	A	1,0 <sup>a</sup>	100,0 <sup>a</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	B	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	C	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	D	0,0 <sup>b</sup>	0,0 <sup>b</sup>	0,0	0,0	0,0	0,0
	<i>P-érték</i>	<i>P=0,001</i>	<i>P=0,001</i>	NS	NS	NS	NS

A: kontroll, B: 0,1 % máriatövismag olaj, C: 0,5 % máriatövismag pogácsa, D: 0,5 % máriatövismag; NS: nem szignifikáns ( $P > 0,05$ ); <sup>abc</sup> Az azonos oszlopban lévő eltérő felső betűvel ellátott átlagértékek szignifikánsan különböznek ( $P < 0,05$ )

A májban a mikotoxinok okozta legkifejezettebb kórszövettani elváltozása hepatocyták vakuoláris degenerációja volt, amely a kísérlet 14. napján a máriatövismag olaj és máriatövismag, míg a 42. napon a máriatövismag olaj kiegészítésben részesülő csoportokban szignifikánsan kisebb mértékű volt a kontroll csoporthoz viszonyítva ( $P < 0,05$ ). Eredményeim alapján mindhárom máriatövis eredetű kezelés közel egyforma hatékonysággal járult hozzá a magános májsejtelhalás és a lymphocytás beszűrődés által érintett állatok arányának csökkentéséhez a kísérlet 28. napján. Valamennyi máriatövis kezelés sikeresen megelőzte a lymphocyták kiürülését létrejöttét a Fabricius-féle tömlőben és a lépben, ahol a kontroll csoport minden állatában enyhe mértékben jelen volt az elváltozás a kísérlet 14. napján.

Harmadik kísérletem során a máriatövismag és olaj, illetve ezek szimbiotikummal történő kiegészítése által alkotott kezelések egyike sem befolyásolta szignifikánsan a kacsák testsúlyát (4. táblázat) és egyéb hizlalási jellemzőit ( $P > 0,05$ ).

#### 4. táblázat: A takarmánykezelések hatása a kísérleti állatok testsúlyára (átlag $\pm$ SEM)

Takarmánykezelések		Testsúly (g)		
Alkalmazott olaj	Szimbiotikum	Indító szakasz vége (9.nap)	Nevelő szakasz vége (16.nap)	Befejező szakasz vége (43.nap)
Napraforgóolaj	S-	238,2 $\pm$ 4,9	716,7 $\pm$ 12,6	3426,0 $\pm$ 34,6
	S+	229,2 $\pm$ 6,3	687,4 $\pm$ 16,3	3404,2 $\pm$ 45,3
Máriatövismag olaj	S-	233,9 $\pm$ 5,5	695,8 $\pm$ 13,6	3402,4 $\pm$ 40,1
	S+	239,5 $\pm$ 5,1	669,7 $\pm$ 12,1	3408,5 $\pm$ 32,6

S -/+ = szimbiotikum nélkül/szimbiotikum kiegészítés

A kísérletem végén a mellfilé, a combok és máj abszolút, illetve relatív súlyában a hizlalási teljesítmény mutatókhoz hasonlóan nem tapasztaltam igazolható különbségeket a kontroll és a kezelt csoportok között. A kísérleti kezelések egyike sem befolyásolta szignifikáns módon a duodenális eredetű béltartalom mintákból gyűjtött

három pankreatikus enzim, az  $\alpha$ -amiláz, a lipáz és a tripszin aktivitását, illetve az aminosavak ileális látszólagos emészthetőségét.

A vakbél tartalom rövid szénláncú zsírsav tartalma esetében az alkalmazott olajok egyik általam vizsgált zsírsav esetében sem fejtettek ki szignifikáns befolyásoló hatást. A vizsgált paraméterek közül egyedül a propionsav esetében tudtam kimutatni szignifikáns szimbiotikum hatást, amely szerint a szimbiotikum igazolhatóan csökkentette a propionsav koncentrációját a vakbél tartalomban ( $P < 0,05$ ).

