



ORSZÁGOS TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI KONFERENCIA

2023. április 3-4.

Brojler szülőpár állományok korának, a kelés idejének és az alomtojások felhasználásának hatása a tojások keltethetőségére, mikrobióta összetételére és a kikelt csirkék termelési paramétereire

Effects of the age of broiler parent stock hens, the time of hatching and of using floor eggs on the hatchability and microbiota composition of eggs and the production traits of the chickens

Készítette: Schermann Kornél Levente
S7LVS3
Osztatlan agrármérnöki szak
Nappali tagozat
Georgikon Campus

Témavezető: Dr. Dublec Károly
tanszékvezető egyetemi tanár
Élettani és Takarmányozástani Intézet,
Takarmányozási és Takarmányozás-élettani
Tanszék, Georgikon Campus

Lehetséges OTDK szekció: „Agrártudományi”

Készthely
2022.

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	3
2. Célkitűzések	4
3. Irodalmi áttekintés	5
3.1. Baromfi hasznosítási típusok	5
3.2. Brojler szülőpár állományok tartástechnológiája	5
3.3. Tojástermelési paraméterek	6
3.4. Alomtojások jelentősége	9
3.5. Keltetési technológia	9
3.6. Keltetőtojások mikroba tartalmának hatása a keltethetőségre és az embrió fejlődésére	12
4. Anyag és módszer	14
4.1. Tojások gyűjtése és tárolása	14
4.2. Tojások keltetői kezelése	16
4.3. Tojáshéj bakteriális vizsgálata tenyésztési módszerrel	21
4.4. A tojásminták bakteriális vizsgálata szekvenálási módszerrel	21
4.5. A hizlalási kísérlet beállítása	21
4.6. Statisztikai értékelés	24
5. Eredmények és azok értékelése	25
5.1. A keltethetőség vizsgálata	25
5.2. A tojáshéjről végzett baktérium tenyésztés eredményei	26
5.3. A szekvenálási vizsgálatok eredményei	27
5.3.1. A mintavételi helyek összehasonlítása	27
5.3.2. A tojáshéj bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei	34
5.3.3. A tojáshártya bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei	35
5.3.4. A tojás belső homogenizátum bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei	37
5.3.5. A hizlalási kísérlet eredményei	40
6. Összefoglalás	43
7. Irodalomjegyzék	45
8. Köszönetnyilvánítás	49

1. Bevezetés

A brojler szülőpár tartó telepeken világszerte problémát okoznak a szennyezett alomba tojt tojások. Egy tyúknak számos oka lehet arra, hogy a direkt a fészkelésre kialakított, viszonylag tiszta fészek helyett más helyet választ magának tojás rakásra. Ilyen okok lehetnek például a nem megfelelő tartástechnológiai körülmények, a különféle stresszhelyzet, állománykezelések és a hierarchia viszonyokból adódó agresszió a madarak között. A tyúkok viselkedését tekintve szeretnek csoportosan fészkelni, valamint ahol látnak tojást, oda ők maguk is szívesebben fészkelnek.

Az alomba tojt tojások mennyiségét 0-2%-ig jónak-, 2-4%-ig elfogadhatónak tekintik, de 4% felett már jelentős problémát okoznak. Dolgozatomban nem az előbb említett mennyiségek redukálásával szeretnék foglalkozni, hiszen számos irodalom található ezen tématerületről. A szennyezett tojások keltethetőségéről azonban relatíve kevesebb információ áll rendelkezésünkre.

A jelenlegi tudásunk alapján az ilyen, alomba tojt tojásoknak a keltethetősége kisebb, valamint nagyobb kockázatot jelentenek a keltetőben fertőzésveszély szempontjából a többi, tiszta tojásra tekintve. A baromfi keltető üzemek az alomból összegyűjtött tojást egyáltalán nem-, vagy csak végszükség esetén keltetik. Ezen tojásokat többnyire feldolgozó üzemek számára értékesítik olcsóbban, ezáltal jelentősen alacsonyabb bevételre téve szert.

Szerintem az elmúlt években történő világgazdasági problémák (madárinfluenza, covid-19 járvány, orosz-ukrán háború) pontosan rámutattak arra, hogy mennyire instabil tud lenni a környezetünk. Éppen ezért úgy gondolom, hogy az általam végzett kutatás jelentős szerepet tölthet be a cégek gazdasági stabilitásának elősegítésében/megőrzésében.

A kutatási téma jelentőségét növeli, hogy vizsgálatainkat kifejezetten a Gallus Kft. kezdeményezésére végeztük el. Az alomtojások mennyisége a Gallus Kft brojler szülőpár telepein éves szinten 500-800 ezer. Ez a nagyságrend gazdasági szempontból is jelentős tétel.

2. Célkitűzések

Kutatásunk célja annak meghatározása volt, hogy a különböző korú brojler szülőpár állományoktól származó alommal szennyezett keltetőtojások felhasználása milyen módon befolyásolja a tojások mikrobiológiai státuszát, a keltethetőséget és a termelési eredményeket. A két különböző korú szülőpár állományt azért hasonlítottuk össze, mert a fiatal és az idősebb tyúkok tojásai esetében a héj permeabilitása eltér. Ez nyilvánvalóan befolyásolhatja az alomból tojásba jutó baktériumok mennyiségét. A különböző ideig alomban tartott keltetőtojások vizsgálatával az volt a célunk, hogy megállapítsuk van-e jelentősége az időtényezőnek a tojások keltehetősége és bakterióta összetétele között. Végezetül arra is kíváncsiak voltunk, hogy az alomtojásokból kikelt csirkék vitalitása, növekedési potenciálja eltér-e a hagyományos, kontroll tojásokból kikelt állatokétól.

Tudomásunk szerint ezt a kérdéskört ilyen komplex módon még nem vizsgálták.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. Baromfi hasznosítási típusok

A tyúktenyésztésben hasznosítás alapján megkülönböztetünk tojás- és hústermelő hibrideket. A tojástermelő hibridek fő terméke az úgynevezett árutojás vagy étkezési tojás, míg a hústermelő hibrideké (brojlereké) a levágott állat húsa. BENK (2019) alapján brojlernek nevezzük azt a fiatal növendécsirkét, amely 10 hétnél nem idősebb (túlnyomó részt 6 hetesek), 1-2,5 kg közötti tömegű, ép-, érett tollazattal rendelkezik, és kiváló húsformát produkál. A brojlercsirke esetében az 1 kg súlygyarapodáshoz felhasznált takarmány mennyisége 1,4 – 1,9 kg között alakul.

A modern nagy testtömegű és jó izmoltságú, rendkívül gyorsan növekedő húshibrideket nagy növekedési erélyű anyai és apai vonalak keresztezésével állítják elő. Az említett brojler hibridek keltetőtojásokból kelnek ki, melyeket speciális tartási és takarmányozási technológiát alkalmazó szülőpár telepeken állítanak elő (HORN et al. 2011).

Ezen telepen tartott madarakat nevezzük tenyész-állománynak, amelyek produktuma a tenyésztótojás vagy keltetőtojás. Tenyésztótojásnak nevezzük azokat a tojásokat, amelyből a kikelt utód továbbtenyésztésre kerül. A keltetőtojást pedig haszonállat tartás céljából állítják elő (BENK, 2019).

3.2. Brojler szülőpár állományok tartástechnológiája

A tenyészállományok tartástechnológiája nevelési- és tojóidőszakra osztható. Ezen belül megkülönböztetünk egyfázisos- és többfázisos tartási rendszereket. Az egyfázisos rendszer esetén a nevelés és a tojóidőszak egy istállóban történik. A kétfázisos rendszer esetén a nevelési időszak osztatlanul egy fázisban történik, majd az időszak végén második fázisként kerülnek a jércék és a kakasok áttelepítésre a tojóházba. Háromfázisos rendszer esetén, a nevelés időszakot elő- és utónevelésre osztják, végül harmadik fázisként telepítik át az állatokat a tojótelepre (BENK, 2019). A többfázisos tartásrendszer esetén a nevelés időszak végén, legkésőbb 147 napon belül kerül át az állomány a tojóházba (Aviagen, 2018). A technológia szerint az áttelepítést 18 hetes kor előtt és 23 hetes kor után csak más lehetőség híján szabad elvégezni, de mindenféleképpen törekedni kell arra, hogy a 18-21 hetes kor között történjen. A termelés időszakát 40 hétre számolják, azaz 61 élethetes korig, azonban ez a gyakorlatban eltérhet számtalan befolyásoló tényező miatt.

A baromfitartásban tenyészállományokat padozatos technológiában tartjuk. Típusaik szerint megkülönböztetünk: mélyalmos-, rácspadlós-, valamint ezek ötvözetét un. kombinált tartást. A tenyész állományok esetében jelenleg a legelterjedtebb tartástechnológia a kombinált tartás. Ezen technológia szerint az ól kétharmadán rácspadló található, egyharmada pedig mélyalmos tartású. Ez, mind gazdasági-, mind állatjóléti szempontból is kedvező tartási mód (BENK, 2019).

A tojófészek lehet egyedi- és csoportos, mely utóbbiban egyszerre akár több tyúk is képes tojni (BENK, 2019). A tojófészekben található egy úgynevezett műfü, amely a tyúk számára a környezeti igényeit teljesen kielégíti, kényelmes, ami arra ösztönzi, hogy oda tojjon az alom helyett. Kialakításából fakadóan a tojás míg legurul a konvektor szalagra, kevésbé érintkezik a szennyeződéssel, mintha egy sima felületen lenne. A műfü alatt található egy tálca, amely a szennyeződések fogja fel. Könnyen tisztítható, ezáltal a higiénia is fenntarthatóvá válik. A tojófészken helyezkedik el egy automatikus kirekesztőrács, amely éjszakára a madarat kirekeszti a fészekből, ahol így feleslegesen nem tölt időt, ezáltal nem is szennyezve azt.

3.3. Tojástermelési paraméterek

Cél, hogy a maximális termékenységet fenntartsuk a tojástermelés egész ideje alatt, melyhez elengedhetetlen az optimális számú szexuálisan aktív kakas (Aviagen, 2018).

A tenyészállomány öregedésével együtt csökken a tojástermelés is, ezáltal a termékenység fenntartásához mérten kell a kakasok számát megválasztani. A tojóházi telepítés során az (Aviagen, 2018) ajánlott technológia szerint 9,5 jó minőségű kakas szükséges 100 tyúk megfelelő termékenyítéséhez a termelés első időszakában (1. táblázat).

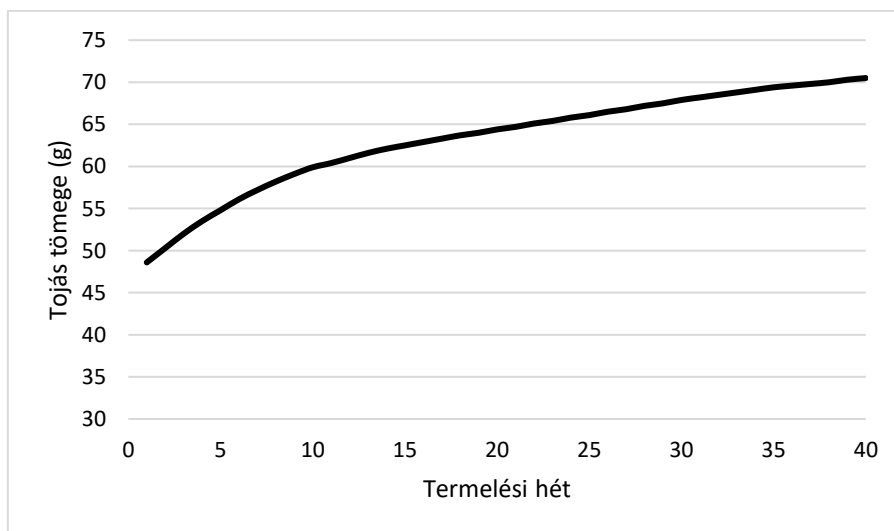
1. táblázat Ajánlott ivararány különböző korú tenyészállományok esetén (Aviagen, 2018)

Kor (hetek)	Jó minőségű kakasok száma/100 tyúk
22-24	9,5-10
24-30	9,5-10
30-35	8,5-9,75
35-40	8-9,5
40-50	7,5-9,25
50 - a kivágásig	7-9

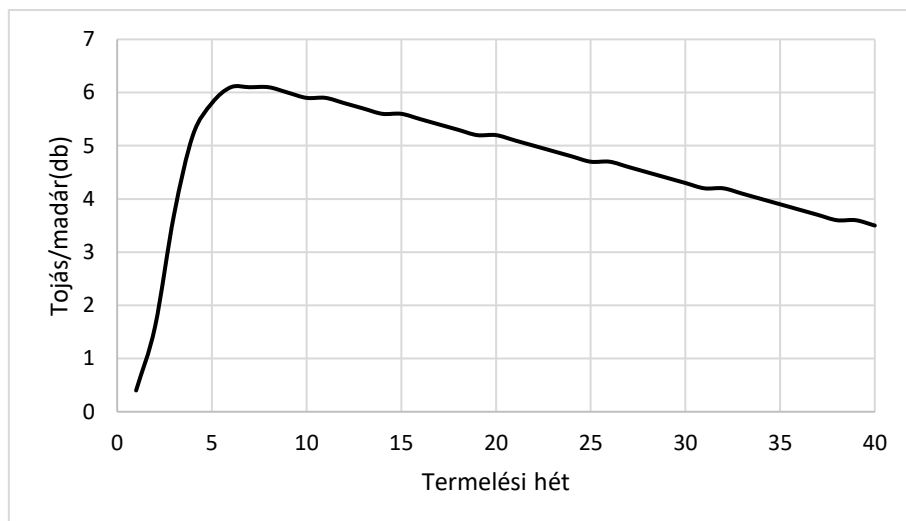
HORN et al. (2011) alapján az anyatyúk tojástermelése 40 tojóhét alatt 160-180 db, amelyből 150-170 db a keltetésre alkalmas tojás, melyekből később 140-150 db értékesíthető brojler naposcsibe nyerhető. Ezen keltetésre berakott tojások számához viszonyítva a keltethetőség 80-85 %-os, az egész tojástermelési időszak átlagában.

Az (Aviagen, 2018) által adott technológia is 40 hétre datálja a szülőpár állományaik termelési időszakát. A leggyakoribb tartástechnológiai stratégia világszerte az, hogy a madarak az első fénystimulációt 21 hetes (147 napos) kor után kapják, és ezzel 25 hetes korra érik el az 5%-os termelést. Ez előnyös a korai tojásméret, csibeszám és a brojlercsibe minőség szempontjából egyaránt. A keltetőtojás-termelés eredményességét befolyásolja a tojás mérete, minősége és a csúcstermelés szintje.

