

Maidon lysotsyymiaktiivisuudesta ja
utaretulehduksesta Viikin karjassa

Tapani Hellman
Kotieläinten jalostustieteen laitos

Julkaisijat:

Kotieläinten jalostustieteen laitos, Helsingin Yliopisto, Viikki
Kotieläinjalostuslaitos, Maatalouden Tutkimuskeskus, Tikkurila

MAIDON LYSOTSYYMIAKTIIVISUUDESTA JA

UTARETULEHDUKSESTA VIKIN KARJASSA

Tapani Hellman
pro gradu-työ
1975

SISÄLTÖ:

	sivu
1. Johdanto	1
2. Kirjallisuus	2
2.1. Utaretulehdus	2
2.1.1. Esiintyminen ja taloudellinen merkitys	2
2.1.2. Aiheuttajat	3
2.1.3. Utaretulehdusalttius ja -kestävyys	5
2.1.4. Periytyminen	9
2.2. Lysotsyymi	16
2.2.1. Lysotsyymi, sen esiintyminen ja vaikutus	16
2.2.2. Lehmänmaidon lysotsyymiaktiivisuus	17
2.2.3. Muita lysotsyymitutkimuksia	21
2.2.4. Entsyymiaktiivisuuden periytyminen	23
3. Oma tutkimus	24
3.1. Aineisto	24
3.2. Lysotsyymiaktiivisuuden mittaaminen	25
3.3. Aineiston tilastollinen käsittely ja kaavat	29
3.4. Tulokset	35
3.4.1. Lysotsyymisisältö keskimäärin	35
3.4.2. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu	40
3.4.2.1. Lehmien välillä	40
3.4.2.2. Utareiltaan terveiden ja sairaiden lehmien välillä	45
3.4.2.3. Ikäryhmien välillä	52
3.4.2.4. Laktaatiovaiheiden välillä	55
3.4.2.5. Tuotostasojen välillä	58
3.4.3. Lysotsyymiaktiivisuuden periytyminen	62
3.4.3.1. Isien välisen muuntelun perusteella arvioituna	62
3.4.3.2. Emä-tytärpareittain tarkasteltuna	65

4. Tulosten tarkastelu	67
5. Yhteenveto	71
6. Kirjallisuusluettelo	73
7. Liitteet	78

1. JOHDANTO

Jalostettaessa lehmiä maidontuotantoon on aina pyritty ensisijaisesti parantamaan maitotuotoksia. Maitotuotosten noustessa ja tuotannon rationalisoituessa vaaditaan lehmiltä yhä enemmän. Lehmät eivät kuitenkaan ole riittävästi sopeutuneet lisääntyvään rasitukseen. Tästä ovat osoituksena lisääntyvät puutos- ja rasitussairaudet. Maidontuotannossa kohdistuu voimakas rasitus juuri maitorauhaseen - utareeseen. Utaresairaudet ovatkin pyrkineet lisääntymään huolimatta jatkuvasta vastustustyöstä ja hygienisten olojen huomattavasta paranemisesta. Koska utaresairaudet aiheuttavat suuria tappioita karjanomistajille ja meijeriteollisuudelle, on tutkittu mitä erilaisempia keinoja utaretulehdusten hillitsemiseksi.

Tutkittaessa lehmällä luonnostaan olevia vasta-aineita on lehmänmaidossa havaittu myös lysotsyymiä - entsyymiä, joka tuhoaa voimakkaasti bakteereita. On myös esitetty käsityksiä, että maidon lysotsyymillä olisi ennaltaehkäisevä vaikutus utaretulehduksiin ja että maidon suuri lysotsyymiaktiivisuus olisi viite utaretulehdusresistenssistä.

Tämä tutkimus pyrkii selvittämään maidon lysotsyymimäärään vaikuttavia tekijöitä sekä varsinkin lysotsyymien ja utaretulehduksen välistä yhteyttä. Lisäksi pyritään arvioimaan lysotsyymiaktiivisuuden periytyvyyttä.

2. KIRJALLISUUS

2. 1. Utaretulehdus

2. 1. 1. Utaretulehduksen esiintyminen ja taloudellinen merkitys

Utaretulehdus on yleensä bakteereiden tai muiden mikrobin aikaansaama muutos maitorauhasessa. maitorauhasen tulehtuminen aiheuttaa muutoksia sekä kudoksissa että maidossa. Utaretulehdus on kaikkialla maailmassa vakavin lypsykarjan infektiosairaus. Esimerkiksi Yhdysvalloissa arvioidaan utaresairauksien aiheuttavan noin 10 % menetyksen maidontuotannossa (SCHMIDT ym. 1964). The National Mastitis Council'n arvion mukaan tappio on 100 dollaria/lehmä (PHILPOT 1975) ja se jakautuu seuraavasti:

- 14 % eläimen kuolema tai poisto
- 8 % hylätty maito
- 8 % eläinlääkintäkulut
- 70 % alentunut tuotanto.

Suomessa on nautaeläinten utaretulehduksen vastustamistoimikunta (ANON 1966) arvioinut utaretulehduksen aiheuttavan 25 - 30 miljoonan markan tappiot vuodessa. Suomessa on vuodenvaihteessa 1974 - 75 tehty Maitohygienialiiton toimeksiannosta tutkimus (ANON 1975 a) utaretulehduksen yleisyydestä. Tutkimus käsitti 4349 lehmää (641 ummessa) ja lypsyssä olevista lehmistä todettiin 34,8 % utareiltaan sairiksi. Jos ajatellaan , että kolmasosalla lehmistä olisi utaretulehduksen takia 10 prosentilla heikentynyt tuotanto, se merkitsisi vuoden 1974 tuotannosta noin 100 miljoonaa litraa. Maidon keskihinnan 1974 mukaan arvioituna

olisi kysymys noin 80 miljoonan markan tappiosta (ANON 1975 b : tuotos- ja hintatiedot). Yhteensä tappio olisi noin 115 miljoonaa markkaa, jos huomioidaan myös muu kuin tuotannon alenemisesta johtuva tappio. Tämän arvion mukaan menetykset olisivat noin 4,7 % maidontuotannon kokonaisarvosta. Lehmäkohtaisesti arvioituna menetys olisi 420 markkaa tulehnutta lehmää kohti.

Jotta utaretulehduksen aiheuttamia tappioita voitaisiin vähentää, on tehty paljon työtä tulehduksen aiheuttavien tekijöiden selvittämiseksi. Huolimatta hygienian ja eläinlääkinnän suuresta edistymisestä ei utaretulehduksista ole pystytty voittamaan. Siksi on pyritty selvittämään perinnöllisiä eroja utaretulehdusalttiudessa (-kestävyydessä), jotta pystyttäisiin jalostuksen avulla luomaan vastustuskykyisempi lehmäainek.

2. 1. 2. Utaretulehduksen aiheuttajat

Utaretulehdus aiheutuu yleensä jonkin bakteerin ärsyttäessä utarekudosta. Myös muut pieneliöt saattavat aiheuttaa tulehduksia, ja saattaa esiintyä myös ns. aseptista tulehduksia, minkä aiheuttaa jokin muu tekijä kuin mikrobi. Utaretulehdus voi olla akuutti tai krooninen riippuen aiheuttajasta. Yleensä utaretulehdus ei ole tarttuvaa, mutta on olemassa myös tarttuvia taudinaiheuttajia, jotka saattavat saastuttaa koko karjan. VUORISEN (1963) mukaan tavallisimmin utaretulehduksen aiheuttavat streptokokki-, staphylokokki-, koli-, pyogenes- tai pseudomonasbakteerit. Taulukossa 1 esitetään yleisimmät taudinaiheuttajat, tulehdusmuoto, esiintyminen ja seuraukset. CRAPLET (1963) esittää seuraavan jakautuman utaretulehduksen aiheuttajista:

Streptococcus agalactiae 35 %

Taulukko 1: Utaretulehduksia tavallisimmin aiheuttavat bakteerilajit, tautitilan luonne ja tulehduksen seuraamukset (VUORINEN 1963).