A kísérleti kezelések nem eredményeztek szignifikáns eltéréseket sem az olajtípus, sem a szimbiotikum kiegészítés hatása alapján a májszövetmintákból mért antioxidáns rendszer működését jellemző fontosabb paraméterek (GSH, GSHPx, MDA) átlagaiban. A mért antioxidáns paramétereket az 5. táblázat tartalmazza.

**5. táblázat: A takarmánykezelések hatása a máj antioxidáns paramétereire (átlag  $\pm$  SEM)**

Takarmánykezelések		Paraméterek		
Alkalmazott olaj	Szimbiotikum	GSH ( $\mu\text{mol/g}$ feh.)	GSHPx (E/g feh.)	MDA (nmol/g)
Napraforgóolaj	S-	9,14 $\pm$ 0,11	8,00 $\pm$ 0,58	32,18 $\pm$ 1,07
	S+	10,94 $\pm$ 0,97	10,07 $\pm$ 0,97	27,51 $\pm$ 4,31
Máriatövismag olaj	S-	10,07 $\pm$ 0,56	9,33 $\pm$ 0,81	24,75 $\pm$ 2,90
	S+	8,35 $\pm$ 0,13	6,51 $\pm$ 0,27	26,89 $\pm$ 7,82
Olajkiegészítés hatása				
Napraforgóolaj		9,65 $\pm$ 0,33	8,46 $\pm$ 0,49	31,28 $\pm$ 1,92
Máriatövismag olaj		9,26 $\pm$ 0,33	7,65 $\pm$ 0,51	27,03 $\pm$ 1,87
Szimbiotikum kiegészítés hatása				
S-		9,44 $\pm$ 0,33	8,21 $\pm$ 0,49	28,16 $\pm$ 1,92
S+		9,47 $\pm$ 0,33	7,90 $\pm$ 0,51	30,15 $\pm$ 1,87
Szignifikancia szint				
Olajhatás		NS	NS	NS
Szimbiotikum hatás		NS	NS	NS
Olajhatás+Szimbiotikum hatás		NS	NS	NS

S -/+ = szimbiotikum nélkül/szimbiotikum kiegészítés; NS = nem szignifikáns hatás ( $P > 0,05$ )

## 4. Következtetések és javaslatok

*In vitro* kísérletem eredménye alapján megállapítható, hogy a máriatövismag pogácsa kivonat és a máriatövismag olaj kis mértékben képes gátolni az Enterobacteriaceae családba tartozó Gram-negatív coliform és a Gram-pozitív Enterococcus fakultatív patogén törzsek szaporodását. E hatás azonban dóziszfüggő, vizsgálatom során a magasabb (1,5 g/100 ml tápközeg) koncentráció kedvezőbb gátlási százalékokat eredményezett. A Lactobacillus fajok szempontjából a máriatövis hatóanyagok negatív irányú gátlást (-16,7-20,6%), azaz a szaporodást támogató hatást eredményeztek. A máriatövisben található flavonolignán komplex kimutatott hatása *in vivo* körülmények között is előnyös lehet a mikrobióta összetételének szempontjából, ugyanis amennyiben képes támogatni a tejsavtermelő baktériumok aktivitását, azok hozzájárulhatnak a fakultatív patogén fajok elszaporodásának gátlásához. Habár kísérletem során a Bifidobacteriumok telepképző egységének meghatározására nem került sor, a polifenol jellegű flavonolignánok hatásmechanizmusából következően feltételezhetően e mikrobák szaporodására is kedvező hatást gyakorolhatunk a máriatövis alapú takarmánykiegészítések megfelelő koncentrációban történő alkalmazásával. A máriatövis kiegészítések eredményeim alapján hozzájárulhatnak a dysbiosis kialakulásának megelőzéséhez, ezáltal pedig az antibiotikum felhasználás csökkentéséhez.

Az elvégzett *in vitro* kísérlet alapján javasolnám *in vivo* kísérlet elvégzését is a felhasznált máriatövis alapú termékekkel, melyben a bél mikrobióta összetételének vizsgálatával a növényi hatóanyagok a fakultatív patogén baktériumokra gyakorolt hatásának megfigyelésére lenne mód. E kísérletben továbbá fontos kutatási cél lehetne a Lactobacillus és Bifidobacterium fajok aktivitására gyakorolt – az *in vitro* vizsgálat során tapasztalt – esetleges serkentő hatás vizsgálata is.