A madarak termelési időszaka alatt folyamatosan növekszik a tojás tömege és mérete (**1. ábra**). Az első tojások a 23. élethét környékén jelennek meg, amelyeknek átlagosan 49 grammok, a keltetőbe azonban 50 grammos súlytól szállítják a tojásokat, melyet átlagosan a 24. élethétre, azaz a 2. termelési héten érik el a tojások. A tojás súlyán kívül változik a tojástermelés (**2. ábra**) és a keltethetőség is (**3. ábra**) (Aviagen, 2019).

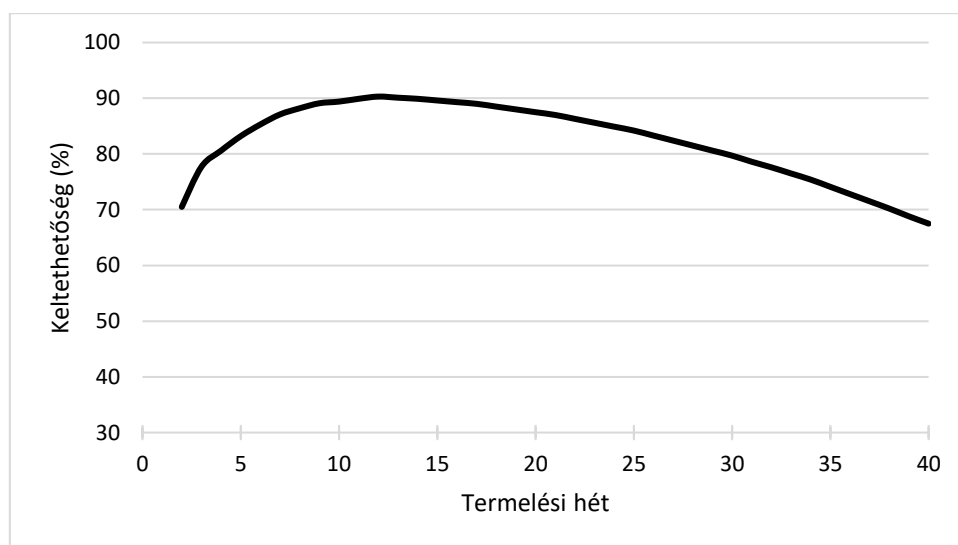


1. ábra Brojler szülőpár tojások tömegének alakulása



2. ábra Brojler szülőpár állományok tojástermelésének alakulása

A csúcstermelést hozzávetőlegesen a 7. termelési hét körül érik el, majd röviddel ezt követően a 10-11. termelési hétre esik a maximális tojástömeg index (Aviagen, 2018).
 Tojástömeg index = {átlagos tojástömeg (g) x tojástermelési % (heti)} ÷ 100



3. ábra Brojler szülőpár tojások keltethetősége

A tojástömeg növekedése a normál termelési ciklus során a tojás különböző összetevőinek arányának életkorral összefüggő változásával függ össze. A tojássárga %-os aránya a termelési ciklus során növekszik, a héj százalékos aránya azonban viszonylag konstans (10%) (2. táblázat).

2. táblázat Brojler szülőpárállományoktól származó tojások összetételének változása a termelési ciklus során (TERNES et al., 1994).

Tyúkok életkora (hét)	34/35		50/51		70/71	
	g	%	g	%	g	%
Tojás	61	100	66	100	68	100
Tojássárga	16	26	19	29	20	29
Tojáshéj	6,1	10	6,6	10	6,7	10
Tojásfehérje	39	63	41	61	41	61
Fehérje/sárgája arány	2,4		2,2		2,1	

A tojástermelés és keltethetőség maximalizálásának érdekében a madarakat úgy kell takarmányozni, hogy kielégítsük az aktuális termelési szinthez igazodó táplálóanyag szükségletüket, ügyelve a technológia által javasolt élő súly szintekre (Aviagen, 2018).

3.4. Alomtojások jelentősége

Alomtojásnak nevezzük azokat a keltetőtojásokat, melyeket a tyúk a tojófészek helyett az ól egyéb részein, például a rácspadozaton vagy a kaparótérben az alomba tojja.

A tojás rendelkezik természetes védekező mechanizmusokkal, amelyek megakadályozzák a baktériumok behatolását a tojásokba, de azt teljes mértékben nem tudják megakadályozni (BERRANG et al., 1999). DE REU et al. (2009) szerint a tiszta fészekbe tojt tojásokkal ellentétben az alomtojások több baktériumot tartalmaznak a tojáshéjon, gyakrabban törnek el és több repedést tartalmaznak. FASENKO et al. (2000) állítása alapján az alomtojások nem alkalmasak a keltetésre a nagyobb fertőzésveszély és alacsonyabb keltethetőség miatt.

Az alomtojások aránya 0,1-18% között változik (VEKIĆ et al., 2021), de fiatal állományokban akár elérheti a 25%-ot is (SHEPPARD - DUNCAN, 2011). Előfordulhat azonban, hogy szükségessé válik az alomtojásoknak keltetése, mikor nem áll rendelkezésre elegendő mennyiségben keltetőtojás (VEKIĆ et al., 2021). Egy másik kutatás magasabb számú embrionális mortalitásról, továbbá alacsonyabb termékenyülésről számolt be alomtojások keltetése esetén (VAN DEN BRANDT et al., 2016).

3.5. Keltetési technológia

A jó keltethetőség és csibeminőség elérése érdekében a tojással a megtojás pillanatától kezdődően gondosan kell bánni. Elengedhetetlen az optimális környezeti tényezők biztosítása: szedés, fertőtlenítés, szállítás, tárolás, keltetés előtti melegítés, keltetés. Amennyiben nem vesszük figyelembe a tojás számára fontos környezeti tényezőket, csökkent keltethetőséghez,

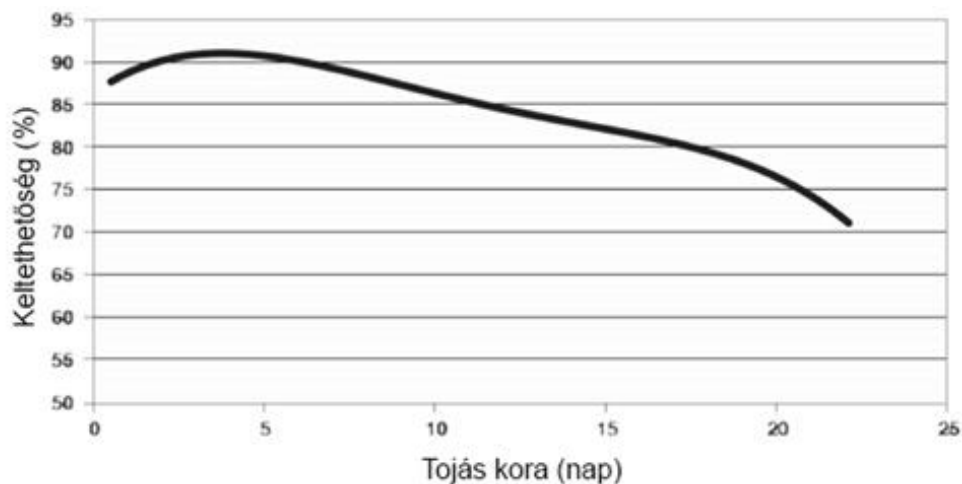
az embrióhalandóság normális megoszlásának megváltozásához vezethet, továbbá negatív hatással van a csibe élettéljesítményére (Aviagen, 2019)

Az első teendő, hogy megállítsuk az embrió fejlődését. Ezért a tojásnak lassan le kell hűlnie a „fiziológiai nulla” (26–27 °C) alá, hat órán belül a tojásrakás után. Ez a folyamat általában a fészekben vagy a tojásszalagon történik, azonban figyelni kell a hőmérsékletre, ugyanis tojások túl gyors lehűlése embrionális elhullást okozhat. Miután a sejtosztódás leállt, a tojásnak tovább kell hűlnie. Erre azért van szükség, hogy az albumin elvékonyodását és a nekrotikus sejtpusztulás mértékét kontroll alatt tartsuk (INTERNET1)

Az ideális hőmérsékletről és relatív páratartamról a baromfitelepen kialakított klimatizált kamrák gondoskodnak és egészen a keltetőbe való szállításukig itt tartják a tojásokat. BENK (2019) szerint a tárolás 20 °C alatti hőmérsékleten, 80 %-os relatív páratartalommal kell, hogy történjen. A telepről a keltetőbe szállítás során is gondoskodni kell a megfelelő hőmérsékletről, mely temperált szállítóeszközökkel oldható meg. Lehetőleg el kell kerülni a tojások mechanikai sérülését, mivel az rontja a keltethetőséget (BARNETT et al., 2004).

A keltetőbe érkezéskor a tojásokat fertőtleníteni kell, hogy elkerüljük a fertőzés veszélyét, amelyre a formalingázos (formaldehid) fertőtlenítés a leghatékonyabb és egyben a legáltalánosabban használt módszer. Megfelelő koncentrációban a formalin elpusztítja a mikroorganizmusokat a tojás felületén, anélkül, hogy benedvesítené azt. Számos különböző vegyszert és alkalmazási módszert vizsgáltak, hogy melyikkel lehetne helyettesíteni a formaldehid gázzal történő fertőtlenítést, azonban nem bizonyult ugyanolyan hatékonynak, vagy azért, mert csak egy szűkebb körét pusztította el a mikroorganizmusoknak, vagy azért, mert csak oldatban lehet használni, ami károsíthatja a kutikulát, esetleg hátrányos az embrió túlélése szempontjából (Aviagen, 2018).

A fertőtlenítést követően a tojást raktározzuk egészen a keltetésig. Jelenlegi tudásunk szerint a tenyész tojásokat a rakást követő 7 napon belül keltetőgépbe kell helyezni. Amennyiben ez nem oldható meg, úgy csökken a keltethetőség, továbbá a romlik a tojás minősége. YASSIN et al. (2008) eredményei szerint az első 7 napban naponta 0,2%-kal, a hetedik nap után naponta 0,5%-kal csökken a keltethetőség **(4. ábra)**.



4. ábra A keltethetőség csökkenése a tojás tárolási idejének függvényében

Tárolás során a megfelelő hőmérsékleten és relatív páratartalom mellett kell tárolni a keltetőtojásokat. Ezen két környezeti tényező biztosítása elengedhetetlen a maximális keltethetőség eléréséhez.

Kényszerű hosszabb tojástárolás esetén előinkubációval vagy a tojások többszöri rövid idejű felmelegítésével lehet szinten tartani a keltethetőséget. Leghatékonyabb módszernek az előinkubáció (PI), azaz a tojások átmeneti felmelegítése bizonyult, amely azokat a természetes körülményeket hivatott utánózni, amelyeket a tyúkok biztosítanak. FASENKO et al. (2001) eredményei bebizonyították, hogy egyetlen előmelegítés lehetővé teszi az embriók számára, hogy befejeződjön a hipoblasztok képződése, ami akár 14 napos tojásraktározásig növeli a kelési képességet. Később, 2013-ban módosították ezt a módszert a tojástárolás alatti rövid inkubációs periódusok (SPIDES) hatásának elemzésével. DYMOND et al. (2013) kimutatták, hogy a 21 napos tárolás során, a három-négy rövid inkubációs periódus növelte a keltethetőséget és csökkentette a keltetési időt a ugyanúgy, 21 napig tárolt kontroll tojásokhoz képest. Ezek a megállapítások összhangban vannak DAMAZIAK et al. (2018) véleményével, akik bebizonyították, hogy a 2×4 órás előkeltetés a tojások 12 napos tárolása alatt lehetővé tette a keltethetőség javítását, főként az idősebb tyúkok tojásai esetén.

A keltetés két szakaszból áll, az elő- és utókeltetésből. A tojások 18 napot tartózkodnak az előkeltetőben, majd onnan 3 napra átkerülnek a bújtatóba, ahol a 21. napon kezdődik a kelés. A tojásban fejlődő embrióra a keltetés 10. napjáig nagy hatással van a hőmérséklet, míg a keltetés második felében ez a hatás mérséklődik. Ez azt jelenti, hogy a 10. napig a hőmérsékletváltozás gyorsítja vagy lassítja-, míg az ezutáni időszakban kevésbé befolyásolja az embrió fejlődését (BENK, 2019).

Az előkeltetőből bújtatóba történő átrakáskor alkalmaznak in ovo vakcinázást, amelynek köszönhetően jelentős mértékű időt- és emberi munkaerőt takarítanak meg, továbbá hibázási lehetőséget küszöbölnek ki. Ez a fajta vakcinázási módszer csökkenti a madarak vakcinázásból fakadó stresszelését, ezzel is javítva az egészségüket, így hatékonyabb termelést eredményezve. További előnye, hogy a betegségek elleni immunitás a lehető legkorábban- és az anyai eredetű antitestek minimális beavatkozása mellett jön létre (INTERNET2).

3.6. Keltetőtojások mikroba tartalmának hatása a keltethetőségre és az embrió fejlődésére

A gazdaszervezet egészségére és fejlődésére fontos befolyást gyakorolnak a mikroorganizmusok. Ezen okból kifolyólag a gazdaszervezetből és mikrobiális közösségből álló szervezetet „szuperorganizmusnak” kell tekinteni (TURNBAUGH et al., 2007).

A csirkék gasztrointesztinális traktusán (GIT) belül is összetett és dinamikus kölcsönhatás megy végbe a gazdaszervezet és a jelenlévő gazdag mikrobaközösség között. Kölcsönhatásuk a felelős az elfogyasztott takarmányok lebontásáért, a megfelelő tápanyag-felszívódásért, a növekedésért és az egészségért, fogalmazták meg CLAVIJO - FLÓREZ (2018). Ennek okán elengedhetetlen annak megértése, hogy a gazdaszervezetet milyen forrásokból kolonizálják. Ezáltal képesek leszünk meghatározni azokat a beavatkozási pontokat, melyeken keresztül egészségesebb, produktívabb csirkéket tudunk felnevelni.

A baromfi gyomor-bél traktusán belüli mikrobiális szukcesszió befolyásolja a mikrobiom szerkezetét, valamint a táplálóanyag-felszívódását és a gazdaszervezet fiziológiai folyamatait. A korai kolonizációs események fontos alapelemei a gazdaszervezet egészségének (BALLOU et al., 2016). A bélben kolonizálódó baktériumok a tyúkokból, a takarmányból és a környezetből is származhatnak (MOELLER et al., 2018; BACKHED et al., 2005). Miután a baktériumok bejutottak az emésztőtraktusba, kolonizációjuk hasonló a különböző állatfajokban.