Bakteerilaji	Tulehdusmuoto	Tulehdus es. tavallisesti	Tulehduksen seuraukset
Corynebacter. pyogenes	äkillinen	hiehoilla, umpilehmillä	sairaana nelj. menetys tav.
Staphylococcus aureus	äkillinen t. krooninen	lypsävillä lehmillä	pesäkkeitä, kovettumia, bakt. eritt.
Streptococcus agalactiae	krooninen	kaikilla	kovettumia, surkastumia, bakt. eritt.
Streptococcus dysgalactiae	äkillinen	lypsävillä lehmillä	pesäkkeitä
Streptococcus uberis	äkillinen	lypsävillä lehmillä	pesäkkeitä
Streptococcus zooepidermicus	äkillinen	lypsävillä lehmillä	kovettumia, pesäkkeitä
Pseudomonas aeruginosa	tav. äkillinen	lypsävillä lehmillä	kovettumia, pesäkkeitä, usein nelj. menetys
Bacterium coli	lähes poikk. äkillinen	runsaasti lypsävillä lehmillä	verenmyrkytys, nelj. menetys, liha-arvon menetys
Erilaiset sienet	äkillinen, joskus hit. kehittyvä	lypsävillä lehmillä	muutokset vaihtelevia
Bakteerittomat (aseptiset) tulehdukset	tav. äkillinen	lypsävillä lehmillä	kovettumat mahdollisia

Streptococcus uberis	10 %
muut streptokokit	4 %
Staphylokokit	35 %
muut (corynebacteria, koli)	16 %

Hän olettaa kuitenkin jakautuman muuttuvan siten, että staphylokokkien osuus taudinaiheuttajana lisääntyy ja streptokokkien (str. agalactiae) aiheuttamat tulehdukset vähenevät, koska niitä pystytään tehokkaasti hoitamaan antibiooteilla.

2. 1. 3. Utaretulehdusalttius ja -kestävyys

Utaretulehduksen syntyyn vaikuttavat hyvin monet tekijät sekä ympäristössä että eläimissä itsessään. Ympäristössä vaikuttavat tekijät ovat ennenkaikkea hoidon, ruokinnan ja lypsyn puutteellinen hygienia. Jos navetaympäristö on epäsiisti, kostea ja vetoinen, luodaan hyvät edellytykset taudinaiheuttajien kasvulle ja leviämiselle eläimestä toiseen. Esimerkiksi kuivikkeet voivat toimia tartunnan levittäjinä. RYNIEWICZ (1971) on havainnut merkitsevästi enemmän tartuntoja asemalla, jossa käytetään kuivikkeita. Myös huonot rehut voivat toimia tartunnan levittäjinä. On jopa havaittu, että rehuna käytetty hiiva on aiheuttanut tulehduksellisia muutoksia maidossa (LISITZIN 1962).

Merkittävin tulehdusten leviämiseen vaikuttava tekijä lienee itse lypsytoimitus. Tulehdus leviää helposti utareliinojen ja lypsykoneen välityksellä. Siksi tulisi käyttää yksilöllisiä utareliinoja ja pyrkiä lypsämään tulehduslehmät erikseen esim. lypsyn lopussa. Lypsykoneen puhtaus ja oikea lypsytapa ovat erittäin tärkeitä. Jos lypsetään tyhjää utareta tai jos lypsykoneessa on virheellinen tykytysnopeus tai paine, aiheutetaan utareelle ylimääräistä rasitusta ja saadaan se alttiimmaksi tulehduksille.

Ympäristön vaikutuksen lisäksi on lehmissä erilaisia rakenteellisia seikkoja, jotka vaikuttavat niiden utaretulehdusalttiuteen. Tällaisia seikkoja ovat ennen kaikkea utareen ja nännien muoto ja rakenne. YOUNG ym. (1960) ovat saaneet utareen syvyyden ja erilaisten utaretulehduskriteerien välille korrelaation $-0,28 - -0,48$ ($-0,11 - -0,15$ iällä korjattuna), mikä osoittaa riippuvan utareen olevan epäedullinen. Huononmuotoinen, riippuva utare on altis erilaisille tapaturmille, ja aiheuttaa välillisesti utaretulehdusalttiutta. Esimerkiksi piikkilankojen aiheuttamista haavoista ja polkemaruhjeista pääsevät taudinaihuttajat helposti utareeseen.

Nännien rakenteesta on esitetty erilaisia mielipiteitä utaretulehdusalttiuden yhteydessä. On väitetty, että nännin sulkijalihaksen toiminnalla ja nänninaukon koolla on merkitystä mikrobien pääsyssä utareeseen siten, että väljään nännikanavaan mikrobeilla on helpompi pääsy ja että pitäisi suosia "tiukempia" lehmiä. MURPHY ja STUART (1955) ovat kuitenkin tulleet siihen tulokseen, ettei näillä seikoilla (ns. patency'lla) ole yhteyttä utaretulehdusalttiuteen. Nännin rakenteesta riippuvat toisaalta hyvin suuresti lypsettävyyssominaisuudet. Yleensä runsasmaitoisella ja nopealypsyisellä lehmällä on väljempi nännikanava. Tästä voisi päätellä, että nopealypsyinen lehmä olisi herkempi tulehduksille. DODD ja NEAVE (1951) ovatkin havainneet utaretulehduksen (kliininen) lisääntyvän, kun lypsynopeus (korkein minuuttimaito, KMM) lisääntyy (taulukko 2). Myöhemmin ei tätä ole kuitenkaan pidetty kovin tärkeänä utaretulehdusalttiutta lisäävänä tekijänä. Mm. POLITIEK (1968) on lypsettävyyssominaisuuksia tutkiessaan todennut, ettei korkeimman minuuttimaidon kohtuullinen lisääntyminen lisää utaretulehdusten määrää. Vaikka mikrobeilla olisikin vaikeampi pääsy tiukkaan nänniin, joutuu

tiukka utare paljon suurempaan rasitukseen lypsettäessä, minkä saatetaan olettaa kumoavan mahdollisen hyödyn.

Taulukko 2: Lypsynopeuden (KMM) vaikutus utaretulehdusten esiintymiseen. Lehmillä ensimmäinen laktaatio, viides viikko. (DODD & NEAVE 1951)

KMM kg	Lehmiä kpl	Infekt. lehmiä %	Kliininen ut. %
1,09	20	10,0	5,0
1,60	15	40,0	20,0
2,03	26	46,2	19,2
2,50	24	41,7	41,7
3,06	9	44,4	44,4

Utaretulehdusalttiuden on myös epäilty olevan suurempi runsastuottoisilla eläimillä. Tutkimuksissa ei kuitenkaan ole todettu korrelaatiota tulehdusten ja tuotoksen välillä (LEGATES & GRINNELS 1952, WARD 1945).

Eräs seikka, minkä on kiistattomasti todettu vaikuttavan utaretulehdusalttiuteen, on eläimen ikä. KOSSILAN ym. (1967) tutkimuksessa näkyy selvästi tulehdusten lisääntyminen vanhemmilla eläimillä (taulukko 3). Tutkimuksessa on maitonäytteet jaettu neljään ryhmään poikimakertojen mukaan, ja ensikko-lehmien ryhmässä on näytteistä selvästi pienempi osuus CMT-positiivisia.

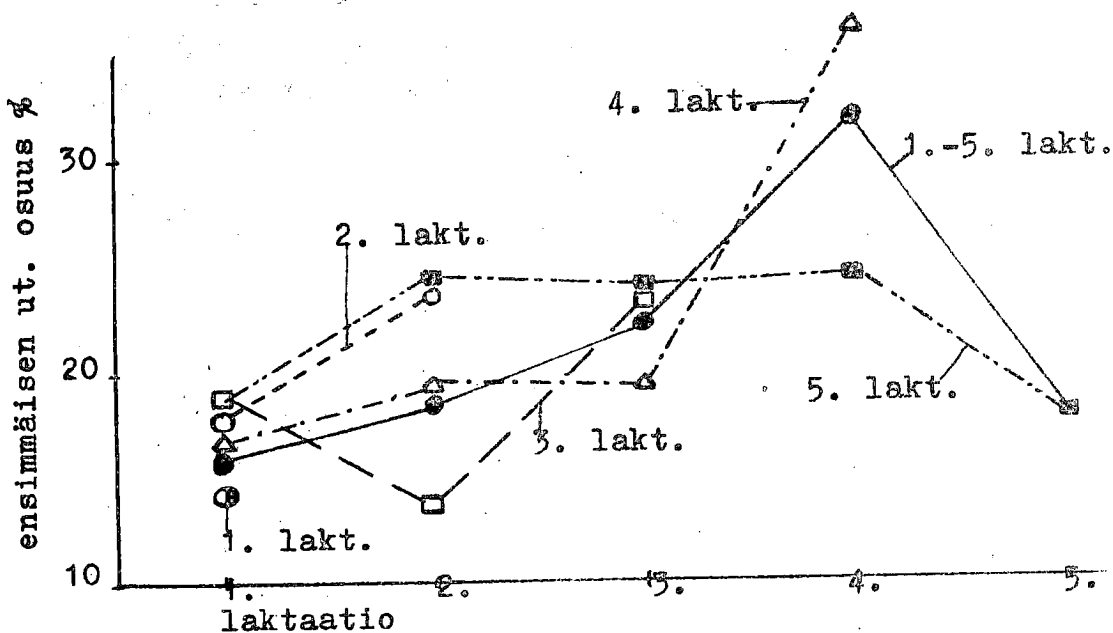
Taulukko 3: Poikimakertojen lukumäärän vaikutus maidon CMT-reaktioon (KOSSILA ym. 1967).