Második, *in vivo* kísérletem során a takarmány DON és ZEN mikotoxinokkal való kismértékű szennyezettsége nem okozott klinikai tüneteket, nem befolyásolta egyes fontosabb szervek fejlődését és a kísérleti állatok testsúlyát. A vizsgált vérszérum

klinikai-kémiai paramétere alapján a takarmányok mikotoxin-szennyezettsége nem okozott súlyos máj- és vesekárosodást. A paraméterek közül jelzőértékű az ALT és AST enzimek aktivitásának változása, mely leginkább akut károsodások (súlyos toxikózisok, gyulladások) esetén mutat szignifikáns növekedést, míg krónikus folyamatok során – mint amilyen a kísérletünkben is a szervezet által tolerálható mennyiségű mikotoxinok folyamatos felvétele volt – legtöbbször csak enyhe emelkedést láthatunk, a leggyakrabban azonban nem jelentkezik szignifikáns enzimaktivitásváltozás. A máriatövis hatóanyagai igazoltan máj- és vesevédő hatásokkal rendelkeznek, de kísérletünkben a vizsgált mikotoxinok kifejezett negatív hatásainak elmaradása miatt a vérszérum klinikai kémiai paramétereiben ezt nem tudtuk megfigyelni. A kacsák felnevelési időszakának kezdetétől adagolt máriatövismag, máriatövismag pogácsa és máriatövismag olaj hepatoprotektív hatását kórszövettani vizsgálatokkal tudtuk igazolni. A vizsgálatom során megfigyelt elváltozások közepes és enyhe fokúak voltak, nagyobb arányban és átlagos pontszámokban voltak jelen a kontroll csoport állataiban. A máriatövis kezelések csoportjaiban nem tapasztaltam kedvezőtlen jellegű elváltozásokat a lymphoid szervekben, szemben a kontroll csoporttal, ahol a lymphocyták kiürülése enyhe mértékű volt. A máriatövis pozitív hatásai ilyen klinikai tünetekben meg nem nyilvánuló, gyakorlati nagyüzemi körülmények között gyakran előforduló esetekben is fontosak és hasznosak, mert az anyagcsere és az immunrendszer működése szempontjából kiemelt jelentőségű vizsgált szervek szövettani és funkcionális épsége elengedhetetlen a genotípusnak megfelelő fejlődési erély, termékmennyiség és -minőség biztosítása érdekében. A máriatövis kiegészítések feltételezhetően súlyosabb mikotoxin szennyezettség esetén is védelmet nyújtanak a hepatocyták, illetve a lymphoid szervek sejtjei számára.

A kísérlet eredményei alapján javasolnám a deoxinivalenol és zearalenon toxinok okozta kártétel további vizsgálatát kacsákban oly módon, hogy a szennyezettség mértéke meghaladja a kacsák által tolerált dózisokat. A kórszövettani és a vérszérum klinikai kémiai paramétereinek meghatározása mellett a szervezet antioxidáns rendszerét jellemző mutatókat is érdemes lenne vizsgálni.