A baromfi gyomor-bél traktusban bejutó mikrobióta forrása modern termelési folyamatok alkalmazásával valószínűleg megváltozott. STANLEY et al. (2013) eredményei alapján természetes körülmények között a tojások folyamatos kapcsolatban voltak a tyúkkal és a fészek környezetével a kotlás és keltetés időszaka alatt, amely közvetlen mikrobióta forrást biztosított a számukra. A modern baromfitenyésztés során a tojások tyúkokkal való érintkezését minimálisra redukálják, amely csökkenti a mikrobióta vertikális átvitelének lehetőségét a csibékbe (VASDAL et al., 2019). Emiatt a keltetőben kelő csibék kolonizációja esetleges (BALLOU et al., 2016).

A tojássárgájának tápanyagtartalma és enyhén savas pH-ja (6,0-6,5) kiváló szaporodási feltételeket nyújt számos mikroorganizmus számára. A tojásnak kettős védelmi rendszere van, amely jelentős mértékben gátolja a mikrobák sárgájába való bejutását. Ennek részeként a kutikula réteg látja el a külső védelmi vonalat. A belső védelmi rendszer fontos eleme a lizozim, ami muraminidáz enzimként hatva a baktériumok sejtfalát károsítja. A belső védelmi vonal tagjai továbbá az avidin és a konalbumin. Az avidin komplexet képez a biotinnal, így ezt a vitamint nem tudják hasznosítani a mikrobák. A konalbumin a vasat komplexben tartva gátolja a mikrobák hozzájutását a vashoz. A tojásfehérje pH-ja 7,6, ami a tárolási idővel együtt emelkedik. A tojásfehérje védelmi mechanizmusa a bejutott Gram-negatív baktériumok szaporodását gátolja, de nem öli el őket. A konalbumin és az avidin a *Pseudomonas* nemzetség baktériumait gátolja. A tojás légkamrájában esetenként *Mucor*, *Penicillium* elszaporodása figyelhető meg. A tojás jellemző romlási folyamatait főként a *Pseudomonas*, *Proteus*, *Aeromonas* nemzetségek okozzák. A penészgombák okozta romlás többnyire a hajszáltrepedéses héjú tojásoknál következhet be (JÁVOR - SZIGETI, 2011).

4. Anyag és módszer

4.1. Tojások gyűjtése és tárolása

A kutatás elvégzéséhez szükséges tojások gyűjtéséhez két különböző termelési időszakában lévő szülőpár állományt választottunk ki a Gallus Kft. munkatársai segítségével. Egy fiatal, a termelés elején lévő 22-23 hetes és egy idős, a termelés végén lévő 65-66 hetes állománytól történtek a tojásgyűjtések. A telepek kiválasztását követően a keltetői termékenységi adatok segítségével meghatároztuk azt a 1-1 ólat, amelyek a legjobb termékenyülési százalékkal termeltek a két telepen belül.

Az ólak felépítésük szempontjából három részre voltak tagolva, volt bennük mélyalom és rácspadló is, mely gazdasági, higiéniai és állatjóléti szempontból is rendkívül kedvező. Az istálló elrendezése a következőképpen néz ki: Két oldalán található a mélyalmos rész melyet kaparótérnek szokás nevezni. Az alom a madár ürülékéből tevődik össze, amelyet az ól szellőzéstechnikai módszerével szárítanak ki, így morzsalékos száraz alom képződik. Itt található az automata tálcás kakasetetők és 2 sor kaparóláncos tyúk etetővályú. Az ól széleitől beljebb haladva következik kétoldalt a rácspadló, amely közepén a tojófészkeket fogja közre. A tojófészkek között egyes helyeken ülőrudakat is találunk. A fészkek automata kiguruló rendszerű csoportos tojófészkek voltak. A tojófészkekben található az úgynevezett műfü, amely a tyúk környezeti igényeit teljesen kielégíti, kényelmes, arra ösztönzi, hogy oda tojjon az alom helyett. Kialakításából fakadóan a tojás míg legurul a konvektor szalagra, kevésbé érintkezik a szennyeződéssel, mint ha egy sima felületen lenne. A rácspadló felett található mindkét oldalt a szelepes itatórendszer, úgy elhelyezve, hogy a kaparótér véletlenül se nedvesedjen be.

Az ólakban konvektor szalagra guruló tojásokat naponta két alkalommal gyűjtik össze. Az első alkalommal még olyan tojások is lehetnek a szalagon, amelyeket az előző napi utolsó tojásszedést követően tojtak a tyúkok. Ezekből kifolyólag én az aznapi második szedés során gyűjtöttem a tojásokat a szalagról, ezáltal biztosítva a megtojt tojások frissességét és megtojásuk időpontjának szempontjából az egyöntetűséget.

A kutatás során 4 különböző mintával dolgoztam telepenként, amelyeket az alomban töltött idő különböztetett meg. Ez alapján a következő mintákat különböztettük meg: 3 órát töltött az alomban (továbbiakban 3 órás), 6 órát töltött alomban (továbbiakban 6 órás), 16 órát töltött alomban (továbbiakban 16 órás) és végül a kontroll tojások, amelyek egyáltalán nem érintkeztek az alommal (továbbiakban kontroll).

A mintákon belül különböző mennyiségben gyűjtöttem a tojásokat, a későbbi kezelések figyelembevételével. A kontroll- és a 16 órás tojásokból 185 darabot gyűjtöttem, mert 5-5 darab

tojást újgenerációs mikrobiom vizsgálatra továbbítottunk. A 3-, illetve 6 órás tojásokból nem küldtünk mintát mikroba vizsgálatra, így azokból 180-180 darab tojást gyűjtöttem. Így telepenként 730 darab, azaz összesen 1460 tojás gyűjtésére került sor.

A gyűjtést követően mindegyik tojást egyedileg megjelöltem egy filctollal a mintanevük alapján és lemértem a súlyukat, amelyekből átlagsúlyt számoltam csoportonként (**1. kép**). Utána az alom porhanyós részébe helyeztem őket (**2. kép**). A jelölésük alapján különböző időtartamra az alomban hagytam őket (3-,6- és 16 óra), amit lefedtem lefertőtlenített kosarakkal. Annak érdekében, hogy imitáljam az egyébként átlagos körülmények között madarak által elvégzett mozgatusukat, időközönként megforgattam őket.

1. kép A kísérleti tojások megjelölése



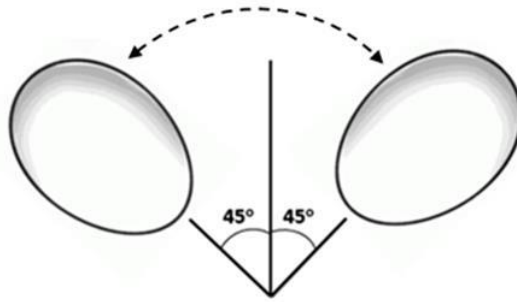
2. kép Alomba helyezett tojások.



A csoportok ideje alapján fokozatosan szedtem ki a tojásokat az alomból tojástartó tálcára, majd a telepi tojástartó egységbe raktam őket, ahonnan elszállításra kerültek. Telepenként 1-1 csoport 16 órát töltött az alomban, így azokat alomba rakásukat követő másnap szedtem ki. Ennek okán a többi tojás 1 napot töltött a temperált telepi tároló egységben, majd azt követően kerültek elszállításra a keltetőbe. A mikrobiális vizsgálatra szánt tojásokat gumikesztyűvel összegyűjtve, kezelésként elkülönítve szállítottam Keszthelyre a többi tojás keltetőbe szállításának napján.

4.2. Tojások keltetői kezelése

A tojásokat temperált teherautóval szállították el a telepről a keltetőbe, ahol áthelyezték őket a tálcás előkeltető kocsira (**3. kép**). A tálcázott tojásokat a gázosító helyiségben formalinos gázosítással fertőtlenítették, 7g/m^3 koncentrációjú paraformaldehiddel. A kísérletben részt vevő tojások a megtojástól számított hetedik napon kerültek berakásra az előkeltető gépbe. A keltetői tárolás során $17\text{ }^{\circ}\text{C}$ -os teremhőmérsékleten, 75%-os relatív páratartalom mellett 8 óránként voltak forgatva a tojás hegyesebb végével lefelé 90° -os szögben (**6. ábra**).



6. ábra Tojás forgatásának szöge (BENK, 2019)

A tojásokat a jobb keltetési eredmény és a reprezentatív keltető gyakorlat érdekében a megtojást követő 4. napon felmelegítették, majd visszahűtötték egy, az erre a műveletre szánt előkeltető gépben. A melegítési program 10 órán keresztül végzi a tojások felmelegítését 32 °C-ra, úgy, hogy 4-5 órán keresztül az előbb említett hőmérsékleten tartja őket. A melegítés végeztével a tojásokat visszahűtötték a tárolási hőmérsékletre (17 °C).

A Petersime Bio Streamer 24S típusú előkeltető gépben a tojások 18 és fél napot töltöttek, amelyekben a hőfokot, relatív páratartalmat, a levegő CO₂ tartalmát és a tojások forgatását a beállított keltetési programnak megfelelően a keltetőgép automatikusan végezte el. Az előkeltetés során a tojásokat óránként forgatta a gép.

3. kép Tojások berakása az előkeltető gépbe



A tojások átrakása, lámpázása és in ovo oltása az embrionális fejlődés 18. napján, egy időben történt (**4. kép**). A lámpázás során kiválogattuk a terméketlen, sérült és záp tojásokat, valamint azokat, amelyekben elkezdődött az embrionális fejlődés, de egy szinten megragadt (**5. kép**). Ezen tojásokat feltártam és fejlődési stádiumuk alapján megállapítottam a befulladásuk napját a Gallus Kft. útmutatója alapján. Miután kiválogattuk a tojásokat, megtörtént a Gumboro betegség elleni in ovo vakcinázásuk (Cevac Transmune IBD, Ceva-Phylaxia, Budapest).

4. kép A tojások 18. napi lámpázása



5. kép A keltetés 8. napján elhalt embrió



Az oltást követően a tojásokat a gép automatikusan áthelyezi a bújtató tálcára, amelyek a bújtatókocsikra helyezve kerülnek az utókeltetőbe. Az utókeltetőgép szintén automatikusan végzi a keltetést, melynek 3 napos szakaszában a tojásokat már nem forgatják.

A keltetés 21. napján vizsgáltam a különböző csoportok kikelésének idejét, amely alapján az eddig ismert csoportokat tovább bontottam kelésük alapján. Az adott csoportokon belül külön szedtem azokat a csibéket, amelyek a kelési időszak első felében (korán kelt) és a második felében (későn kelt) keltek ki a tojásokból, aminek a későbbiekben a csibék vitalitása szempontjából van jelentősége. Ez alapján csoportonként az először kikelt 70 db csibét külön tálcára szedtem és a továbbiakban külön csoportokra bontva tartottuk és hizlaltuk őket. Azok a tojások, amelyekből a keltetés 21. napján nem kelt ki csibe, szintén feltártam és a 18. napi vizsgálattal megegyezően tanulmányoztam őket (6.-7. kép).

6. kép A keltetés 20. napján elhalt embrió



7. kép Az első kikelt csibék



A keltetőben utolsó kezelésként nyálkahártyán keresztül felszívódó spray formájában kaptak az állatok baromfi pestis (Cevac Vitapest) és fertőző bronchitis (Cevac Bron 120 L, Ceva-Phylaxia, Budapest) vírus elleni vakcinát **(8. kép)**.

8. kép Keltetői vakcinázás



4.3. Tojáshéj bakteriális vizsgálata tenyésztéses módszerrel

A vizsgált tojásokból összesen 40 mintát különítettünk el összcsíraszám és az *Enterobacteriaceae* szám vizsgálatra. A vizsgálatot a Gallus Baromfitenyésztő és Keltető Kft. Mikrobiológiai laboratóriumában (8460 Devecser, Levente telep 1.) végezték el. Az összcsíraszám vizsgálat az MSZ EN ISO 4833-1:2014 szabványa alapján 72 óra $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ -os inkubációval, az *Enterobacteriaceae* szám vizsgálat az MSZ EN ISO 21528-2:2017 szabvány alapján 24 óra $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ -os inkubációval történt.

4.4 A tojásminták bakteriális vizsgálata szekvenálási módszerrel

A szekvenálás elvégzése során három külön böző mintavételi helyet vettünk figyelembe; tojáshéj (későbbiekben: héj), tojás hártya (későbbiekben: hártya) és a tojás belső homogenizátuma (későbbiekben: belső).

A tojásmintákból a bakteriális DNS kivonása, tisztítása után az amplifikáláshoz KLINDWORTH et al. (2013) szerint leírt, bakteriális 16S rRNS gén V3-V4 régiójára tervezett primereket használtunk. Az elkészült, minőségellenőrzött és qPCR-rel kvantifikált könyvtárak szekvenálása Illumina Miseq platformon valósult meg.

A nyers szekvenciák analíziséhez a Quantitative Insights Into Microbial Ecology 2 (QIIME2) 2020.2. verziószámú szoftverét használtuk. (BOLYEN et al., 2019). Az operatív taxonómiai egységek (OTU) klaszterezését nyílt referencia-stratégia segítségével végeztük, az OTU-k csoportosítása 97%-os hasonlósági szinten történt Silva adatbázis felhasználásával (QUAST et al., 2013).

A mikrobiális diverzitást a minták között (alfa-diverzitás) és a mintacsoportok között (béta-diverzitás) QIIME2 program segítségével értékeltük. A minták fajgazdagságának (alfa-diverzitás) elemzéséhez az ún. ritkítási görbét és a Chao1diverzitási indexeket használtuk.

4.5. A hizlalási kísérlet beállítása

Összesen 574 db ROSS 308-as típusú napos vegyes ivarú csibét a kelést követően lemértünk, majd hasonló átlagsúlyokkal 8 takarmányozási csoportra osztottuk, kezelésként 3 ismétléssel (24 állat fülkénként). : KFE – kontroll, fiatal állománytól származó, korai kelésű; KfV – kontroll, fiatal állománytól származó, késői kelésű; KÖE – kontroll, idős állománytól származó, korai kelésű; KÖV – kontroll, idős állománytól származó, késői kelésű; AFE - alomtojás, fiatal állománytól származó, korai kelésű; AFV - alomtojás, fiatal állománytól

származó, késői kelésű; AÖE - alomtojás, idős állománytól származó, korai kelésű, AÖV - alomtojás, idős állománytól származó, késői kelésű. A csibéket a Magyar Agrár és Élettudományi Egyetem Georgikon Campusának állatházába szállítottuk. Az állatkísérletet az Intézményi Etikai Bizottság (Állatvédelmi Bizottság, Georgikon Campus, MATE) a MÁB-5/2022 engedélyszám alatt hagyta jóvá. A naposcsibéket automata, számítógéppel vezérelt optimális környezeti feltételeket biztosító zárt helyiségben helyeztük el, 10 csibe/m² sűrűségben. A csoportos tartás szecskázott búzaszalma mélyalommal ellátott, horganyzott lemezből és huzalból készített fülkékben történt. A kísérleti takarmányokat úgy állítottuk össze, hogy fedezzék a Ross 308-as csirkék táplálóanyag szükségletét a tenyésztő ajánlásának megfelelően (Aviagen, 2019).