Poikimakertoja	Näytteitä	Posit. CMT-reaktioiden osuus %
1	113	16,8
2	61	36,1
3	43	39,5
4 ja yli	92	42,4

Utaretulehdus on kuitenkin toistuvaa (RENDEL & SUNDBERG, 1962, taulukko 4), joten iän vaikutusta ei nähdä selvästi verrattaessa ainoastaan tulehdusmääriä eri ikäluokissa. Mutta jos tutkitaan eri ikäisten, aikaisemmin terveiden eläinten sairastuvuutta utaretulehdukseen, huomataan vanhemmilla eläimillä suurempi sairastuvuus (RENDEL & SUNDBERG, 1962, kuva 1).

Taulukko 4: Mastitiuksen toistuvuus peräkkäisinä laktaatiokausina tulehduslehmillä (RENDEL & SUNDBERG, 1962).

	Laktaatiokausi			
	1→2	2→3	3→4	4→5
toistuvuus	33,6 ^{xxx}	32,1 ^{xxx}	41,0 ^{xxx}	44,2 ^{xxx}



Kuva 1: Iän vaikutus uusien mastitistapausten esiintymiseen aikaisemmin terveillä lehmillä. Tulokset erikseen 1, 2, 3, 4 ja 5 laktaatiokauden lehmiltä sekä kaikilta laktaatiokausilta yhteensä (RENDEL & SUNDBERG, 1962).

RENDELIN ja SUNDBERGIN mukaan siis ensi kertaa utaretulehdukseen sairastuvien lehmien osuus nousee myöhempinä laktaatiokausina. Iän ja utaretulehduksen välistä yhteyttä osoittaa myös SMITHIN ja VAN VLECKIN (1965) saamat korrelaatiot 0,26 - 0,39 iän ja infektoituneiden neljännesten välille. He ovat siis mitanneet utaretulehduksen esiintymistä tulehtuneiden neljännesten lukumäärällä, ja se näyttää lisääntyvän iän mukana. LISITZIN (1962) on esittänyt käsityksen, että iästä johtuva utaretulehdusalttiuden lisääntyminen voisi johtua vasta-ainemäärien vähenemisestä vanhemmilla eläimillä.

Paitsi eläinten rakenteelliset seikat, ikä tai niiden ulkoinen ympäristö, vaikuttanee niiden sairauden vastustuskykyyn tai alttiuteen myös niiden sisäinen rakenne. On luultavaa, että eläinten torjuntamekanismien toiminnassa on suuria yksilöllisiä eroja niinkuin eläinten välillä on muissakin paremmin havaittavissa ominaisuuksissa.

2. 1. 4. Utaretulehduksen periytyminen

Utaretulehdusta on pidetty suurelta osalta hygienisistä ja lääkinnöllisistä puutteista johtuvana vit-sauksena. Mutta huolimatta tehokkaiden antibioottien käytöstä ja hygienisten olojen huomattavasta paranemisesta, utaretulehdus ei olekaan vähentynyt, vaan päinvastoin se on pyrkinyt lisääntymään. Tästä syystä tutkijoita on alkanut yhä enemmän kiinnostaa utaretulehdukseen vaikuttavien tekijöiden periytyvyys, ja mahdollisuudet jalostusmenetelmiä hyväksikäyttäen estää utaretulehdusten lisääntyminen ja luoda kestävämpää karja-ainesta.

Jos tarkastellaan lehmän rakenteellisia, utaretulehdukseen vaikuttavia tekijöitä, voidaan todeta niiden

olevan melko voimakkaasti periytyviä kuten muoto-ominaisuudet yleensä ovatkin. JOHANSSON (1961) on tutkimuksissaan saanut seuraavia periytymisasteen arvioita muutamille utareen muotoa kuvaaville mittoille:

	h^2	$\pm h^2_{s_{\bar{x}}}$
nännin pituus	0,98	0,20
etu-taka-indeksi	0,76	0,12
etu- ja takanännien välinen etäisyys	0,50	0,22
utareen kaltevuus	0,42	0,20
nännikanavan halkaisija	0,38	0,22
nännien sijainti-indeksi	0,36	0,22
ylimääräiset nännit	0,23	0,14

Etu-taka-indeksi on muodostettu laskemalla etuneljänneksistä saadun maitomäärän prosentuaalinen osuus koko maitomäärästä. Nännien sijainti-indeksi on saatu laskemalla takanännien etäisyys prosentteina etunännien välisestä etäisyydestä.

O'BLENESS ym. (1960) ovat saaneet seuraavia arvioita utaremittojen periytyvyydestä:

	h^2	$\pm h^2_{s_{\bar{x}}}$
utareen rakenne	0,28	0,07
utareen kiinnittyminen takaa	0,30	0,07
utareen syvyys edestä	0,22	0,10
neljänneksiin jakautuminen	0,18	0,08

Jalostusvalinnassa huomioidaankin yleensä jossakin määrin utareen muoto, joten tällä valinnalla on vaikutusta myös utaretulehdukseen niiltä osin kuin se riippuu utareen muotoseikoista.

Varsinaisesti on kuitenkin ollut mielenkiinnon kohteena eläinten utaretulehdusresistenssi, toisin

sanoen se, onko eläinten välillä eroja taudinkestävydessä sekä ovatko nämä erot geneettisesti säädeltyjä.

Tutkijoiden havaittua, että utaretulehdusta näyttää esiintyvän runsaammin joissakin suvuissa tai joidenkin eläinten jälkeläisissä, alettiin tehdä kokeita, joissa verrattiin kestävien ja alttiiden lehmien jälkeläisten utaretulehdusalttiutta. Näissä kokeissa (WARD, 1945, LEGATES & GRINNELS, 1952) havaittiin, että olettamukset utaretulehdusalttiuden periytyvyydestä pitävät paikkansa (taulukko 5).

Taulukko 5: Utaretulehdusalttiiden tyttärien osuus alttiilla ja resistentteillä emillä (HUTT, 1958).

Tutkija	Karjoja kpl	Alttiit emät		Resist. emät	
		kpl	alttiit tyttäret %	kpl	alttiit tyttäret %
WARD, N. Z. Canterbury	20	86	89,5	109	56,0
WARD, N. Z. Manawatu	15	128	81,3	171	54,4
LEGATES & GRINNELS N-Carol. USA	11	144	53,0	82	35,0

Taulukossa 5 esitetyt aineistot perustuvat ainoastaan emien valintaan, mistä johtuen HUTT (1958) arvelee, että alttiiden ja resistenttien ryhmien väliset erot olisivat huomattavasti suuremmat, jos myös isät olisivat olleet valittuja utaretulehduksen suhteen.

Utaretulehduksen periytyvyyden selvittämiseksi on tehty lukuisia tutkimuksia eri puolilla maailmaa ja erilaisin kriteerein. Saadut periytymisasteen

arviot vaihtelevat melkoisesti, mutta se onkin luonnollista, koska tauti on eri tutkimuksissa määritetty eri perusteilla.

LUSH (1950) on saanut emä-tytärregressioksi 0,19 27 karjaa käsittävässä tutkimuksessa, ja suosittelee valintaa vakavasti sairastuneiden eläinten poistamiseksi ja utaretulehdusmäärien vähentämiseksi.

LEGATES ja GRINNELS (1952) ovat saaneet 11 karjaa ja 956 eläintä käsittävässä aineistossa emä-tytärregressioon perustuvan heritabiliteetti-arvion $0,27 \pm 0,10$. Tutkimuksen perusteella he suosittelevat käytettäväksi keinosiemennyksessä sellaisia sonneja, joiden emät ja sisaret ovat resistenttejä utaretulehdukselle.

O'BLENESS ym. (1960) ovat saaneet alhaisen heritabiliteetin $0,05 \pm 0,06$ aineistosta, joka perustuu karjanomistajien antamiin sairastietoihin. Myös MAIJALAN (1964) karjantarkkailutietoihin perustuva h^2 -arvio on lähes nolla.

YOUNGIN ym. (1960) 422 lehmää sisältävässä aineistossa heritabiliteetit vaihtelevat $0,06 - 0,38$ tulehduksen määrittämistavasta riippuen. Suurimmat heritabiliteetit on saatu maidon leukosyyttimäärille : $0,38 \pm 0,20$ emä-tytärregressiosta ja $0,23 \pm 0,22$ puolisisarkorrelaatiosta arvioituna.

GAUNYAN ja MATHERIN (1962) aineisto käsittää 1001 mastitistapausta neljässä karjassa. Utaretulehduskestävyyttä on mitattu kolmella eri tavalla seuraavasti: Y_1 = laktaatioikä, missä lehmä sairastui; Y_2 = laktaatioikä, jolloin havaittiin ensimmäinen positiivinen mastitistesti; Y_3 = resistentti tai altis, missä resistentiksi on luokiteltu kaksi laktaatiokautta ilman tulehdusta olleet lehmät. Eri

kriteereille saatiin emä-tytärregression perusteella seuraavat heritabiliteetit: Y_1 0,12; Y_2 0,01; Y_3 0,14.