A harmadik kísérlet során a takarmány 2% máriatövismag olaj kiegészítésének hatását önállóan, illetve egy frukto-oligoszacharidokat, valamint háromféle baktériumtörzset is tartalmazó szimbiotikum kiegészítéssel együtt teszteltem 2% napraforgóolaj kezelés mellett. A máriatövismag olaj a szimbiotikum nélkül és azzal együtt alkalmazva sem befolyásolta a hizlalás természetes és vágási mutatóit, a pankreatikus enzimek aktivitását, a vakbéltartalom rövid szénláncú zsírsavainak koncentrációját (a propionsavat kivéve), az aminosavak látszólagos ileális emészthetőségét, a máj antioxidáns rendszerének működését jellemző fontosabb paramétereket (GSH, GSHPx, MDA). Véleményem szerint a kísérletben nem voltak jelen olyan káros technológiai és egészségügyi tényezők, melyek kimutatható hatásai mellett a máriatövis protektív jellege valószínűleg megmutatkozott volna. A máriatövismag olaj ilyen esetben a napraforgóolajhoz hasonló eredményességgel használható a kacsahizlalás során alkalmazott takarmánykeverékekben. Mindezek alapján szeretnék javaslatot tenni a máriatövismag olaj takarmányozás-életteni hatásának alaposabb ismerete érdekében további vizsgálatokra, melyekben különböző, a szervezetet megterhelő, ún. „challenge”-hatások is fennállnának. Izgalmas kutatási témát jelenthetnek a mikotoxinokkal szennyezett takarmányok, a hőstressz, illetve egyes fertőző megbetegedések (pl. hepatitisvírus fertőzés), melyek káros hatásainak csökkentésében szerepet játszhat a máriatövismag olaj. Ezen kísérleteket kombinálhatjuk vakcinázási próbával, melynek során vizsgálható az immunizálás hatékonysága egy esetleges, a szervezetet érő stresszhatás mellett (pl. mikotoxin-szennyezettség). Ugyanakkor fontos hozzátenni, hogy minden esetben javasolnám korszerűtlen vizsgálatok elvégzését, ugyan-is súlyosabb – nem regeneratív jellegű – szöveti károsodás esetén a máriatövis hatóanyagainak kedvező hatása hosszabb távon is megmutatkozhat. További kutatási lehetőségként javasolnám a különböző máriatövis-termékek májvédő hatásainak vizsgálatát idős tojástermelő baromfiállományokban, valamint májhasznú kacsákkal, ugyanis esetükben a máj anyagcseréje rendkívül terhelt, a máj elzsírosodása életteni jelenséggé tekinthető.

## 5. Új tudományos eredmények

1. A máriatövismag pogácsa kivonat (1,5g/100 ml tápközeg) és a máriatövismag olaj (0,5 és 1,5g/100 ml tápközeg) képes szignifikánsan elősegíteni a *Lactobacillus* baktériumok növekedését kacsák csípőbél-tartalmából származó minták esetén *in vitro* agartenyésztéses módszer alkalmazása során ( $P < 0,05$ ).
2. A takarmány máriatövismag pogácsa (0,5%) és máriatövismag olaj (0,1%) kiegészítése kedvező hatást fejt ki deoxinivalenol és zearalenon mikotoxinokkal szennyezett takarmányt fogyasztó kacsák májának egyes kórszövettani paramétereire (vakuoláris degeneráció, magános májsejtjelhalás, interstitialis kötőszövet lympho- és histiocytás beszűrődése, interstitialis fibrózis).
3. A takarmány máriatövismag (0,5%), máriatövismag pogácsa (0,5%) és a máriatövismag olaj (0,1%) kiegészítése képes csökkenteni a deoxinivalenol és zearalenon mikotoxinokkal szennyezett takarmányt fogyasztó kacsák lépében és Fabricius-tömlőjében a lymphocytáállomány kiürülését.
4. A takarmány 2 %-os máriatövismag olaj kiegészítése szimbiotikum (frukto-oligoszacharidok és *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* baktérium törzsek) alkalmazása nélkül, illetve mellett nem befolyásolja kacsákban a hizlalás (takarmányfelvétel, súlygyarapodás, takarmányértékesítés) és vágás (a mellfilé, a combok és a máj relatív súlya) jellemzőit; a pankreatikus ( $\alpha$ -amiláz, lipáz, tripszin) enzimek aktivitását, az esszenciális (triptofán kivételével) és egyes nem esszenciális aminosavak látszólagos ileális emészthetőségét, valamint a vakbél-tartalom rövid szénláncú zsírsav koncentrációit, továbbá a máj fontosabb antioxidáns paramétereit (redukált glutation szint, glutation-peroxidáz enzimek aktivitása, malondialdehid koncentráció) 2 % napraforgóolaj kiegészítésű takarmánykeverék mellett.

## 6. Irodalomjegyzék

AOAC (1990): Fatty acid in oils and fats. Preparation of methyl esters. Boron trifluoride method. In: AOAC Official Method 969.33, AOAC International, 15th Edition, Washington DC.

Dahlqvist, A. (1962): A method for the determination of amylase in 547 intestinal content. In: *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 14 145-151. p. doi: 10.3109/00365516209079686.