A tápok három fázisban etettük, az indítót az első 10 napban, a nevelőt a 11. és 24. nap között, míg a befejezőt 25 napos kortól a kísérlet zárásáig, a 39. napig. A tápok összetételét és mért táplálóanyag-tartalmát a 3. és 4. táblázat tartalmazza. Az állatoknak a kísérlet teljes ideje alatt *ad libitum* hozzáférést biztosítottunk a takarmányhoz és az ivóvízhez.

3. táblázat A kísérleti tápok összetétele (g/kg)

Összetétel	Indító (1-11. nap)	Nevelő (12-14. nap)	Befejező (15-39. nap)
Kukorica	391,3	424,8	479,4
Búza	100,0	100,0	100,0
Extrahált szójadara	407,0	374,0	321,0
Napraforgó olaj	51,0	60,0	64,0
Takarmánymész	16,5	13,9	12,0
Monokalcium-foszfát	13,2	11,0	8,9
L-Lizin	4,1	2,7	2,1
DL-Metionin	4,0	3,2	2,9
L-Threonin	1,4	0,8	0,6
L-Izoleucin	0,3	0,1	0,1
L-Arginin	0,3	0	0
Valin	1,0	0,6	0,6
NaCl	3,0	3,0	3,0
NaHCO ₃	1,0	1,0	1,0
Premix	5,0	4,0	4,0
Xilanáz ¹	0,2	0,2	0,2
Fitáz ²	0,1	0,1	0,1
Kokcidiosztatikum	0,6 ³	0,5 ⁴	0
Összes	1000	1000	1000

¹ NSP digesting enzymes, beta 1-4, endo-xylanase enzyme - Econase XT, AB Vista, Marlborough, Wiltshire, SN8 4AN; ² Quantum Blue (Panadditív Kft. 2040 Budaörs); ³ Maxiban, Elanco Clinton Laboratories, USA; ⁴ Sacox, Huvepharma EOOD, Sofia, Bulgaria

4. táblázat A kísérleti tápok mért táplálóanyag tartalma (%)

Összetétel	Indító	Nevelő	Befejező
AME _n (MJ/kg)	12,55	13,05	13,46
Nyersfehérje	22,4	21,0	18,9
Nyerszsír	7,2	8,2	8,7
Nyersrost	3,3	3,2	3,0
Ca	1,06	0,92	0,80
P (összes)	0,61	0,55	0,49
emészthető lizin	1,30	1,15	1,00
emészthető metionin	0,69	0,60	0,55
emészthető metionin + cisztin	0,98	0,87	0,80

A takarmányváltások időpontjában megmértük a teljes állomány élő súlyát, valamint fülkénként az elfogyasztott takarmány mennyiségét (**9. kép**). A mért adatokból a hizlalás egészére vonatkozóan mértük és számítottuk a csirkék takarmányfelvételét, testtömeggyarapodását, továbbá a fajlagos takarmány-felhasználást.

9. kép A 11. napon végzett mérés



4.6 Statisztikai értékelés

A keltethetőség eredményeit az általános lineáris modell (GLM) binomiális eloszlású eredményváltozókra vonatkozó módszerrel értékeltük ki.

Az alfa-diverzitás-mutatókat (Chao1) és a béta-diverzitás-mutatókat (Bray – Curtis dissimilarity) a QIIME2-diverzitás és a MicrobiomeAnalyst online szoftver segítségével becsültük meg (DHARIWAL et al., 2017; CHONG et al., 2020). A Chao1 indexet a fajgazdagság becslésére, a béta-diverzitás-elemzést a mintacsoportok faji összetételbeli összehasonlítására használják. A minták közötti bakteriálközösség szerkezetének különbségeinek vizsgálatához fő koordináta-elemzést (PCoA) végeztünk Bray–Curtis módszerrel. A baktériumközösségek közötti eltérések vizsgálatához hasonlósági számítás elemzést végeztünk el (PERMANOVA). A vizsgált minták taxonómiai analízise során az eredményeket - relatív gyakoriság értékek - 5 taxonómiai szinten elemeztük (törzs, osztály, rend, család, nemzetség), a MicrobiomeAnalyst online szoftver és az SPSS 23.0 statisztikai program (IBM Corp. 2015) segítségével. A különböző mintavételi helyek (héj, hártya és belső), a szülőpár állományok kora és a tojáskezelések bakterióta összetételre gyakorolt hatását a különböző taxonómiai szinteken egy és kétféle variáns variánsanalízis segítségével hasonlítottuk össze FDR korrekció használatával, amihez Benjamini – Hochberg hamis felfedezési arány (BH-FDR) korrekciót (FDR p-érték) használtuk. Szignifikáns különbségnek az FDR $p < 0,05$ értéket, míg az 0,05 és 0,10 közötti értéket trendnek tekintettük. A termelési paramétereket háromtényezős (szülőpár kor, tojáskezelés, kelési idő) variánsanalízissel értékeltük az SPSS 23.0 szoftver segítségével (IBM Corp. 2015). A különbségeket ez esetben is $p < 0,05$ szinten tekintettük szignifikánsnak.

5. Eredmények és azok értékelése

5.1. A keltethetőség vizsgálata

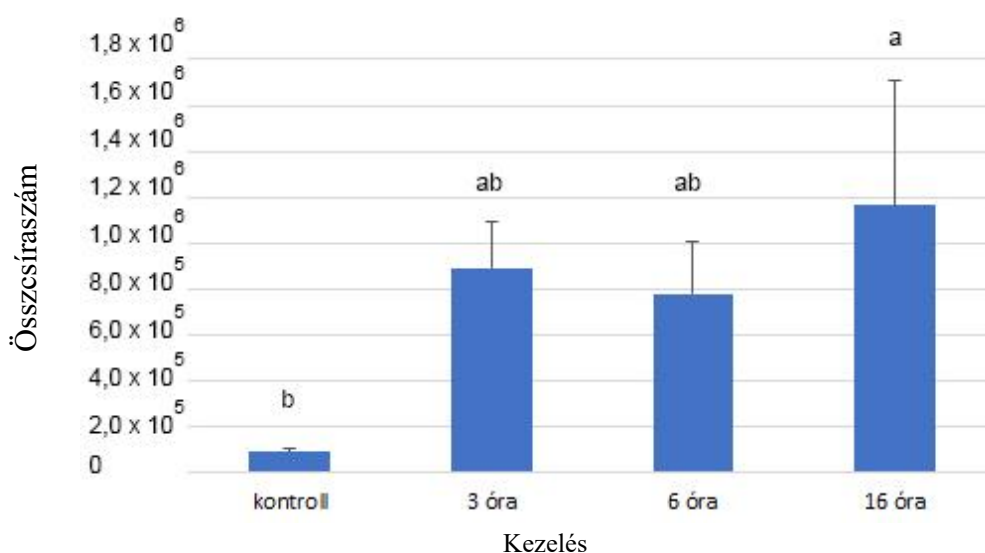
A keltethetőség vizsgálata során meghatároztuk a szennyezett tojások alomban töltött idejének hatását a sérült-, befulladt tojások, a termékenyült, valamint az összes tojásból kikelt csibék arányára. A sérült tojásokhoz a záp és a beszáradt tojásokat számoltuk. Megállapítottuk, hogy az irodalmi adatoknak megfelelően a fiatal állománytól származó tojások magasabb termékenyülési és kelési arányt mutattak, azonban ez csak tendenciálisan volt kimutatható. Feltehetően nagyobb ismétlésszám mellett ez a hatás szignifikáns lenne. Azonban 16 órát alomban töltött tojásoknál szignifikánsan alacsonyabb kelési arányt állapítottunk meg a 3 és a 6 órás kezeléshez képest (5. táblázat).

5. táblázat A tojáskezelések és a szülőpár állományok életkorának hatása a különböző keltethetőségi paraméterekre

	Termékenyült tojások (%)	Sérült tojások (%)	Befulladt tojások (%)	Termékenyültből kikelt (%)	Összesből kikelt (%)
<i>Tojás típusa</i>					
K	96,3	0,28	5,0 ^{ab}	94,8 ^{ab}	91,3 ^{ab}
3 óra	97,5	0,28	4,16 ^b	95,7 ^a	93,3 ^a
6 óra	96,9	0,28	3,33 ^b	96,5 ^a	93,6 ^a
16 óra	96,5	0,56	8,05 ^a	91,5 ^b	87,5 ^b
<i>Szülőpár kora</i>					
Idős	95,6	0,56	5,83	93,8	89,2 ^b
Fiatal	97,5	0,14	4,44	95,4	92,9 ^a
<i>Tojás típus x Szülőpár kora</i>					
K x Fiatal	96,6	0,00	5,00	94,8	91,6
K x Idős	96,1	0,56	5,00	94,7	91,1
3 óra x Fiatal	97,2	0,00	5,56	97,1	94,4
3 óra x Idős	97,7	0,56	2,78	94,3	92,2
6 óra x Fiatal	98,8	0,00	3,33	96,6	95,1
6 óra x Idős	95	0,56	3,33	96,4	91,6
16 óra x Fiatal	97,2	0,56	9,44	93,1	90,5
16 óra x Idős	93,8	0,56	6,67	89,9	84,4
SEM	1,58	0,29	2,17	2,33	3,30
p-érték					
Tojás típusa	ns	ns	<0,05	<0,05	<0,05
Szülőpár kora	ns	ns	ns	ns	<0,05
Tojás típusa x Szülőpár kora	ns	ns	ns	ns	ns

5.2. A tojáshéjról végzett baktérium tenyésztés eredményei

Az *Enterobacteriaceae* tenyésztés eredményei azt mutatták, hogy a minták szennyezettsége nem haladta meg a megengedett értéket, 1 minta kivételével ($1,6 \times 10^4$) minden esetben 1×10^2 alatti értékeket kaptunk. A nagy egyedi különbségek miatt a minták átlaga nem volt homogén eloszlású, emiatt nem paraméteres tesztet alkalmaztunk az eredmények kiértékeléséhez. A Kruskal-Wallis teszt használatával megállapítottuk, hogy szignifikáns különbség van a csoportok között összcsíraszám tekintetében ($p > 0,000$). Láthatóan az alommal szennyezett tojások héján minden időtartam esetében nőtt az összcsíraszám, ez azonban csak a 16 órát alomban töltött minták esetében eredményezett szignifikáns különbséget (7. ábra). A szülőpár állomány korának nem volt hatása erre a vizsgált paraméterre.



7. ábra A vizsgált tojások héjáról végzett összcsíraszám meghatározás eredménye

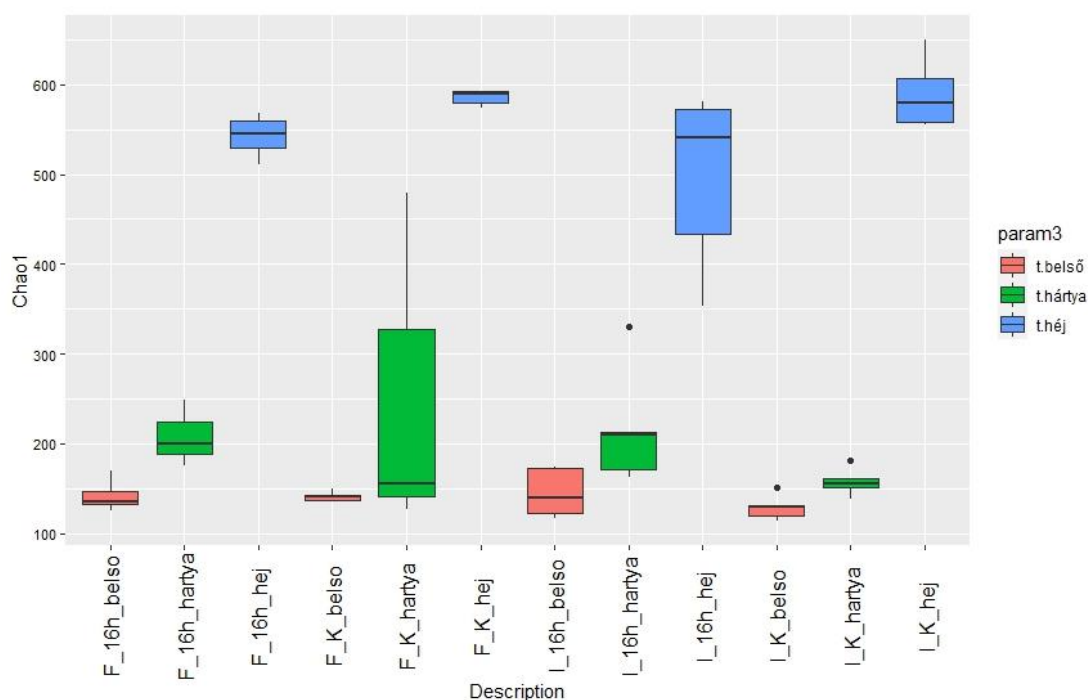
A magas szórás értékek jól mutatják a nagy egyedi különbségeket. Egy mintát az értékelhetőség érdekében ki kellett zárni a vizsgálatból, mivel ennél a mintánál nagyságrendekkel magasabb értékeket kaptunk. A minták átlagos összcsíraszám $2,2 \times 10^6$ volt, míg ennek az egy mintának az értéke $6,1 \times 10^7$ volt. Ennél a mintánál a laboratóriumi jegyzőkönyvben is feljegyezték, hogy a P6/1. jelű minta alomanyagot tartalmazott.