RENDEL ja SUNDBERG (1962) ovat myös tulleet siihen tulokseen, että utaretulehdusalttiudessa on mukana geneettistä vaihtelua. He ovat laskeneet regressio-kertoimen 164 emä-tytärparin perusteella. Kahden ja kolmen laktaatiokauden perusteella he saivat regressioksi 0,09 - 0,20.

SCHMIDTIN ja Van VLECKIN (1965) aineisto käsittää 2865 lehmää. He ovat saaneet Streptococcus agalactiaen aiheuttaman utaretulehduksen periytymisasteeksi 0,20 ja muille infektioille 0,05 - 0,10. Heidän aineistossaan on isien välinen varianssi 3,5 % ja karjojen välinen 27,7 %. SCHMIDT ja Van VLECK korostavat sitä, että utaretulehdusta mitataan hyvin eri tavoin ja että siitä syystä h^2 -arviot vaihtelevat melkoisesti.

LEGOSIN (1966) on saanut utaretulehdusresistenssin heritabiliteetiksi 0,73 22 emä-tytärparin ja 0,54 65 puolisisaren perusteella.

AFIFI (1967) on saanut leukosyyttimäärän periytymisasteeksi puolisisarkorrelaation perusteella 0,37 ja 0,14 neljännessä ja ensimmäisessä laktaatiossa. Utaretulehduksen periytymisasteeksi hän on saanut 0,12. Edelleen hän on saanut suuren geneettisen vuorosuhteen, 0,83, leukosyyttimäärän ja utaretulehduksen esiintymisen välille. Tulokset perustuvat kahtena peräkkäisenä vuotena saatuihin aineistoihin, joissa oli 15 ja 20 isäryhmää ja 692 ja 799 eläintä vastaavasti.

PROBST ym. (1968) ovat tutkineet 19317 maitonäytettä 2161 lehmältä. Heidän tulostensa mukaan maidon solu-

luku vaihtelee suuresti eri roduilla ja soluluvussa on merkitseviä eroja eri isäryhmien välillä. He ovat laskeneet heritabiliteetin 0,22 alttiudelle maidon-erityshäiriöihin.

VELITOK (1971) on saanut heritabiliteetiksi utaretulehdusresistenssille 0,32 akuuttien ja 0,28 subkliinisten tapausten perusteella arvioituna.

RYNIEWICZ (1971) on saanut utaretulehdusalttiuden periytymisasteeksi 21 sonnin 300 tyttären perusteella 0,15. Varianssianalyysillä ei utaretulehdusfrekvenssin vaihtelu ole kuitenkaan täysin merkitsevää puolisisaryhmien välillä.

WILTON ym. (1972) eivät ole kovin vakuuttuneita utaretulehdusalttiuden geneettisyydestä. Heidän eri kriteereihin perustuvat h^2 -arvionsa ovat hyvin pieniä, mutta kaikkien kriteerien perusteella he kuitenkin arvioivat heritabiliteetin olevan noin 0,10.

Eri tutkijoiden saamat utaretulehduksen periytymisasteet ovat koottuna taulukossa 6. Käsitykset utaretulehduksen periytyvyydestä vaihtelevat suuresti. HOLLANDER (1969) on kirjallisuuteen perustuen tutkinut mahdollisuuksia suunnitelmallisen utaretulehdusresistenssitutkimuksen aikaansaamiseksi. Hän toteaa useiden tutkijoiden saaneen riittävän suuria periytymisasteen arvioita ($h^2 > 0,20$) utaretulehdusresistenssille, niin että suunnitelmallinen tutkimus utaretulehduksen rajoittamiseksi näyttää lupaavalta. Ennen tutkimusta pitää kuitenkin saada selville resistenssinormit, jotta pystytään tunnistamaan normaalia vastustuskykyisemmät eläimet.

Yleensä tutkijat korostavat jalostuksen, varsinkin keinosiemennyksen, mahdollisuuksia utaretulehduksen

Taulukko 6: Eri tutkijoiden saamia utaretulehduksen periytymisasteen arvioita

Tutkija	Menetelmä	$h^2 \pm h_{sx}^2$	Tulehduksen määrittäminen
LUSH 1950	emä-tytär	0,38 0,16	näkyvä muutos maidossa
LEGATES & GRINNELS 1952	- " -	0,27 0,10	yli 50000 leukos./ml, maidon bakteerisisältö
O'BLENESS ym. 1960	- " -	0,05 0,06	karjanomistajan antama tieto
YOUNG ym. 1960	- " -	0,06 0,18	klininen utaretulehdus
- " -	- " -	0,38 0,20	maidon leukosyyttimäärä
- " -	- " -	0,18 0,14	bakteeri-infektio
GAUNYA & MATHER 1962	puolisisar	0,23 0,22	maidon leukosyyttimäärä
RENDEL & SUNDBERG 1962	emä-tytär	0,13 0,06	- " - " - ja bakteerisisältö
MAIJALA 1964	puolisisar	0,20	bakteeri-infektio
SCHMIDT & Van VLECK 1965	- " -	0,00	tarkkailukirjanpito
- " -	- " -	0,196	Str. agalactiae
LEGOSIN 1966	emä-tytär	0,10	muut taudinaiheuttajat
- " -	puolisisar	0,73	-
AFIFI 1967	- " -	0,54	-
- " -	- " -	0,12 0,06	klininen utaretulehdus
PROBST ym. 1968	- " -	0,41	maidon leukosyyttimäärä
VELITOK 1971	- " -	0,22	CMT-arvo
- " -	- " -	0,32	akuutti utaretulehdus
RYNIEWICZ 1971	puolisisar	0,28	subklininen - " -
WILTON ym. 1972	-	0,15	-
		0,10	kaikki taudinaih.

torjunnassa. Toistaiseksi on jalostustyön hyväksikäytölle kuitenkin esteenä se, että resistenttejä eläimiä on vaikea saada selville. Myöskään nykyinen karjantarkkailu ei anna niin tarkkoja tietoja eläinten sairauksista, että niitä voitaisiin käyttää hyväksi jalostustyössä (MAIJALA, 1964). Vaikka laajamittainen jalostustyö ei olekaan mahdollista, on aina mahdollista ja perusteltua karsia eläimiä poistamalla altteimmat (sairaimmat) yksilöt tuotannosta.

2. 2. Lysotsyymi

2. 2. 1. Lysotsyymi, sen esiintyminen ja vaikutus

Vuonna 1922 havaitsi FLEMING kananmunanvalkuaisessa ja useissa biologisissa nesteissä bakteriolyyttisen aineen, joka hajotti tehokkaasti bakteereita. Hän havaitsi aineessa entsyymin ominaisuuksia ja antoi sille nimen lysotsyymi. Lysotsyymin systemaattinen nimi on mucopeptide N-acetyl-muramylhydrolase, ja sille suositellaan käytettäväksi nimiä mucopeptide glucohydrolase tai lysozyme. Tästä entsyymistä on käytetty myös nimeä muramidaasi, mutta sitä ei suositella.

JOLLES (1964) on määritellyt lysotsyymin seuraavasti: se on emäksinen, pienimolekyylinen valkuaisaine (molekyylipaino noin 15000), joka on happamalla pH:lla muuttumaton ja pH:lla 4,5 kestää parin minuutin kuumennuksen 100 celciusasteeseen menettämättä aktiivisuuttaan; emäksisellä pH:lla se on pysymätön ja on aktiivinen Micrococcus lysodeikticus-soluille; sopivan substraatin vaikutuksesta se vapauttaa pelkistävät sokerit ja N-acetylhexosamiinit, jotka ovat peräisin glucosamiinista tai muraminhaposta.

Lysotsyymiä on ihmisellä ja selkärangkaisilla useissa elimissä, kudoksissa ja eritteissä. Sitä on pernassa, munuaisissa, leukosyyteissä, maidossa, seerumissa, kyynelissä ja syljessä. Myös selkärangattomissa, bakteereissa ja tietyissä kasveissa on lysotsyymiä (JOLLES 1969). SEIFERTin (1975) mukaan myös kateenkorvarauhasen tärkein antibakteerinen aine on lysotsyymi, jota muodostuu solujen lysosomeissa.