Kakade, M. L., Simons, N. and Liener, I. E. (1969): An evolution of natural vs. 585 synthetic substrate for measuring the antitryptic activity of soybean 586 samples. In: *Cereal Chemistry*, 46 518-526. p.

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. (1951): Protein measurement with the Folin phenol reagent. In: *The Journal of Biological Chemistry*, 193 (1) 265-275. p.

Matkovics, B., Szabó, L. and Varga, Sz. (1998): Lipidperoxidáció és redukált glutation anyagcsere enzimek aktivitás meghatározása biológiai mintákban. In: *Laboratóriumi Diagnosztika*, 15 248-250. p.

Placer, Z. A., Cushman, L. L. and Johnson, B. C. (1966): Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. In: *Analytical Biochemistry*, 16 (2) 359-364. p. doi: 10.1016/0003-2697(66)90167-9.

Schön, H. B., Ressler, B. and Henning, N. (1961): Über die untersuchung 594 der exkretorischen pankreasfunktion. Methoden zur 595 aktivitätsbestimmungen von trypsin, chymotrypsin, 596 carboxipeptidase. In: *Klinische Wochenschrift*, 39 217-222. p.

Sedlak, J. and Lindsay, R. H. (1968): Estimation of total, protein-bound, and non-protein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. In: *Analytical Biochemistry*, 25 (1) 192-205. p. doi: 10.1016/0003-2697(68)90092-4.

Short, F. J., Gorton, P., Wiseman, J. and Boorman, K. N. (1996): Determination of titanium dioxide added as an inert marker in chicken digestibility studies. In: *Animal Feed Science and Technology*, 59 (4) 215-221. p. doi: 10.1016/0377-8401(95)00916-7.

## 7. Publikációk

### I. Szakcikk idegen nyelvű, referált folyóiratban:

**Bencze-Nagy J.**, Strifler P., Horváth B., Such N., Farkas V., Dublec K., Pál L. (2023): Effects of dietary milk thistle (*Silybum marianum*) supplementation in ducks fed mycotoxin-contaminated diets. *Veterinary Sciences*, 10 (2) 100. (Q1, IF: 2,51)

### II. Szakcikk magyar nyelvű referált folyóiratban:

**Bencze-Nagy J.**, Such N., Koltay I. A., Molnár A., Farkas V., Dublec K., Rózsa L., Pál L. (2020): A máriatövis (*Silybum marianum*) egészségvédő hatásai. *Magyar Állatorvosok Lapja*, 142 (4) 229-240. (Q4, IF: 0,08)

**Nagy J.**, Pál L., Rózsa L. (2018): Máriatövis felhasználási lehetőségei a gazdasági állatok takarmányozásában. *Animal Welfare, Etológia és Tartástechnológia*, 14 (2) 78-91.

### III. Konferencia kiadványban teljes terjedelemben megjelent közlemény:

**Nagy J.**, Sipiczki B., Fébel H., Rózsa L., Molnár A., Pál L. (2017): Máriatövis antimikrobiális hatásának *in vitro* vizsgálata. LIX. Georgikon Napok, szeptember 28-29. Keszthely. (teljes anyag: <http://napok.georgikon.hu>) ISBN 978-963-9639-88-1.

### IV. Konferencia kiadvány összefoglaló kötetében megjelent közlemény:

Molnár A., Pál L., Farkas V., Menyhárt L., Bató E., Bihari Z., **Nagy J.**, Husvéth F., Dublec K. (2018): A symbiotic supplement results in a propionic acid decline and limited microbiota shift in duck cecal content. *The XVth European Poultry Conference*, 17-21st September, Dubrovnik, Croatia. p. 322.

Such N., Koltay I. A., **Nagy J.**, Szűcs K., Molnár A., Pál L., Wágner L., Husvéth F., Dubblecz K. (2018): A mezőgazdasági területek antibiotikum szennyezésének kockázata a szerves trágyán keresztül, hatásaik a növényekre, kiváltási lehetőségeik az állati termelésben. Tavaszi Szél Konferencia 2018, Nemzetközi Multidiszciplináris Konferencia, Széchenyi István Egyetem, május 3-6., Győr. Absztraktkötet, 66. oldal.