5.3. A szekvenálási vizsgálatok eredményei

5.3.1. A mintavételi helyek összehasonlítása

Alfa-diverzitás

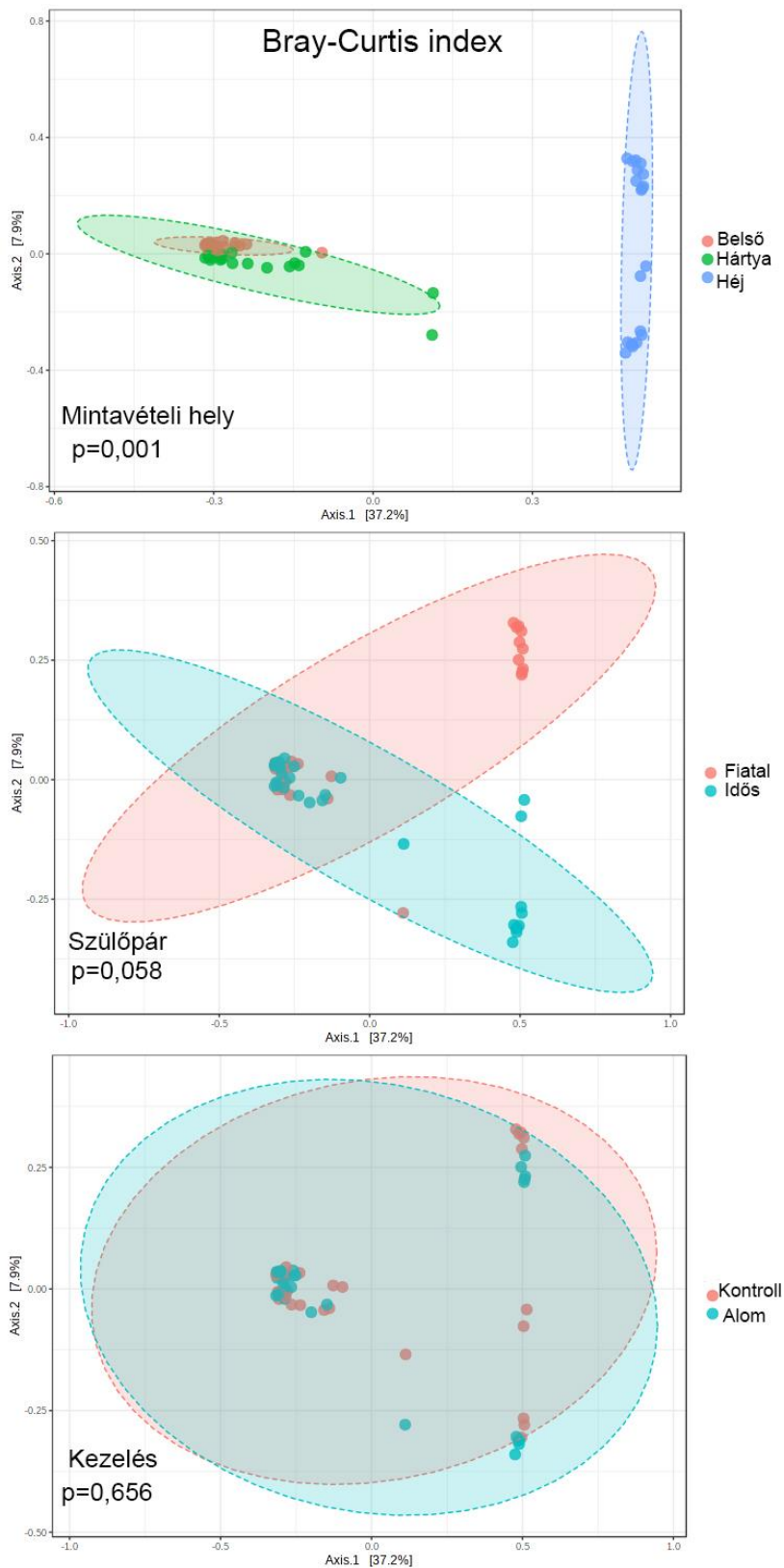
Vizsgálatunk során a tojásmintákból származó 60 minta szekvenálása összesen 1.653.733 minőség-ellenőrzött szekvenciát eredményezett. Az átlagos szekvenciaszám 24.023 volt a tojáshéjon (min: 20.673; max: 31.599); 27.165 a tojás hártján (min: 21.759; max: 32.065); és 31.497 a tojás belső homogenizátumban (min: 13.302; max: 42.044), ill. ezeket a szekvenciákat 3470 OTU-hoz rendeltük hozzá 97%-os hasonlósági szinten, nyílt megközelítést használva. A fajgazdagság ritkítási görbéi és a Chao1 diverzitási index azt mutatják, hogy a mintatípusok közül a tojáshéj mikrobiótának volt a legmagasabb a diverzitása (Chao1 $p=0,000$), ezt követte a belső hártja és a tojás belső homogenizátum (**8. ábra**). A diverzitási mutatókat leginkább a mintavételi hely befolyásolta.



8. ábra A különböző kezelések hatása a mikrobióta alfa-diverzitási értékeire. A boxplot az alfa-diverzitást a Chao1 indexel mutatja be

Béta-diverzitás

A béta-diverzitás a főkoordináta-analízis (PCoA) alapján a Bray-Curtis disszimilitási mátrix segítségével szignifikánsan eltérő (PERMANOVA, $R = 0,40$, $p = 0,001$) bakteriális közösség szerkezetet mutatott a mintavételi helyek között, valamint a teszt erős tendenciális szülőpár hatást is igazolt ($R = 0,03$, $p = 0,058$). A tojás szennyezettsége nem befolyásolta a baktériumközösség szerkezetét ($R = 0,011$, $p = 0,656$). A magas R -érték a mintavételi helyek esetén ($R = 0,816$, $p = 0,001$) a bakteriális struktúrák közötti nagy eltérésre utal (**9. ábra**).



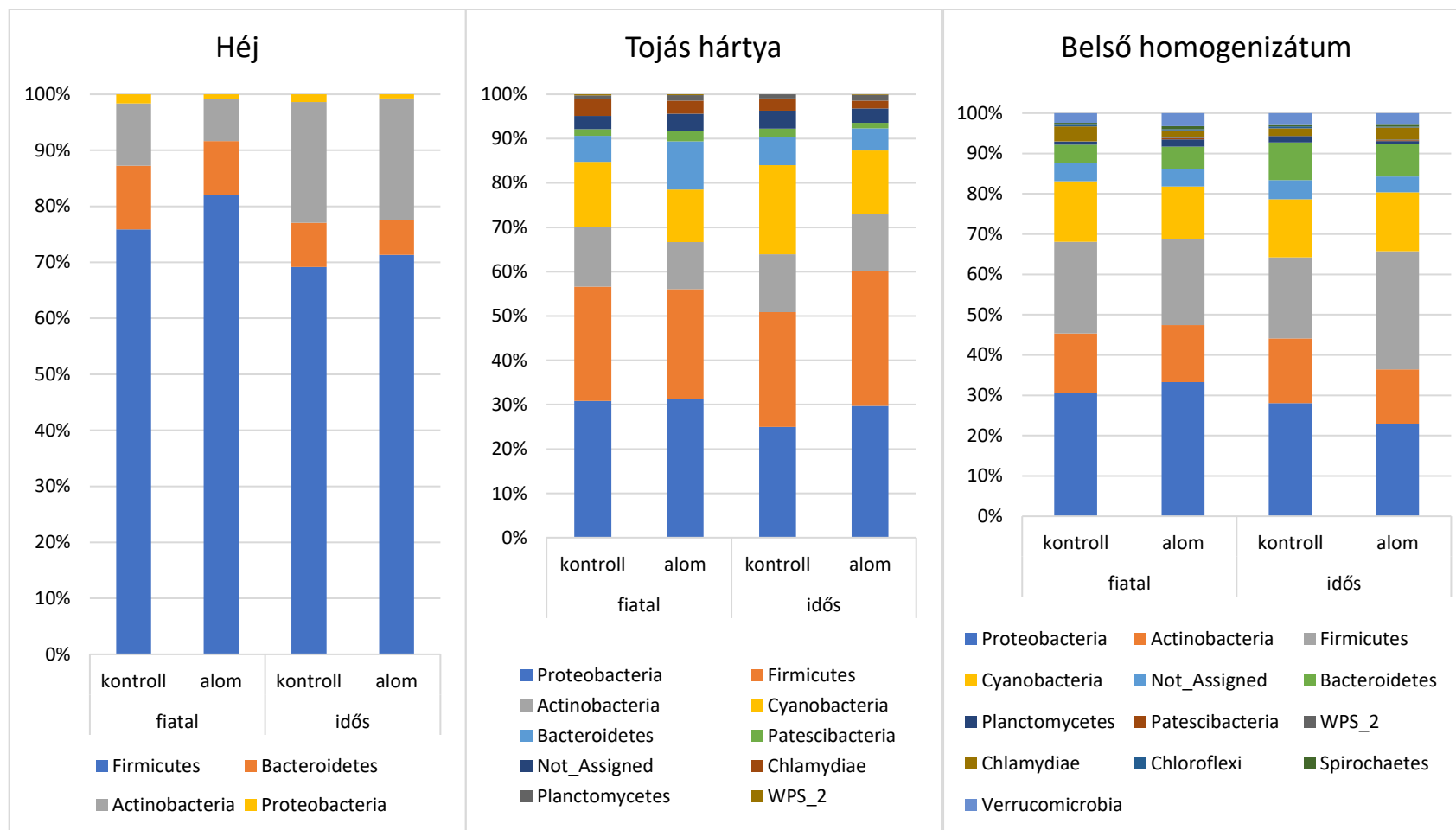
9. ábra Főkoordináta analízis (PCoA) Bray–Curtis index használatával mintavételi a vizsgálat paraméterek szerint bemutatva

Taxonómiai összetétel

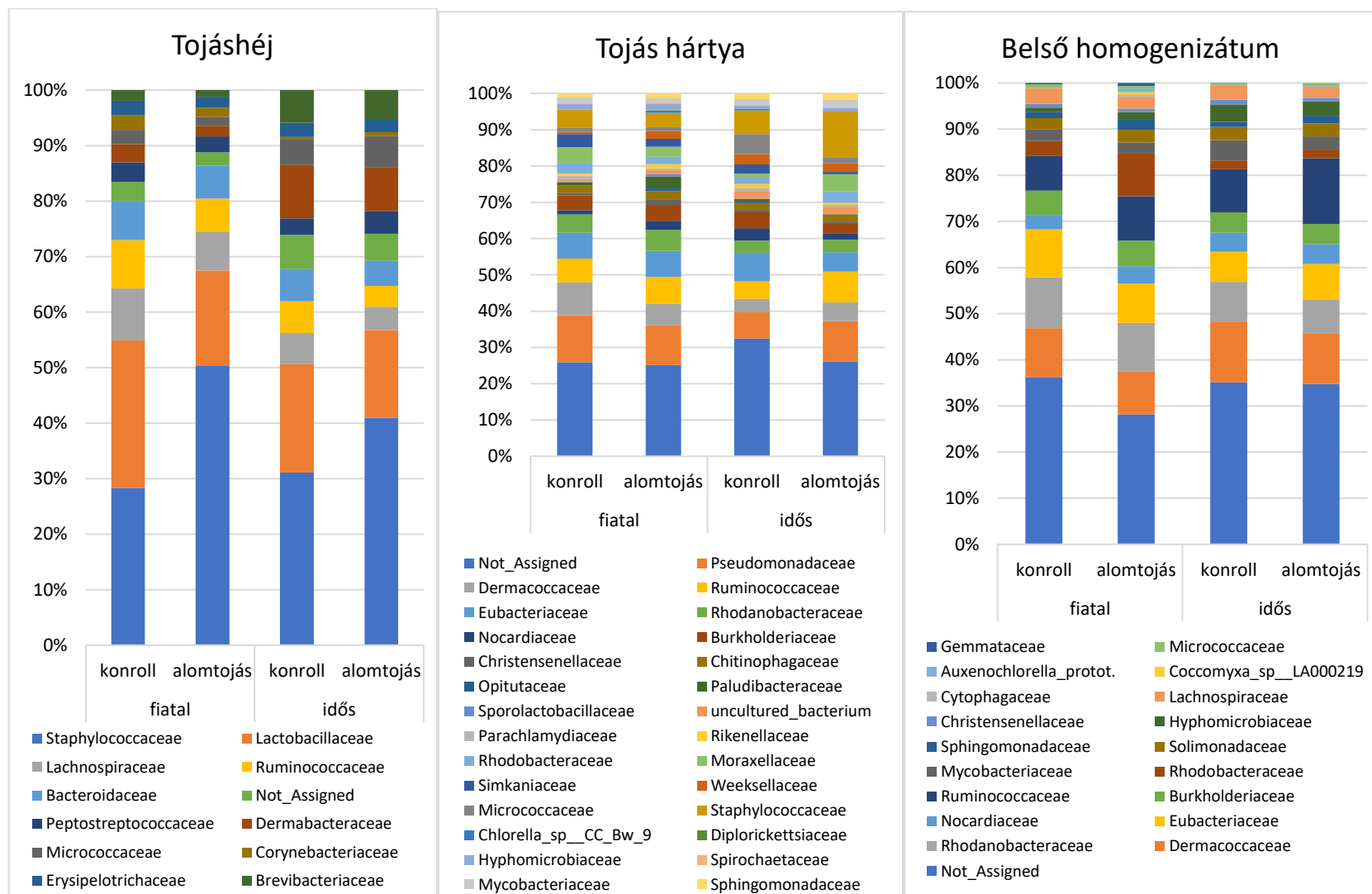
A tojáshéj mikrobiótájában a *Firmicutes* törzs volt domináns (67-80%), ami a *Staphylococcaceae* (23,7-44,65%) és *Lactobacillaceae* (15,1-22,2%) család dominanciáját jelenti alacsonyabb taxonómiai szinten vizsgálva (**10. és 11. ábra**). Ez nemzetség szinten is lekövethető, a *Staphylococcus* átlagosan 19%-ban, a *Lactobacillus* 16,2%-ban a két domináns nemzetség.

A tojás hártýában már nem ilyen nagyarányú a *Firmicutes* (23,6-29,6%) dominancia, a *Proteobacteria* (24,2-29,9%), *Actinobacteria* (10,1-13,7%) és *Cyanobacteria* (11,2-19,4%) törzs is nagy arányban megjelenik. Család szinten a legnagyobb gyakorisággal a *Pseudomonaceae* (5,3-9,2%), *Dermaocccaceae* (2,7-6,4%), *Ruminococcaceae* (3,6-6,1%) és *Eubacteriaceae* (3,8-5,8%) volt jelen. Nemzetség szinten a *Pseudomonas* 7,57%, a *Flexivirga* 4,16%, a *Staphylococcus* 3,71% és a *Rhodanobacter* 1,79%-kal volt legnagyobb arányban beazonosítható.

A tojás belső homogenizátum törzs szinten nagy hasonlóságot mutat a hártýa mikrobiótával. A leggyakoribb törzsek a *Proteobacteria* (22,2-31,9%), *Firmicutes* (19,6-28,3%), *Actinobacteria* (12,9-15,5%) és *Cyanobacteria* (12,5-14,3%). Nemzetség szinten a *Flexivirga* 6,67%, a *Rhodanobacter* 3,61%, a *Paracoccus* 2,40%, a *Rhodococcus* 2,33%, és az *Enhydrobacter* 2,08%-ban volt jelen. DING et al. (2021) vizsgálatai során a *Proteobacteria* törzs a tojás sárgájában 60-78%-os volt, emellett a *Firmicutes* törzs 16-30% közötti arányban volt jelen. Nemzetség szintjén az *Aquabacterium* (3,53%), a *Faecalibacterium* (3,22%), a *Pseudomonas* (2,41%) és az *Asticcacaulis* (1,93%) volt kimutatható. Ezek a jól látható különbségek eredményeinkkel azonban nem teljes mértékben összehasonlíthatóak, mivel esetünkben a tojás belső homogenizátum a fehérje részt is tartalmazta.