Lysotsyymien antibakteerinen vaikutus perustuu siihen, että se pystyy hajoittamaan bakteerin solunseinämän. Lysotsyymi on melko laaja-alaisesti vaikuttava aine, joka pystyy hajoittamaan sekä gram-positiivisia että gram-negatiivisia bakteereita. SALTONin (1957) mukaan lysotsyymille herkkiä ovat seuraavat gram-positiiviset bakteerisuvut: Bacillus, Micrococcus, Sarcina, Staphylococcus ja Streptococcus. VAKIL ym. (1969) ovat tutkineet eri bakteerien alttiutta maidon lysotsyymille, ja ovat todenneet, että useat gram-positiiviset ja gram-negatiiviset bakteerit sekä elävinä että kuolleina ovat alttiita myös lehmänmaidon lysotsyymille. Tästä he päättelivät, että lysotsyymillä saattaa olla huomattava merkitys maidon luontaisessa antibakteerisessä aktiivisuudessa.

2. 2. 2. Lehmänmaidon lysotsyymiaktiivisuus

Aikaisemmin oltiin sitä mieltä, että lehmänmaidossa ei ole lysotsyymiä juuri lainkaan. SHAHANI ym. (1962) totesivat kuitenkin turbidimetrisellä mittauksella, Micrococcus lysodeikticus-solujen avulla, hyvin erilaisia lysotsyymipitoisuuksia lehmänmaidossa. Heidän kokeessaan oli 67 lehmää neljästä eri rodusta. Lysotsyymipitoisuus vaihteli 0 - 260 $\mu\text{g}/100$ ml maitoa ja määrät olivat seuraavat eri roduilla: Brown Swiss 21, Guernsey 15, Holstein 11 ja Jersey 5 $\mu\text{g}/100$ ml maitoa. Yleensä aamumaidossa oli enemmän lysotsyymiä kuin

iltamaidossa. Lehmien ikä vaihteli 2 - 18 vuoteen ja eniten lysotsyymiä oli 4 - 8 vuotiaitten lehmien maidossa. Maitotuotoksella ja laktaatiovaiheella ei havaittu yhteyttä lysotsyymimääriin. Myöskään eläinten terveydentilalla ei havaittu olevan yhteyttä maidon lysotsyymimäärään. Utareneljänneksittäin havaittiin lysotsyymimäärissä vaihtelua, joka ei kuitenkaan ollut mitenkään säännönmukaista.

SHAHANI ym. tutkivat myös antibiootihoidon vaikutusta maidon lysotsyymiin. Hoidon alussa lysotsyymimäärä laski, mutta palautui ennalleen 48 tunnin kuluessa. Maidon kuumentaminen tavallisella pastöroinnilla aiheutti 31 %, ja ultrapastöroinnilla 59 % aktiviteetin alenemisen lysotsyymissä, joten lysotsyymi kesti melko hyvin kuumentamista. Tutkittaessa lysotsyymien säilyvyyttä maitoa varastoitaessa, havaittiin lysotsyymiaktiivisuuden säilyvän parhaiten jäädytetyssä tai kylmässä maidossa ($-4 - +4^{\circ}\text{C}$).

PARRY ym. (1965) kehittivät edelleen lysotsyymien määritysmenetelmää, ja aikaansaivat nopeamman ja tarkemman menetelmän, jota on soveltaen käytetty myös tässä tutkimuksessa. Menetelmää selvitetään tarkemmin vasta tutkimusosassa.

CHANDANIN ym. (1968) tutkimuksessa on selvitetty eri lajien maidon lysotsyymi-, lipaasi- ja ribonukleaaasisisältöä. He ovat todenneet eri lajien maidossa lysotsyymiä seuraavasti: ihminen 40000, lehmä 13, vuohi 25, lammas 10 ja sika $0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa. Lysotsyymimäärä siis vaihtelee lajien välillä ja on ihmisellä monituhatkertainen muihin verrattuna.

MUTOVIN ja YATSUK (1968) ovat verranneet maidon leukosyyttien ja muiden solujen määrää muramidaasi- (lysotsyymi-) määriin. Laktaatiokauden alussa oli

terveissä neljänneksissä vähemmän soluja kuin lopussa (335000 ja 724000 kpl/ml). Laktaatiokauden alussa myös lysotsyymimäärä oli kaksinkertainen. Mastiittisissa neljänneksissä oli soluja 13 - 18 miljoonaa kpl/ml, ja lysotsyymiä oli hyvin vähän tai ei lainkaan.

EMELYANOV ja KULAKOVA (1968) ovat tutkineet lysotsyymimäärän vaihtelua laktaatiokauden aikana. Tutkimus käsitti kaksi karjaa, joista toisessa vuosituotos oli 5200 kg maitoa, kliinisiä utaretulehduksia oli 14 %: lla ja subkliinisiä 44 %: lla lehmistä. Toisessa karjassa vastaavat arvot olivat 4200 kg, 29 % ja 60 %. Tilojen väliset erot lysotsyymin suhteen olivat tilastollisesti merkitsevät. Nämä tutkijat ovat sitä mieltä, että runsastuotoksisten, utaretulehdukselle resistenttien lehmien maidossa on suuri lysotsyymipitoisuus.

MANASJAN ja GRIGORJAN (1969) ovat tutkineet mahdollisuuksia käyttää lysotsyymipitoista maitoa utaretulehduksen hoidossa. He totesivat, että suuri lysotsyymipitoisuus oli vain terveiden lehmien maidossa 6- 7 kuukauden ajan laktaatiokauden alussa. Siksi he käyttivät hoidossa maitoa, joka otettiin terveiltä lehmiltä 2- 3 kuukautta poikimisen jälkeen. He käyttivät hoidossa 120- 150 ml tuoretta maitoa ruiskutettuna kolmasti päivässä maitorauhaseen. He ovat saaneet erittäin hyviä tuloksia tällä hoitomenetelmällä (taulukko 7).

Taulukko 7: Subkliinistä utaretulehdusta sairastavien lehmien hoito lysotsyymimaidolla (MANASJAN & GRIGORJAN, 1969).

Ryhmä	Sairaita el. kpl	Maidossa lys. mm	Maito-annos ml	Käsittelypäiviä	Täysin parant.	Ei täy. parant.
1	64	36 - 40	120 - 150	2 - 3	64	-
2	28	0	120 - 150	6 - 10	3	25
vertailur.	14	-	-	-	-	14

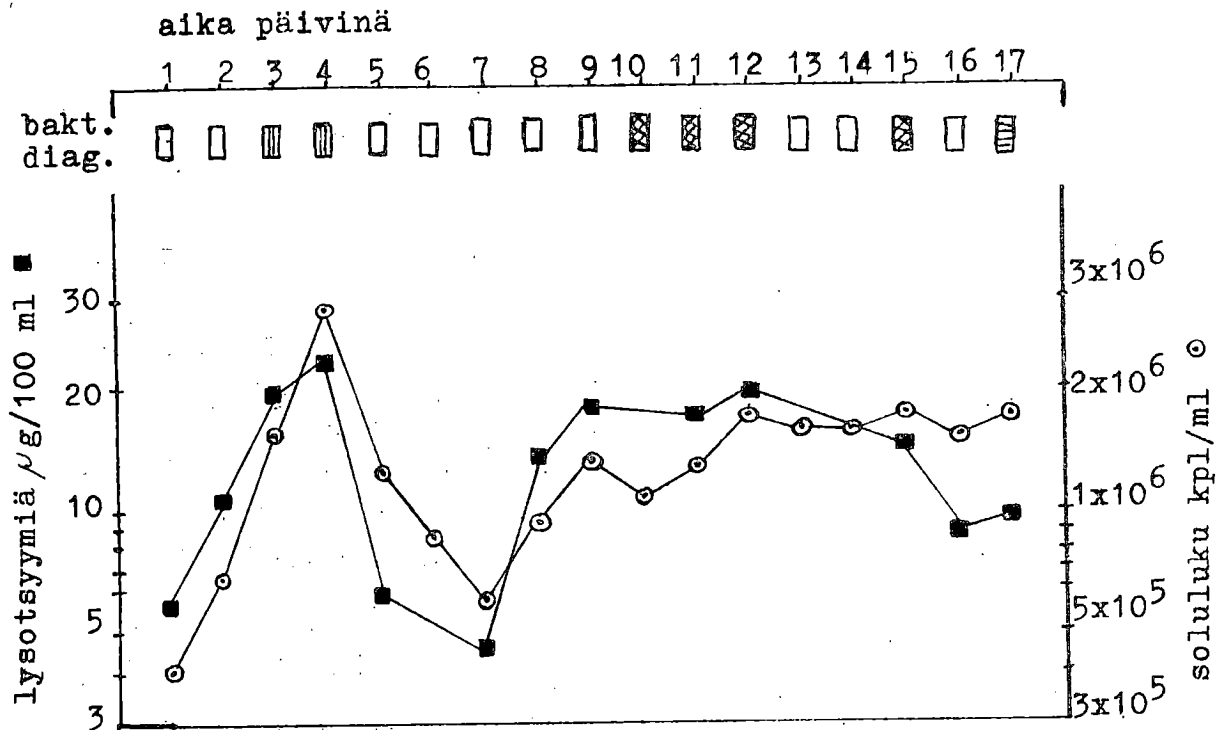
MANASJAN ja GRIGORJAN korostavat myös sitä, että lysotsyymimaidolla ei ole mitään sivuvaikutuksia utarekudokseen niinkuin antibiooteilla ja kemiallisilla valmisteilla saattaa olla.