10. ábra. A vizsgált minták mikrobiótájának relatív gyakoriság változása a kezelések hatására törzs szinten. A diagram az 1%-nál nagyobb gyakoriságú törzseket mutatja



11. ábra. A vizsgált minták mikrobiótájának relatív gyakoriság változása a kezelések hatására család szinten. A diagram az 1%-nál nagyobb gyakoriságú családokat mutatja

Az újabb, a tenyésztésen alapuló vizsgálati módszerek által nyújtott lehetőségeket messze meghaladó, a kivont DNS elemzésén alapuló módszerek jóval gazdagabbá tették ismereteinket a tojás mikrobiótájáról. Az új generációs vagy nagy áteresztőképességű szekvenálás (NGS) napjainkra a vezető vizsgálati módszerré vált, bár sok esetben a tenyésztéses módszerek megőrizték fontosságukat (GUPTA et al., 2019). Kutatásunk során az összcsíraszám tenyésztési vizsgálat eredményei kiegészítik a szekvenálási adatokat. Bemutatja, hogy az alomtojások 16 órás szennyezési intervalluma nagy mértékben növeli az összcsíraszámot, azzal együtt, hogy a mikrobák arányát is befolyásolja, hiszen a szekvenálási eredményekből láthatjuk, hogy az alomtojások héján megnövekedett a *Firmicutes* és csökkent a *Proteobacteria* törzs aránya

Irodalmi adatok szerint a tojáshéjról izolálható baktériumok főleg a Gram-negatív csoportba tartozó *Enterobacteriaceae* család tagjai, amelyek nemzetség szintű képviselői között nagy arányban van jelen az *Escherichia coli*, a *Salmonella* és különböző patogén és nem patogén *Staphylococcusok* (BRADEN, 2006; DEÁK, 2006). Friss kutatások szerint a *Micrococcus spp.*, *Enterococcus spp.* és *Staphylococcus spp.* a tojáshéjon dominánsan jelenlévő baktériumfajok (YANG et al., 2018; SAHA et al., 2020). Eredményeink ezt részben támasztják alá, hiszen esetünkben ezzel megegyezve a *Staphylococcaceae* (23,7-44,65%), de emellett a *Lactobacillaceae* (15,1-22,2%) család dominanciáját is kimutattuk.

5.3.2. A tojáshéj bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei

A tojáshéj bakteriális vizsgálata során a fiatal és idős állomány között számos különbséget találtunk már törzs szinten is (6. táblázat). Ez nagyrészt környezeti tényezőkkel magyarázható.

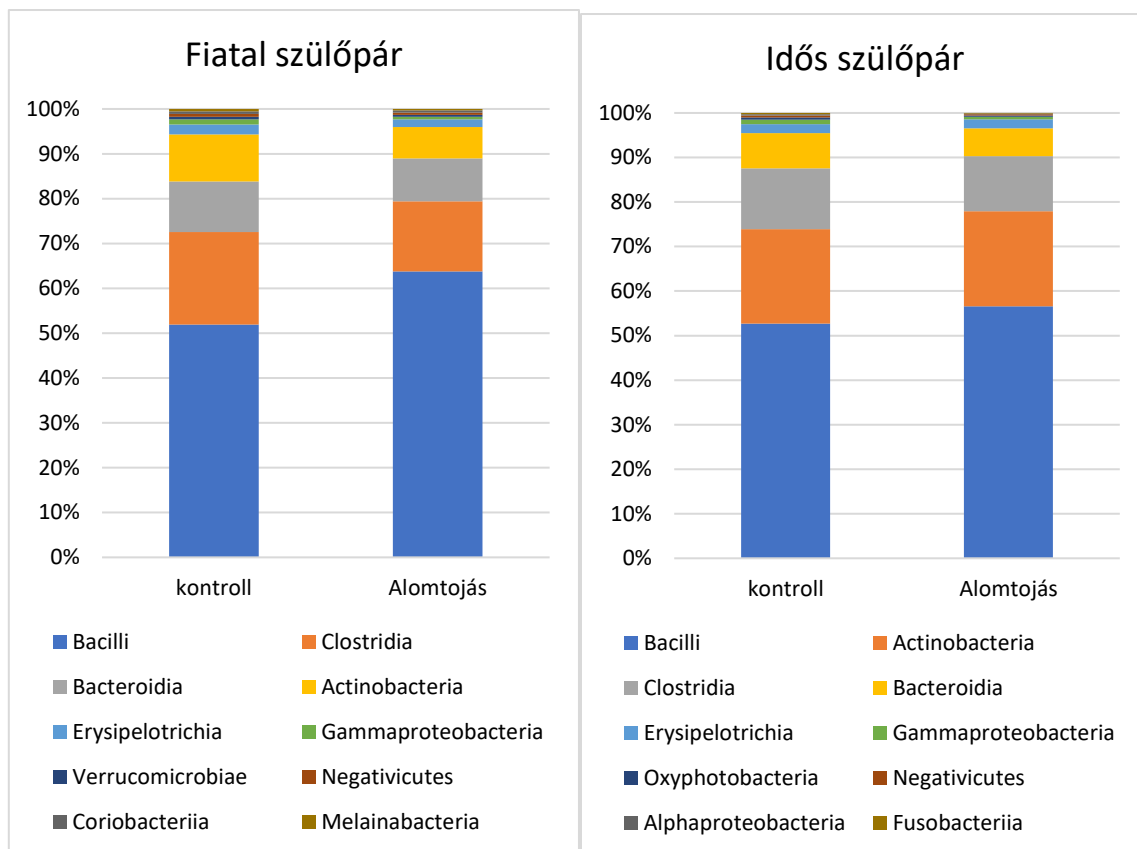
6. táblázat A baktériumtörzsek relatív gyakoriságának változása a kezelések hatására a tojáshéjon (%)

Törzs	Szülőpár			Átlag (kezelés)	FDR p-érték		
	Tojástípus	Fiatal	Idős		Tojás	Szülőpár	Interakció
<i>Firmicutes</i>	Kontroll	73,89	67,86	70,87 ^B	0,013		0,611
	Alom	80,58	70,46	75,52 ^A			
	Átlag (szülőpár)	77,24 ^a	69,16 ^b				
<i>Bacteroidetes</i>	Kontroll	11,05	7,77	9,41	0,358		0,988
	Alom	9,45	6,21	7,83			
	Átlag (szülőpár)	10,25 ^a	6,99 ^b				
<i>Actinobacteria</i>	Kontroll	10,85	21,15	16,00	0,098		0,452
	Alom	7,36	21,35	14,35			
	Átlag (szülőpár)	9,10 ^a	21,25 ^b				
<i>Proteobacteria</i>	Kontroll	1,57	1,34	1,45 ^A	0,017		0,973
	Alom	0,88	0,75	0,81 ^B			
	Átlag (szülőpár)	1,22	1,05				

Az ^{a,b} jelzések szülőpárok korának hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ($p < 0,05$). Az ^{A,B} jelzések a tojás szennyezettségének hatására bekövetkező átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik ($p < 0,05$). A táblázat csak azokat a családokat tartalmazza, amelyeknél a relatív gyakoriság csoportátlaga 1%-nál magasabb volt.

Ezek a különbségek minden taxonómiai szinten hasonlóan megmutatkoznak. Az osztály szintű taxonómiai elemzés elvégzésekor jól látható az is, hogy a kontroll és alomtojás minták vizsgálatánál telepenként különbségek vannak.

A fiatal állománytól származó tojáshéj mintákról azonosított elemzés során megállapítható, hogy a kontroll és alomtojás minták között számos szignifikáns különbséget találunk a gyakorisági értékekben. Az osztály szintű elemzés során megállapítható, hogy a *Fusobacteria* (0,24-0,40%; $p=0,014$), *Gammaproteobacteria* (0,6-1,1%; $p=0,014$), *Oxyphotobacteria* (0,65-0,77; $p=0,022$), *Actinobacteria* (6,8-10,3%; $p=0,043$) osztályok a kontroll tojás héján, a *Bacilli* (50,9-62,9%; $p=0,05$) osztály viszont az alomtojás héján van nagyobb gyakorisággal jelen (**12. ábra**). Ezek közül az osztályok közül a *Bacilli*, *Actinobacteria* és *Gammaproteobacteria* benne vannak a leggyakoribb 10 osztályban. Érdekes, hogy idős állomány esetén nem volt statisztikai módon kimutatható, leírható különbség.



12. ábra A mintákon beazonosított baktérium osztályok a fiatal és idős szülőpár állománytól származó kontroll és alommal szennyezett tojásminták esetén

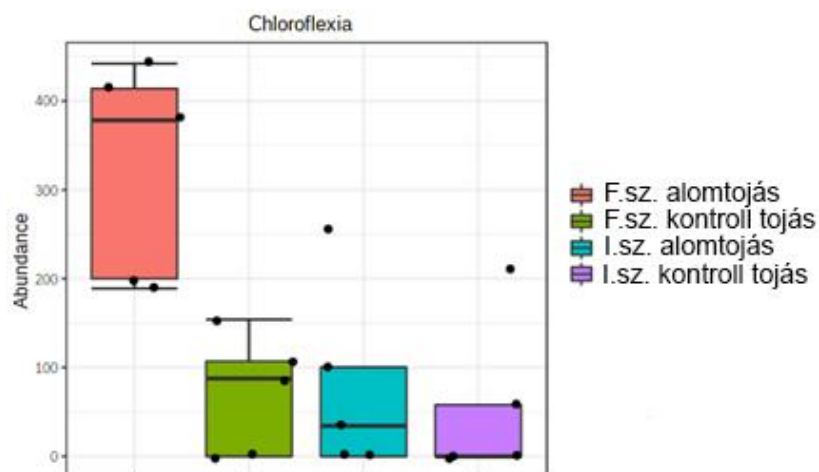
5.3.3. A tojáshártya bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei

A tojáshártya bakteriális vizsgálata során a fiatal és idős állomány esetén sem találtunk különbséget törzs szinten (7. táblázat).

7. táblázat A baktériumtörzsek relatív gyakoriságának változása a kezelések hatására a tojáshártyán (%).

	Szülőpár			Átlag (kezelés)	FDR p-érték		
Törzs	Tojástípus	Fiatal	Idős		Tojás	Szülőpár	Interakció
Proteobacteria	Kontroll	29,91	24,23	27,07	0,748		0,838
	Alom	29,75	28,95	29,35			
	Átlag (szülőpár)	29,83	26,59				
Firmicutes	Kontroll	25,05	25,15	25,10	0,899		0,863
	Alom	23,62	29,65	26,64			
	Átlag (szülőpár)	24,34	27,40				
Actinobacteria	Kontroll	13,07	12,68	12,88	0,705		0,767
	Alom	10,12	12,65	11,39			
	Átlag (szülőpár)	11,60	12,67				
Cyanobacteria	Kontroll	14,24	19,48	16,86	2,287		0,820
	Alom	11,26	13,91	12,59			
	Átlag (szülőpár)	12,75	16,70				
Bacteroidetes	Kontroll	5,72	6,09	5,91	0,741		4,535
	Alom	10,33	4,88	7,61			
	Átlag (szülőpár)	8,03	5,49				
Patescibacteria	Kontroll	1,46	1,93	1,69	0,993		0,830
	Alom	2,16	1,21	1,69			
	Átlag (szülőpár)	1,81	1,57				
Not_Assigned	Kontroll	2,91	3,92	3,41	0,972		1,759
	Alom	3,79	3,17	3,48			
	Átlag (szülőpár)	3,35	3,54				
Chlamydiae	Kontroll	3,66	2,68	3,17	1,356		0,978
	Alom	2,80	1,72	2,26			
	Átlag (szülőpár)	3,23	2,20				
Planctomycetes	Kontroll	0,82	0,90	0,86	0,778		1,648
	Alom	1,16	1,22	1,19			
	Átlag (szülőpár)	0,99	1,06				
WPS_2	Kontroll	0,22	0,00	0,11	1,006		0,935
	Alom	0,21	0,15	0,18			
	Átlag (szülőpár)	0,21	0,08				

A tojáshártya vizsgálatok osztály szinten találtunk különbséget a minták között. A *Cehloroflexia* osztály ($p=0,056$) szignifikánsan nagyobb gyakorisággal fordult elő a fiatal állománytól származó alomtojás tojáshártyáján (**13. ábra**).



13. ábra A *Chloroflexia* osztály előfordulása fiatal és idős állomány kontroll és 16 órás mintájának tojáshártyáján

A *Chloroflexia* osztály, a *Chloroflexi* törzs tagja, fonalas anaerob baktériumok csoportja, szénhidrátokat és más összetett polimer szerves vegyületeket fermentál, kis molekulatömegű szubsztrátokra. Ezzel a saját, és más baktériumok számára is tápanyagot állít elő (SPEIRS et al., 2019). Számos kutatás leírja, hogy az emlősök bél mikrobiomjában kis arányban általánosan megtalálható a kezdeti kolonizálók között (CAMPBELL et al., 2014).