KORHONEN (1973) on maidon bakterisidiaa käsittelevässä tutkimuksessaan suorittanut lysotsyymimäärityksiä 130 maitonäytteestä 14 lehältä. Maitonäytteiden soluluku oli 77 tapauksessa >500000 kpl/ml ja 53 tapauksessa <500000 kpl/ml. Yhteensä todettiin lysotsyymiaktiivisuus 60,8 %:ssa näytteistä. Lysotsyymiä oli keskimäärin $10,5 \mu\text{g}/100$ ml maitoa pienemmällä ja $45,0$ suuremmalla soluluvulla (taulukko 8).

Taulukko 8: Lysotsyymimäärät aseptisissä maitonäytteissä maidon soluluvun mukaan ryhmiteltynä (KORHONEN 1973).

Soluluku kpl/ml	Posit. näytteitä	Lys. \bar{x} $\mu\text{g}/100$ ml	Lys. vaihtelurajat
<500000 n = 53	5	10,5	6,0 - 17,0
>500000 n = 77	74	45,0	6,0 - 183,0

Tutkiessaan maidon soluluvun ja lysotsyymimäärän päivittäistä vaihtelua KORHONEN havaitsi selvän yhteyden näiden seikkojen välillä (kuva 2). Yleensä hän on tullut siihen tulokseen, että utareiltaan terveiden lehmien maidossa on vähän tai ei lainkaan lysotsyymiä ja että lysotsyymimäärä riippuu suuresti utareen ärtyneisyydestä.



- steriili
- ▨ mikrokokit
- ▩ enterokokit tai lactis-streptokokit
- ▧ C. pyogenes

Kuva 2: Maidon lysotsyymimäärä ja utareen terveys (bakteeridiagnoosi ja soluluku) peräkkäisinä päivinä (KORHONEN 1973).

2. 2. 3. Muita lysotsyymitutkimuksia

Lysotsyymitutkimuksista vain hyvin pieni osa käsittelee lehmänmaidon lysotsyymiä. Ehkä suurin osa tutkimuksista on tähdätty humaanilääketieteen kehittämiseen. Tässä työssä ei kuitenkaan selosteta enemmälti ihmistä koskevia tutkimuksia, mutta sen sijaan tarkastellaan hiukan lysotsyymitutkimuksia, jotka liittyvät joidenkin eläinten terveyteen ja hedelmällisyyteen.

SAUTER ym. (1970) ovat tutkineet kananmunan valkuaisen lysotsyymien vaikutusta munien fertilitettiin ja haudontuvuuteen. Kanat jaettiin tutkimusta varten kahteen ryhmään valkuaisen lysotsyymimäärän perusteella. Suuremman lysotsyymipitoisuuden ryhmässä havaittiin huomattavasti enemmän kuoriutumisprosenttia. Alhaisen lysotsyymimäärän ryhmässä oli sikiökuolleisuus ensimmäisellä haudontavaiheella suurempi. Suuremman lysotsyymipitoisuuden ryhmässä kananpojilla oli myös paremmat kasvuominaisuudet.

PANTJUHOVA (1969) on tutkinut lysotsyymien vaikutusta nautan hedelmöitymiseen. Hän lisäsi 300 mg lysotsyymiä 100 ml:an laimennusnestettä. Tiinehtymisprosentti oli 76 % (42 lehdestä) lysotsyymilisäyksellä ja 70 % (50 lehdestä) ilman lysotsyymilisäystä.

Professori SEIFERT (1975) Göttingenin yliopistosta on tutkinut resistenssitekijöitä ja niiden merkitystä kotieläinten vastustuskyvylle. Tutkimuksen solunsäisiä resistenssitekijöitä koskevassa osassa kerrotaan muunmuassa kateenkorvarauhasen soluista ja todetaan, että näiden solujen tärkein resistenssitekijä on lysotsyymi. Hän on tutkinut lysotsyymien esiintymistä nautan seerumissa ja todennut sen melko alhaiseksi koiraan ja ihmiseen verrattuna (noin 10 %). Tähänastisissa tutkimuksissa on saatu viitteitä, että alkukantaisilla nautaroduilla (N'damas Länsi-Afrikasta, Criollos Etelä-Amerikasta) on seerumin lysotsyymimäärä suurempi kuin eurooppalaisilla jalostetuilla nautaroduilla. Edelleen on todettu, että liharotuisilla naudoilla on enemmän seerumin lysotsyymiä kuin maitorotuisilla.

KLOCKARS (1975) on tutkinut lysotsyymiä normaaleilla, mikrobivapailta sekä leukeemisilla rotilla, ja lysotsyymien vaikutusta soluihin in vitro. Mikrobivapailta

rotilla oli merkitsevästi vähemmän lysotsyymiä sylkirauhasessa, pohjukaissuolessa, paksusuolella, pernassa, luuytimessä ja seerumissa kuin normaaleilla rotilla. Kateenkorvassa ja ohutsuolen alaosassa mikrobivapailta rotilla oli kuitenkin suurempi lysotsyymipitoisuus. Leukeemisten solujen (Shay chloroleukemia) havaittiin valmistavan lysotsyymiä. Lysotsyymien lisääntyminen havaittiin rotan seerumissa ja munuaisissa tämän leukemian kehittyessä.

2. 2. 4. Entsyymiaktiivisuuden periytyminen

Lysotsyymiaktiivisuuden ja yleensä entsyymiaktiivisuuksien periytyvyydestä ei ole olemassa mitään tarkkoja arvioita. Yleensä tutkijat esittävät vain olettamuksia lysotsyymiaktiivisuuden geneettisestä muuntelusta (JOLLES, 1969). Yleensä proteiinien muodostuminen tapahtuu tarkan geneettisen koodin mukaan, joten on luonnollista olettaa myös lysotsyymien muodostuvan samoin, ja että muodostumisessa on eroja geenistöjen erilaisuudesta johtuen.

KRÜGER ym. (1969) ovat tutkineet entsyymiaktiivisuuksia naudalla, siällä ja lampaalla. Tutkimuksessa todettiin eläinten välillä olevan eroja entsyymiaktiivisuuksissa ja että nämä erot olivat myös perinnöllisiä. Tutkitut eläimet oli standartoitu sukulaisuuden, iän ja hoitoympäristön suhteen ja entsyymiaktiivisuudet määritettiin standardimenetelmällä. Tutkimuksessa todettiin entsyymiaktiivisuuksissa eroja yksittäisten eläinten, puolisisaryhmien ja eri rotujen välillä. Koska eroja havaittiin ympäristöolojen samanlaisuudesta huolimatta, pitää tutkimusryhmä sitä osoituksena entsyymiaktiivisuuksien geneettisestä muuntelusta.

3. OMA TUTKIMUS

3. 1. Aineisto

Tämän tutkimuksen perusaineistona on ollut Viikin opetus- ja koetilan ayrshirekarja. Kokeessa oli mukana 48 koetilan lehmistä. Maitonäytteet otettiin aamulypsyn yhteydessä (paitsi iltamaitoa tutkittaessa) ja tutkittiin mahdollisimman nopeasti. Yhteensä suoritettiin määritykset 84 maitonäytteestä ja tehtiin siis 168 rinnakkaismääritystä.

Karjaa koskevat tiedot on kerätty karjakortistosta, jota pidetään kotieläintieteen laitoksella. Tietojen ryhmittely korteilla selviää mallikortista, joka esitetään liitteenä (liitteet 1 ja 2).

Tällainen aineisto, joka käsittää ainoastaan yhden karjan, on aivan liian suppea perinnöllisten kysymysten selvittämiseen, mutta tämän tutkimuksen puitteissa oli mahdoton laajentaa aineistoa. Aineistoa pienentää vielä huomattavasti se, että karjassa on hyvin vähän samojen isien jälkeläisiä.

Vaikkakin aineisto on suppea lysotsyymien periytyvyyden arvioimiseksi, se tarjoaa mahdollisuuden tutkia lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelua lehmäkohtaisesti ja lehmien välillä. Aineistosta voidaan myös tarkastella lysotsyymiaktiivisuuden ja erilaisten tuotanto-ominaisuuksien välisiä vuoro-suhteita.