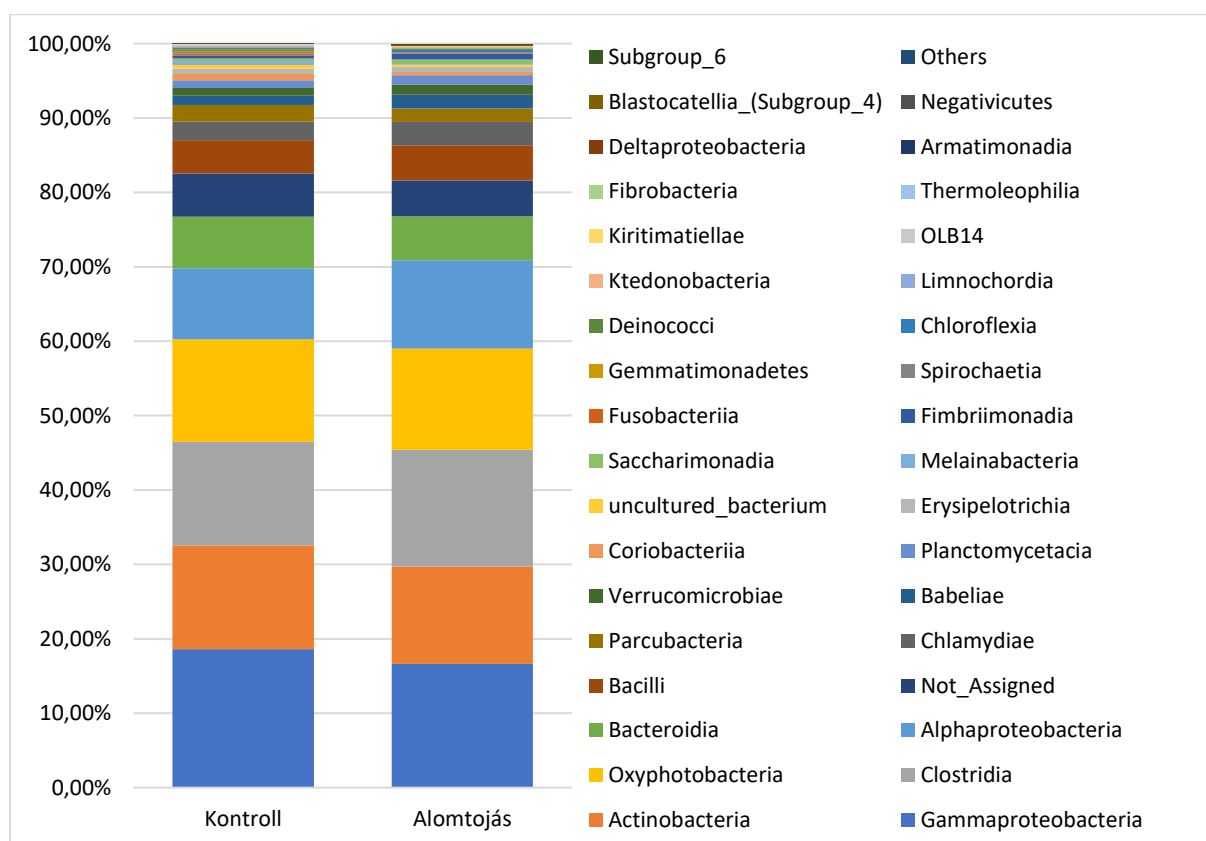
5.3.4. A tojás belső homogenizátum bakteriális összetétel vizsgálatának eredményei

A fiatal és idős állománytól származó tojás belseje között nincs a gyakoriságbeli különbség egy taxonómiai szinten sem (8. táblázat), annak ellenére, hogy a héjon számos különbséget tapasztaltunk. A kontroll és alomtojásokat összehasonlítva sem tapasztalunk gyakoriságbeli eltéréseket (14. ábra).

8. táblázat A baktériumtörzsek relatív gyakoriságának változása a kezelések hatására a tojásbelső homogenizátumban (%)

	Szülőpár			Átlag (kezelés)	FDR p-érték		
Törzs	Tojástípus	Fiatal	Idős		Tojás	Szülőpár	Interakció
Proteobacteria	Kontroll	29,15	27,33	28,24	0,892		0,951
	Alom	31,90	22,24	27,07			
	Átlag (szülőpár)	30,53	24,79		1,169		
Actinobacteria	Kontroll	13,99	15,59	14,79	0,144		0,866
	Alom	13,61	12,96	13,29			
	Átlag (szülőpár)	13,80	14,28		1,024		
Firmicutes	Kontroll	21,58	19,60	20,59	1,141		1,035
	Alom	20,44	28,37	24,40			
	Átlag (szülőpár)	21,01	23,99		1,522		
Cyanobacteria	Kontroll	14,30	14,05	14,18	0,942		0,778
	Alom	12,55	14,12	13,33			
	Átlag (szülőpár)	13,42	14,08		1,080		
Not_Assigned	Kontroll	4,36	4,60	4,48	1,289		0,904
	Alom	4,21	3,79	4,00			
	Átlag (szülőpár)	4,29	4,19		0,932		
Bacteroidetes	Kontroll	4,30	9,08	6,69	0,960		0,803
	Alom	5,31	7,82	6,56			
	Átlag (szülőpár)	4,80	8,45		1,213		
Planctomycetes	Kontroll	0,73	1,34	1,03	0,919		3,120
	Alom	1,68	0,67	1,17			
	Átlag (szülőpár)	1,20	1,00		1,115		
Patescibacteria	Kontroll	0,00	0,00	0,00	1,067		1,627
	Alom	0,36	0,21	0,29			
	Átlag (szülőpár)	0,18	0,11		1,031		
WPS_2	Kontroll	0,04	0,28	0,16	2,422		0,823
	Alom	0,19	0,19	0,19			
	Átlag (szülőpár)	0,12	0,24		1,131		
Chlamydiae	Kontroll	3,51	1,81	2,66	1,011		0,986
	Alom	1,66	2,86	2,26			
	Átlag (szülőpár)	2,59	2,34		0,946		
Chloroflexi	Kontroll	0,63	0,46	0,54	0,959		0,772
	Alom	0,23	0,21	0,22			
	Átlag (szülőpár)	0,43	0,33		1,308		
Spirochaetes	Kontroll	0,22	0,51	0,36	1,086		0,784
	Alom	0,75	0,66	0,70			
	Átlag (szülőpár)	0,49	0,58		1,056		
Verrucomicrobia	Kontroll	2,30	2,70	2,50	0,882		0,826
	Alom	3,09	2,58	2,83			
	Átlag (szülőpár)	2,69	2,64		1,228		

A tojáshéjon előforduló sokféle baktérium ritkán kerül be a tojás belsejébe, illetve oda bekerülve ritkán szaporodik el. Ennek oka, a tojás védekező mechanizmusaiban keresendő (NÉMETH et al., 2012). Azonban a gyakorlati tapasztalatok és kutatások is azt mutatják, hogy a tojáshéjon keresztüli bakteriális fertőzések csökkenthetik a tojások életképességét (COOK et al., 2005a, 2005b). DEEMING et al. (2002) bizonyítékot talált arra, hogy az alomtojások alacsonyabb keltethetőségét a ki nem kelt brojler embriók sárgájazacsájának magasabb mikrobiális fertőzési aránya okozta. Kutatásunk eredményei alapján azonban nem tudtunk különbséget kimutatni a kontroll és alom tojások belső mikrobiális összetételében. Eredményeink szerint a tojás belsejében a tojáshéjhoz képest nagyobb a Gram-negatív törzsekbe sorolható szekvenciák aránya. *Salmonella* nemzetség jelenlétét nem mutattuk ki sem a tojás héján, sem a belsejében. A tojás belsejében a *Firmicutes* törzs tagjai mellett jellemző a *Proteobacteria* és *Actinobacteria* törzsbe tartozó mikrobák jelenléte, ez egyezik a szakirodalomban közölt eredményekkel (DING et al., 2021).



14. ábra A tojás belső homogenizátum bakteriális összetétele osztály szinten

5.3.5 A hizlalási kísérlet eredményei

A tojás kezeléseknél a testtömegre egyedül napos korban volt kimutatható hatása. A kontroll csibék szignifikánsan nagyobb napos kori testtömeggel rendelkeztek az alomtojás kezeléshez képest (12. táblázat). Ez a különbség a hizlalási idő előrehaladtával eltűnt és a nevelési és befejező szakaszokban már az alomtojásból kelt csirkék élősúlya volt nagyobb. Hasonló eredmény látható takarmányfogyasztás tekintetében is. Az indító szakaszban az alomtojásból kelt csirkék szignifikánsan több takarmányt fogyasztottak, mint a kontroll kezelés madarai, de a nevelő szakaszra ez a különbség már nem volt jellemző. Emellett a nevelő és befejező szakaszban az alomtojás kezelés állatainak szignifikánsan kisebb lett a takarmányértékesítése. A testtömeggyarapodásra nem volt kimutatható hatása a tojáskezeléseknek. Egy hasonló, alomtojásokkal végzett holland kutatás során az alomtojások, a mosott alomtojások, valamint a tiszta tojások keltethetőségét, valamint a kelést követő teljesítmény paramétereit vizsgálták (VAN DER BRAND et al., 2016). Eredményeinkhez hasonlóan, a termékenyített tojások életképessége és keltethetősége rosszabb volt az alomtojások és a mosott alomtojások esetén, mint a tiszta tojásoknál. Továbbá, a nevelés során a napos kori testtömeg is a nagyobb volt a tiszta tojásból származó egyedeknél, ami szintén megegyezik a kutatásunk eredményeivel. Esetükben azonban a csirkék takarmányfelvétel, súlygyarapodását és a takarmányértékesítését nem befolyásolták a kezelések. Kísérletünkben ezzel ellentétben több paraméternél is szignifikáns különbségeket kaptunk, meglepően több esetben az alomtojásból kelt csirkék javára.

Legmarkánsabb különbségeket a szülőpár életkor hatásánál tapasztaltuk. Az idős szülőpártól származó csibék testtömege már napos korban szignifikánsan nagyobb volt a fiatal szülőpártól származó csibékhez képest. Ez a különbség a termelés teljes időszakára megmaradt, ami a kumulatív takarmányfelvétel és súlygyarapodás vonatkozásában szignifikáns volt. Miután a két csoportban a takarmányfelvétel és a súlygyarapodás is arányosan változott, a takarmányértékesítésben csupán az indító szakaszban volt statisztikailag igazolható különbség. Ez az eredmény megegyezik az irodalmi adatokkal, amelyek azt bizonyítják, hogy a nagyobb napos súllyal induló csirkék előnye általában a hizlalás későbbi szakaszaiban is megmarad (UNI-FERKET, 2004). A brojlercsirkék limitált kompenzációs képessége azzal magyarázható, hogy az állatok takarmányfelvétele csaknem folyamatos.

A kelésidő statisztikailag kimutathatóan nagyobb kelési súlyt eredményezett a később kelt madaraknál. Ennek hátterében a „korán” kelt csibék súlyvesztése és glikogén raktárainak nagyobb mértékű kiürülése állhat (WILLEMSSEN et al., 2010). A későn kelt csirkék kumulatív

súlygyarapodása szignifikánsan nagyobb, takarmányértékesítés pedig szignifikánsan kisebb volt. Ennél a kezelésnél is megfigyelhető, hogy a kisebb súllyal induló állatok a későbbiekben nem voltak képesek nagyobb takarmányfelvétellel kompenzálni a növekedésbeli lemaradásukat.

9. táblázat A hizlalási kísérlet eredményei

Típus	Szülő- Kelés		Testtömeg (g)				Takarmányfogyasztás (g/nap)				Takarmányértékesítés (g/g)				Testtömeggyarapodás (g)			
	pár	idő	napos	indító	nevelő	befejező	indító	nevelő	befejező	összes	indító	nevelő	befejező	összes	indító	nevelő	befejező	összes
K	F	E	36,2	228	1094	2483	284	1160	2199	3643	1,48	1,32	1,60	1,49	192	877	1378	2447
		V	36,9	231	1154	2564	289	1136	2115	3541	1,47	1,24	1,50	1,40	197	920	1410	2527
	I	E	47,7	313	1374	2850	294	1368	2312	3975	1,10	1,29	1,57	1,41	267	1060	1476	2803
		V	49,7	311	1397	2958	302	1356	2371	4031	1,14	1,24	1,54	1,39	265	1098	1546	2909
A	F	E	35,5	232	1131	2544	288	1115	2125	3528	1,46	1,22	1,52	1,40	198	914	1398	2509
		V	37,0	224	1146	2598	289	1169	2180	3640	1,51	1,28	1,47	1,40	192	917	1485	2594
	I	E	47,7	306	1350	2766	313	1272	2153	3739	1,22	1,22	1,50	1,37	259	1044	1437	2740
		V	48,1	294	1396	3011	329	1278	2354	3964	1,27	1,16	1,47	1,34	259	1101	1604	2963
Típus		K	42,6 ^a	230,2	1240,8	2655,7	300,7 ^b	1193,9	2139,3	3633,9	1,33	1,22 ^b	1,51 ^b	1,38 ^b	228,5	978,6	1417,4	2624,6
		A	42,1 ^b	228,1	1271,7	2805,1	309,6 ^a	1224,1	2267,4	3801,2	1,39	1,21 ^a	1,47 ^a	1,36 ^a	225,4	1009,1	1544,1	2778,8
Szülőpár		F	36,4 ^b	229,1 ^b	1131,6 ^b	2547,7 ^b	288,0 ^b	1145,4	2155,1 ^b	3588,6 ^b	1,48 ^b	1,26	1,52	1,42 ^b	194,7 ^b	907,1 ^b	1417,6 ^b	2519,4 ^b
		I	48,3 ^a	306,6 ^a	1379,9 ^a	2896,7 ^a	309,8 ^a	1319,0	2297,9 ^a	3926,8 ^a	1,18 ^a	1,22	1,51	1,37 ^a	262,4 ^a	1075,7 ^a	1515,5 ^a	2853,6 ^a
Kelésidő		E	41,8 ^b	270,2	1237,7	2661,2 ^b	294,9	1229,1	2197,5	3721,6	1,31	1,26	1,54	1,41 ^b	228,8	973,7 ^b	1422,1 ^b	2624,7 ^b
		V	42,9 ^a	265,5	1273,8	2783,2 ^a	302,9	1235,3	2255,4	3793,7	1,35	1,22	1,49	1,38 ^a	228,3	1009,0 ^a	1511,0 ^a	2748,4 ^a
Átlag szórása			1,254	8,546	27,449	42,587	3,488	24,079	30,024	51,528	0,036	0,015	0,015	0,012	7,417	19,335	17,933	41,021
<i>p-érték</i>																		
Típus			0,018	0,309	0,958	0, 674	0,010	0,191	0,397	0,323	0,107	0,057	0,046	0,022	0,555	0,757	0,236	0,428
Szülőpár			0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,172	0,870	0,017	0,000	0,000	0,001	0,000	
Kelésidő			0, 000	0,458	0,078	0,006	0,078	0,857	0,292	0,374	0,357	0,168	0,080	0,056	0,925	0,044	0,001	0,004
Típus x Szülőpár			0,252	0,395	0,484	0,420	0,029	0,251	0,440	0,373	0,134	0,423	0,776	0,753	0,474	0,473	0,431	0,370
Típus x Kelésidő			0,337	0,420	0,789	0,484	0,842	0,490	0,204	0,245	0,582	0,214	0,683	0,249	0,641	0,772	0,121	0,425
Szülőpár x Kelésidő			0,773	0,681	0,947	0,175	0,315	0,789	0,192	0,405	0,738	0,420	0,456	0,678	0,980	0,468	0,226	0,289
Típus x Szülőpár x Kelésidő			0,008	0,956	0,389	0,299	0,491	0,660	0,993	0,883	0,783	0,160	0,679	0,268	0,572	0,371	0,659	0,459

Az ^{a,b} jelzések az átlagok közötti szignifikáns különbséget jelölik (p<0,05).