3. 2. Lysotsyymiaktiivisuuden mittaaminen

Lysotsyymiaktiivisuuden mittaamisessa on sovellettu PARRYn ym. (1965) menetelmää. Menetelmä perustuu spektrofotometriseen mittaukseen, jolla mitataan se sameusasteen muutos, jonka heran lysotsyymi aikaansaa solususpensiossa, joka on valmistettu kuolleista *Micrococcus lysodeikticus*-soluista. Määrättynä reaktioaikana tapahtuva optisen tiheyden muutos mittaa lysotsyymiaktiivisuutta. Lysotsyymimäärä saadaan selville vertaamalla puhtaalla lysotsyymillä mitattuihin muutoksiin. Kaikki määritykset on suoritettu Helsingin yliopiston maitotalouslaitoksella.

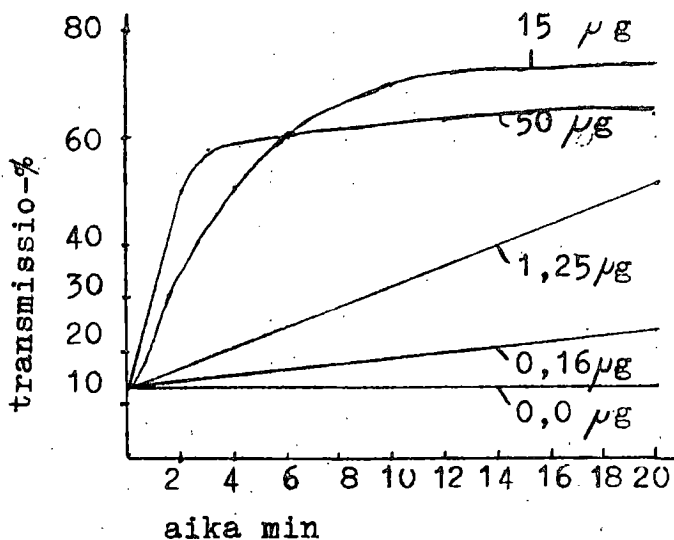
Lysotsyymisubstraatin valmistus:

Substraattina käytettiin ultraviolettisäteilyllä tapettuja, kuivattuja *Micrococcus lysodeikticus*-soluja (Difco, USA). Soluista valmistettiin 50, 100 ja 150 mg% liuoksia 0,067 M Na-fosfaattipuskuriin, jonka pH oli 6,2. Solusubstraatti pitää valmistaa noin vuorokausi ennen käyttöönottoa. Solususpension aikaansaama transmissio reaktioliuoksessa oli 10 %, kun laite oli kalibroitu 100 prosenttiin tislattulla vedellä aallonpituuden ollessa 540 m μ .

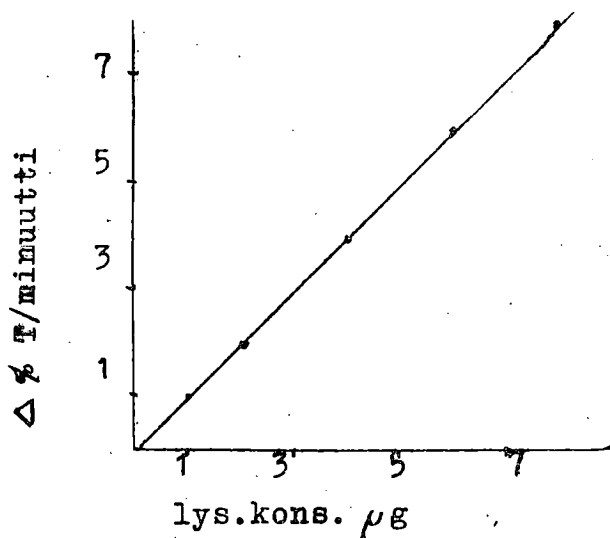
Standardiliuosten valmistus:

Standardiliuokset valmistettiin kiteisestä kananmunan valkuaisen lysotsyymistä (Difco, USA) 0,067 M Na-fosfaattipuskuriin. Tärkein standardiliuos on se, jolla saadaan reaktioliuokseen lysotsyymipitoisuus 1 μ g/ml, koska sitä on käytetty mittausvirheen mittaamiseen ja korjaamiseen päivittäin. Tässä työssä ei puututa varsinaisten standardikäyrien muodostamiseen, vaan oletetaan aikaisempiin tutkimuksiin nojaten transmissioprosentin

muutos suoraviivaiseksi pienillä lysotsyymipitoisuuksilla (kuvat 3 ja 4).



Kuva 3: Lysiksen määrä eri lysotsyymikonsentraatioilla (munan valk. lys.) (PARRY ym. 1965).



Kuva 4: Standardikäyrä lysotsyymiaktiivisuuden määrittämistä varten (PARRY ym. 1965).

Maitonäytteen valmistaminen:

Mittauksessa käytettävän heran tulisi olla aivan kirkasta. SHAHANin ym. (1962) menetelmällä ei päästy riittävään kirkkauteen, vaan heran valmistuksessa meneteltiin seuraavasti.

1. 10 ml maitonäytteestä poistettiin rasva sentrifugoimalla 10 min 2000 r/min.
2. Kaseiini saostettiin laskemalla näytteen pH 4,6:en 1N HCl:lla ja poistettiin sentrifu-

goimalla 10 min 2000 r/min.

3. Maitonäytteen happamuus nostettiin 6,2:en lisäämällä 1N NaOH:a.
4. Näytettä sentrifugoitiin 1 tunti 18000 r/min +4°C:ssa ultrasentrifuugilla.
5. Näin saadusta herasta otettiin 1 ml lysotsyymiaktiivisuuden mittaamiseen.

Jokaisesta maitonäytteestä valmistettiin näin kaksi rinnakkaista määritysliuosta.

Mittauksen suoritus:

Reaktioliuokset tehtiin 4,2 ml:n lasikyvetteihin (halkaisija 10 mm) seuraavasti.

1. 1,5 ml substraattia
2. 0,5 ml NaCl-liuosta (0,3 M), joka aktivoi lysotsyymiä.
3. 1,0 ml näytettä tai standardiliuosta.

Mittausaika oli 20 min ja lukemat luettiin joka minuutti. Joka mittauksessa oli mukana reaktioliuos, jossa oli näytteen tilalla 1,0 ml Na-fosfaattipuskuria. Tällä mitattiin se transmission muutos, joka ei aiheutunut lysotsyymistä. Nollakokeet tehtiin näytteillä, jotka oli valmistettu 10 min keitetystä maidosta. Kaikki mittaukset suoritettiin huoneenlämmössä HITACHI PERKIN-ELMER 139 UV-VIS-spektrofotometrillä.

Mittauksien muuttaminen lysotsyymimääriksi:

Mittauksella saadut lukuarvot ilmoittavat lysotsyymiaktiivisuuden transmissioprocentin muutoksena minuutissa ($\Delta\% F/min$). Koska haluttiin saada selville lysotsyymien määrät lehmänmaidossa, muutettiin lukuarvot mikrogrammoiksi ($\mu g/100$ ml maitoa) standardeja hyväksikäyttäen. Standardina käytettiin korjauksessa päivittäin sitä muutosta, minkä aikaansai $1 \mu g$ kananmunan valkuaisen lysotsyymiä 1 ml:ssa reaktioliuosta. Kun lukuarvo on korjattu standardilla, se ilmoittaa lysotsyymimäärän mikrogrammoina $1/3$ ml:ssa maitoa. Luku on kerrottava kolmella, jotta saa-

daan lysotsyymimäärä 1 ml:ssa. Tämän lisäksi luvut on kerrottu sadalla, jotta saadaan helpommin käsiteltäviä lukuarvoja. Mittausta ja laskutoimituksia selvittää seuraava esimerkki ja ote mittauspöytäkirjasta (taulukko 9).

Taulukko 9: Mittauspöytäkirjan ote, joka selvittää mittauksen suoritusta ja tulosten muuntamista lopulliseen muotoonsa.

Aika min	Transmissio-%					
	0-koe	stand. 1 µg/ml	0-koe	maitonäyte		
				2a	2b	2 keit.
0	27,5	29,5	25,5	25,5	24,5	25,5
1	32,5	34,5	29,0	28,5	27,5	27,0
2	35,0	37,0	30,0	30,0	29,5	29,0
3	35,5	39,0	"	30,5	30,5	30,0
4	"	41,5	31,5	32,0	32,0	31,5
5	"	43,5	32,0	33,5	33,5	32,0
6	36,5	47,0	32,5	"	34,0	32,5
7	37,0	48,5	33,0	34,5	34,5	33,5
8	38,0	51,5	33,5	35,5	35,0	"
9	39,0	53,5	34,0	"	35,5	34,0
10	"	55,0	34,5	36,5	36,0	34,5
11	"	57,5	35,5	"	"	35,0
12	40,0	59,5	36,5	37,5	37,0	"
13	40,5	61,0	"	"	37,5	36,0
14	"	62,5	37,0	38,0	"	"
15	41,0	63,5	37,5	38,5	38,0	"
16	42,0	66,5	"	"	"	36,5
17	42,5	67,0	38,0	39,0	38,5	"
18	43,0	68,5	38,5	39,5	39,0	37,0
19	"	70,0	"	"	"	"
20	43,5	71,0	38,5	40,0	39,0	37,5
muutos	16,0	41,5	13,0	14,5	14,5	12,0
korjaus		-16,0		-13,0	-13,0	-13,0
korj. muutos		25,5		1,5	1,5	-
muutos/min		1,275		0,075	0,075	-

$$\frac{0,075}{1,275} \times 3 \times 100 = 17,6$$

Pöytäkirjan ote on 4. 8. 1971 ja maitonäyte on leh-
mältä Sappi 440447 A. Maidon lysotsyymipitoisuudeksi
saatiin siis 17,6 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa kummassakin rin-
nakkaisnäytteessä. Keitettyssä maidossa ei havaittu
lysotsyymiä.