6. Összefoglalás

A brojler szülőpár telepeken a technológia és menedzsment függvényében jelentős veszteséget okozhat az alomtojások aránya. A devecseri Gallus Kft-vel együttműködve azt vizsgáltuk, hogy az alomban különböző időt töltő alomtojások esetében hogyan alakul a tojások külsejének és belsejének mikrobiológiai állapota, a tojások keltethetősége és a kikelt csibék termelési eredménye. A vizsgálatokat különböző korú szülőpár állományokkal is elvégeztük, mivel a tojáshéj permeabilitásának változása az idősebb állományoknál befolyásolhatja a tojásba kerülő baktériumok mennyiségét. Szülőpár állományonként 730 tojást gyűjtöttünk, amelyek között 3, 6 és 16 órás alomtojások, továbbá közvetlenül a tojófészekből származó kontroll tojások voltak. Részletesen vizsgáltuk a keltetési paramétereket, a tojás héjának, belső hártájának és a fehérje-sárgája homogenizátumnak a mikrobióta összetételét, a héj csíraszámát és az *Enterobacteriaceae* családhoz tartozó baktériumok számát. A kelést követően a kontroll és a 16 órás alomtojásokból kikelt csirkék termelési paramétereit is meghatároztuk. A hizlalási kísérletnél külön vizsgáltuk a keltetőben „korán” és „későn” kelt csirkék teljesítményét.

Az alomtojások között csupán a 16 órás alomtojások keltehetősége csökkent szignifikánsan a kontroll tojásokhoz képest. Ez az eredmény megegyezik az irodalmi adatokkal, mint ahogyan az az eredményünk is, miszerint a fiatalabb szülőpár állomány tojásainak keltehetősége szignifikánsan magasabb, mint az idősebb állományé. Szintén csupán a 16 órás kezelés eredményezett szignifikánsan nagyobb csíraszámot a tojás felszínén. A tojás különböző részei közül a héj mutatta a legnagyobb mikrobiális diverzitást. A baktériumcsoportok közötti különbség a héj és a tojás belseje között volt a legnagyobb. Kisebb mértékű eltérések voltak a két szülőpár állomány tojásai között, de az alom és kontroll tojások baktérium populációja gyakorlatilag teljes egyezést mutatott. A különböző rendszertani kategóriákat értékelve csupán törzs szinten kaptunk szignifikáns különbségeket a tojáskezelések és szülőpárállományok tojásai között. A különbségek a *Firmicutes*, a *Bacteroidetes*, az *Actinobacteria* és a *Proteobacteria* törzsek esetében egyaránt szignifikánsak voltak. Az alacsonyabb rendszertani kategóriák esetében, osztály és család szinten nem voltak szignifikáns kezeléshatások. A termelési eredmények között a szülőpár hatás volt a legmarkánsabb. Az idősebb állománytól származó naposcsibék élősúlya szignifikánsan nagyobb volt és ezt az előnyüket megtartották a termelés teljes időszakában. Az alomtojásból származó csirkék termelési eredményei nem voltak rosszabbak, mint a kontroll csirkéké, sőt fajlagos takarmányfelhasználásban jobb eredményt értek el. A „későn” kelt csirkék napos súlya úgyszintén nagyobb volt, mint a „korán”

kelt állatoké és súlygyarapodás és fajlagos takarmányértékesítés terén egyaránt kedvezőbb eredményeket értek el.

Összefoglalóan elmondható, hogy az alomtojások felhasználása csupán a keltehetőséget befolyásolja szignifikánsan, a tojás alomban töltött idejének függvényében. A tojás héján megtelepedő baktériumok száma folyamatosan növekszik az alomban töltött idővel párhuzamosan. Az alomhatás törzs szinten a héj bakterióta összetételét is befolyásolja, de ezek a változások nem jelentkeznek a tojás belsejében. Ez arra utal, hogy a keltehetőség csökkenését nem elsősorban a tojásba nagyobb számban bejutó káros baktériumok okozzák.

7. Irodalomjegyzék

1. **Aviagen** (2018): Ross Broiler Management Handbook. Huntsville, USA.
2. **Aviagen** (2019): Ross 308 Nutrition specifications, Newbridge, Midlothian, Scotland, UK
3. **Backhed, F.; Ley, R.E.; Sonnenburg, J.L.; Peterson, D.A.; Gordon, J.I.** (2005): Host-bacterial mutualism in the human intestine. Science. ;307(5717): pp. 1915–1920
4. **Ballou, A.L.; Ali, R.A.; Mendoza, M.A.; Ellis, J.C.; Hassan, H.M.; Croom, W.J. et al.** (2016): Development of the Chick microbiome: how early exposure influences future microbial diversity. Front Vet Sci. 3:2.
5. **Barnett, D.M.; Kampula, B.L.; Petryk, R.L.; Robinson, N.A.; Renema, R.A.; Robinson, F.E.** (2004): Hatchability and early chick growth potential of broiler breeder eggs with hairline cracks, J. Appl. Poult. Res., (13): pp. 65-70
6. **Benk, Á.** (2019): Baromfitenyésztés jegyzet, Tenyészállományok felnevelése és tojóházi tartása.
7. **Berrang, M.E.; Cox, N.A.; Frank, J.F.; Buhr, R.J.** (1999): Bacterial penetration of the eggshell and shell membranes of the chicken hatching egg: a review J. Appl. Poult. Res., (8): pp. 499-504
8. **Bolyen, E.; Rideout, J.R.; Dillon, M.R. et al.** (2019) ‘Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2’, Nature Biotechnol. 37(8): pp. 852–857.
9. **Braden, C.R.** (2006): Salmonella enterica serotype Enteritidis and eggs: A national epidemic in the United States. Clinical Infectious Diseases, 43.4.: pp. 512-517.
10. **Campbell, A.G.; Schwientek, P.; Vishnivetskaya, T.; Woyke, T.; Levy, S.; Beall, C.J.; Griffen, A.; Leys, E.; Podar, M.** (2014): Diversity and genomic insights into the uncultured Chloroflexi from the human microbiota. Environ Microbiol. (9): pp.2635-43.
11. **Chong, J.; Liu, P.; Zhou, G.; Xia, J.** (2020): Using MicrobiomeAnalyst for comprehensive statistical - functional - and meta-analysis of microbiome data. Nat, Protoc., (15): pp. 799–821.
12. **Clavijo, V.; Flórez** (2018): MJV. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: a review. Poult Sci. 97(3): pp. 1006–21

13. **Cook, M.I.; Beissinger, S.R.; Toranzos, G.A.; Arendt, W.J.** (2005): Incubation reduces microbial growth on eggshells and the opportunity for trans-shell infection. *Ecol. Lett.* 85: pp. 532–537.
14. **Cook, M.I.; Beissinger, S.R.; Toranzos, G.A.; Rodriguez, R.A.; Arendt, W.J.** (2005): Microbial infection affects egg viability and incubation behavior in a tropical passerine. *Behav. Ecol.* 16: pp. 30–36.
15. **Damaziak, K.; Paweska, M.; Gozdowski, D.; Niemiec, J.** (2018): Short periods of incubation, egg turning during storage and broiler breeder hens age for early development of embryos, hatching results, chicks quality and juvenile growth, *Poultry Science* 97: pp. 3264–3276
16. **De Reu, K.; Rodenburg, T.B.; Grijspeerdt, K.; Messens, W.; Heyndrickx, M.; Tuytens, F.A.M.; Sonck, B.; Zoons, J.; Herman, L.** (2009): Bacteriological contamination, dirt, and cracks of eggshells in furnished cages and noncage systems for laying hens: an international on-farm comparison *Poult. Sci.*, 88: pp. 2442-2448
17. **Deák, T.** (2006): *Élelmiszer mikrobiológia*, Budapest, Mezőgazda Kiadó
18. **Deeming, D.C.; Clyburn, V.; Williams, K.; Dixon, R. A.** (2002): In ovo microbial contamination of the yolk sac of unhatched broiler and pheasant embryos. *Avian Poult. Biol. Rev.* 13: pp. 240–241.
19. **Dhariwal, A.; Chong, J.; Habib, S.; King, I.L.; Agellon, L.B.; Xia, J.** (2017): ‘MicrobiomeAnalyst: a web-based tool for comprehensive statistical, visual and meta-analysis of microbiome data’, *Nucleic Acids Research*, 45(W1):W180-W188.
20. **Ding, P.; Liu, H.; Tong, Y.; He, X.; Yin, X.; Yin, Y.; Zhang, H.; Song, Z.** (2021): Developmental Change of Yolk Microbiota and Its Role on Early Colonization of Intestinal Microbiota in Chicken Embryo. *Animals*, 12(1), p. 16.
21. **Dymond, J.; Vinyard, B.; Nicholson, A. D.; French, N. A., Bakst, M. R.** (2013): Short periods of incubation during egg storage increase hatchability and chick quality in long-stored broiler eggs, *Poultry Science* 92: pp. 2977–2987
22. **Fasenko, G.M.; Robinson, F. E.; Whelan, A.I.; Kremenjuk, K.M.; Walker J.A.** (2001): Prestorage Incubation of Long-Term Stored Broiler Breeder Eggs: 1. Effects on Hatchability *Poultry Science* 80: p. 1406
23. **Fasenko, G. M.; Robinson, F. E.; Hittinger, M. G.; MacLean, M. A.; White, B. A.** (2000): Evaluating the hatchability of broiler chicks from washed and unwashed nest and floor eggs. In *Poultry Science Association 89th Annual Meeting Abstracts*, pp. 18-20.

24. **Horn, P.; Bogenfürst, F.; Sütő, Z.; Gaál, K.; Kovács, G.; Áprily, Sz.; Bangó, L.; Kállay, B.; Bábolna Agrária Kft.,** (2011): Baromfitenyésztés: „E-tananyag”
25. **Internet1:** <https://www.poultryworld.net/home/vital-chicks-from-properly-stored-eggs/> (2022. 10. 19.)
26. **Internet2:** <https://www.thepoultrysite.com/news/2011/11/inovo-vaccination-benefits-for-small-hatcheries> (2022. 10. 19.)
27. **Klindworth, A.; Pruesse, E.; Schweer, T.; Peplies, J.; Quast, C.; Horn, M.; Glöckner, F.O.** (2013): ‘Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies’, Nucleic Acids Research, 41(1).
28. **Moeller, A.H.; Suzuki, T.A.; Phifer-Rixey, M.; Nachman, M.W.** (2018): Transmission modes of the mammalian gut microbiota. Science. ;362(6413): pp. 453–457.
29. **Németh, Cs.** (2012): Tojáslevek kis hőmérsékletű hőkezelése. Doktori értekezés. Budapest, Corvinus Egyetem Élelmiszertudományi Kar.
30. **Quast, C.; Pruesse, E.; Yilmaz, P.; Gerken, J.; Schweer, T.; Yarza, P.; Peplies, J.; Glöckner, F.O.** (2013): ‘The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools’, Nucleic Acids Research. 41(D1), pp. D590–D596.
31. **Saha, O.; Rakhi, N.N.; Istiaq, A.; Islam, I.; Sultana, M.; Anwar Hossain, M.; Rahaman, M.** (2020): Evaluation of Commercial Disinfectants against Staphylococcus lentus and Micrococcus spp. of Poultry Origin. Vet. Med. Int. 8811540, p. 10.
32. **Sheppard, K.C.; Duncan, I.J.H.** (2011): Feeding motivation on the incidence of floor eggs and extraneously calcified eggs laid by broiler breeder hens Br. Poult. Sci., 52, pp. 20-29
33. **Speirs, L.B.M.; Rice, D.T.F.; Petrovski, S.; Seviour, R.J.** (2019): The Phylogeny, Biodiversity, and Ecology of the Chloroflexi in Activated Sludge. Front. Microbiol. 10: p. 2015.
34. **Stanley, D.; Geier, M.S.; Hughes, R.J.; Denman, S.E.; Moore, R.J.** (2013): Highly variable microbiota development in the chicken gastrointestinal tract. PLoS One.;8(12): 84290.
35. **Turnbaugh, P.J.; Ley, R.E.; Hamady, M.; Fraser-Liggett, C.M.; Knight, R.; Gordon, J.I.** (2007): The human microbiome project, Nature., 449, pp. 804-810
36. **Uni, Z.; Ferket, R.P.** (2004) Methods for early nutrition and their potential. World’s Poultry Science Journal. 60. pp. 101-111.

37. **Van den Brand, H.; Sosef, M.P.; Luorens, A.; Harn, J. van** (2016): Effects of floor eggs on hatchability and later life performance in broiler chickens, *Poult. Sci.*, 95, pp. 1025-1032
38. **Vasdal, G.; Granquist, E.G.; Skjerve, E.; de Jong, I.C.; Berg, C.; Michel, V. et al.** (2019): Associations between carcass weight uniformity and production measures on farm and at slaughter in commercial broiler flocks. *Poult Sci.*;98(10): pp. 4261-4268
39. **Vekić, M.; Gvozdenović, M.; Perić, L.; Savić, Đ.; Jotanović, S.; Mitraković, M.** (2021): Influence of floor egg shell cleanliness and cleaning treatment on hatchability and chick quality *Biotechnol. Anim. Husb.*, 37, pp. 99-107
40. **Willemsen, H.; Debonne, M.; Wwennen, Q.; Everaert, N.; Careghi, C.; Han, H.; Bruggeman, V.; Tona, K.; Decuyperi, E.** (2010): Delay in feed access and spread of hatch importance of early nutrition. *World's Poultry Science Journal*. 66. pp. 177-188.
41. **Yang, W.; Guo, M.; Liu, G.; Yu, G.; Wang, P.; Wang, H.; Chai, T.** (2018): Detection and analysis of fine particulate matter and microbial aerosol in chicken houses in Shandong Province, China. *Poult. Sci.*, 97.3. pp. 995-1005.
42. **Yassin, H.; Velthuis, A.G.J.; Boerjan, M.; Riel, J. van; Huirne, R.B.M.** (2008): Field Study on Broiler Eggs Hatchability *Poultry Science* 87, p. 2412

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani mindennek előtt a témavezetőmnek, Dr. Dublecz Károlynak, aki szakmai tudásával, észrevételeivel, tanácsaival és munkájával segítette dolgozatom elkészülését, továbbá Such Nikoletta Amandának, aki fáradhatatlanul támogatott és segített a dolgozat elkészítése során.

Szeretném megköszönni Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Georgikon Campus valamennyi oktatójának és munkatársának, aki hozzájárult a dolgozatom elkészüléséhez.

Szeretném hálámat kifejezni a Gallus Kft. ügyvezető igazgatóinak, Szabó Ákosnak és Szabó Péternek, akik lehetővé tették a kutatás elvégzését, a cég munkatársainak: Balogh Csabának, Humpók Kornélnak, Dr. Tóth Máriának, Kovács Dánielnek, Nagy Szabolcsnak, Gergőcsné Vánik Juditnak és Rendes Zsoltnak, akik szakmai tudásukkal önzetlenül segítettek a kutatás és a vizsgálatok sikeres elvégzésében.

Nem utolsó sorban köszönetem fejezem ki családomnak és Tóth Boglárkának, a céljaim eléréséhez nyújtott támogatásukért és biztatásukért.



„A Kulturális és Innovációs Minisztérium ÚNKP-22-I kódszámú Új Nemzeti Kiválóság Programjának a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Alapból finanszírozott szakmai támogatásával készült.”