3. 3. Tilastollinen käsittely ja kaavat

Aineiston käsittely on suoritettu lähinnä käsilas-
kuna. Laskuissa on käytetty ohjelmoitavaa Seiko
S-301 pöytälaskinta. Lähinnä on laskettu keskiarvoja,
hajontoja, korrelaatioita sekä hierarkisia ja rin-
nakkaisia varianssianalyysejä. Laskuissa on käytetty
seuraavia kaavoja:

1. Keskiarvo ja hajonta:

$$\text{keskiarvo} = \bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

$$\text{painotettu keskiarvo} = \bar{x}_p = \frac{\sum (f \cdot x)}{f}$$

$$\text{hajonta} = s = \sqrt{\frac{\sum x^2 - (\sum x)^2/n}{n - 1}}$$

missä n = havaintojen luku

f = havaintojen frekvenssi

2. Korrelaatio:

$$\text{korrelaatio} = r = \frac{\sum (x \cdot y) - \frac{\sum x \cdot \sum y}{n}}{\sqrt{(\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}) \cdot (\sum y^2 - \frac{(\sum y)^2}{n})}}$$

missä x ja y ovat verrattavat ominaisuudet

n = parien lukumäärä

Korrelaation poikkeavuus nolasta on testattu
vertaamalla taulukkoarvoon vapausasteiden ol-
lessa parien lukumäärä -2.

$$\text{osittaiskorrelaatio} = r_{12 \cdot 3} = \frac{r_{12} - r_{13} \cdot r_{23}}{\sqrt{(1 - r_{13}^2) \cdot (1 - r_{23}^2)}}$$

$r_{12 \cdot 3}$ on ominaisuuksien 1 ja 2 välinen korrelaatio, mistä ominaisuuden 3 vaikutus on poistettu. Testattaessa osittaiskorrelaatiota vapausasteet vähenevät yhdellä poistettua ominaisuutta kohti.

3. Varianssianalyysi:

Varianssianalyysit on laskettu taulukoissa 10, 11 ja 12 esitettyjen yksisuuntaisen, hierarkisen ja rinnakkaisen mallin mukaan. Varianssianalyysien perusteella on laskettu myös varianssien estimaatit ja varianssiosuudet. Laskutapa käy ilmi myös samoista taulukoista.

4. Heritabiliteetti:

Heritabiliteetti on laskettu varianssianalyysillä arvioidun isien välisen varianssin perusteella kaavasta:

$$h^2 = 4 \cdot \frac{\sigma_{iv}^2}{\sigma_{iv}^2 + \sigma_{is}^2}$$

Heritabiliteetin virhe on arvioitu kaavalla:

$$h_{s_{\bar{x}}}^2 = \left(h^2 + \frac{4}{N/n} \right) \cdot \sqrt{\frac{2}{n}}$$

missä N = havaintojen lukumäärä

n = isien lukumäärä

5. Testaus:

t-testi:

t-testiä on käytetty keskiarvojen erojen testaamiseen. t-arvot on laskettu kaavasta:

$$|t| = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	$\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} = I$	$n - 1$			$C + B = A$	100
luokkien väl. muuntelu	$\sum \frac{(\sum x_i)^2}{n_i} - \frac{(\sum x)^2}{n} = II$	$k - 1$	$II/k - 1 = s_v^2$	s_v^2/s_s^2	$\frac{s_v^2 - s_s^2}{n/k} = B$	$\frac{100 \cdot B}{A}$
luokkien sis. 1. virhemuunt.	$I - II = III$	$n - k$	$III/n - k = s_s^2$		$s_s^2 = C$	$\frac{100 \cdot C}{A}$

Taulukko 10: Yksisuuntainen varianssianalyysi, missä

$\sum x^2$ = kaikkien havaintojen neliösumma

$\sum x$ = kaikkien havaintojen summa

$\sum x_i$ = havaintojen summa luokassa

n = kaikkien havaintojen lukumäärä

n_i = havaintojen lukumäärä luokassa

k = luokkien lukumäärä

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var. %
kokonais- muuntelu	$\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n} = I$	$n - 1$			$D + C + B = A$	100
yläluokkien väl. muuntelu	$\sum \frac{(\sum x_i)^2}{n_i} - \frac{(\sum x)^2}{n} = II$	$k - 1$	$II/k - 1 = s_v^2$	s_v^2 / s_e^2	$\frac{s_v^2 - s_e^2}{n/k} = B$	$\frac{100 \cdot B}{A}$
alal. väl. (ylä- sis.) muuntelu	$\sum \frac{(\sum x_j)^2}{n_j} - \sum \frac{(\sum x_i)^2}{n_i} = III$	$h - k$	$III/h - k = s_e^2$	s_e^2 / s_s^2	$\frac{s_e^2 - s_s^2}{n/h} = C$	$\frac{100 \cdot C}{A}$
alal. sis. l. virhemuuntelu	$I - (II + III) = IV$	$n - h$	$IV/n - h = s_g^2$		$s_g^2 = D$	$\frac{100 \cdot D}{A}$

Taulukko 11: Hierarkkinen varianssianalyysi, missä

- $\sum x^2$ = kaikkien havaintojen neliösumma
- $\sum x$ = kaikkien havaintojen summa
- $\sum x_i$ = havaintojen summa yläluokassa
- $\sum x_j$ = havaintojen summa alaluokassa
- n = kaikkien havaintojen lukumäärä
- h = alaluokkien lukumäärä
- k = yläluokkien lukumäärä
- n_i = havaintojen lukumäärä yläluokassa
- n_j = havaintojen lukumäärä alaluokassa

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	$\sum x_{ij}^2 - \frac{(\sum x_{ij})^2}{n} = I$	$n - 1$			$D + C + B = A$	100
pystyluokkien väl. muuntelu	$\sum \frac{(\sum x_{ij})^2}{n_i} - \frac{(\sum x_{ij})^2}{n} = II$	$k - 1$	$II/k - 1 = s_p^2$	s_p^2/ss	$\frac{s_p^2 - s_s^2}{n/k} = B$	$\frac{100 \cdot B}{A}$
vaakaluokkien väl. muuntelu	$\sum \frac{(\sum x_{ij})^2}{n_j} - \frac{(\sum x_{ij})^2}{n} = III$	$h - 1$	$III/h - 1 = s_v^2$	s_v^2/ss	$\frac{s_v^2 - s_s^2}{n/h} = C$	$\frac{100 \cdot C}{A}$
pysty- ja vaa- kaluokkien sis. l. virhemuunt.	$I - (II + III) = IV$	$(n + 1) - (k + h)$	$IV/(n+1) - (k+h) = s_s^2$		$s_s^2 = D$	$\frac{100 \cdot D}{A}$

Taulukko 12: Rinnakkainen varianssianalyysi, missä

$\sum x_{ij}^2$ = kaikkien havaintojen neliösomma

$\sum x_{ij}$ = kaikkien havaintojen summa

$\sum x_i$ = havaintojen summa pystyluokassa

$\sum x_j$ = havaintojen summa vaakaluokassa

n = kaikkien havaintojen lukumäärä

k = pystyluokkien lukumäärä

h = vaakaluokkien lukumäärä

n_i = havaintojen lukumäärä pystyluokassa

n_j = havaintojen lukumäärä vaakaluokassa

Ylläolevan lisäksi voidaan vielä suorittaa jakoa alaluokkien pysty- tai vaakaluokkien sisällä ja laskea niistä joko oma muunteluosuus tai muunteluosuus yläluokan sisällä.

missä \bar{x}_1 ja \bar{x}_2 ovat verrattavien ryhmien keskiarvot

s_1^2 ja s_2^2 ovat näyteryhmien varianssit

n_1 ja n_2 ovat havaintojen lukumäärät näyteryhmissä

Saatuja t-arvoja on verrattu teoreettisiin taulukkoarvoihin vapausasteiden ollessa

$$n_1 + n_2 - 2.$$

χ^2 -testi:

Havaintojen jakautumista eri havaintoluokkiin on testattu χ^2 -testillä. χ^2 -arvo on laskettu kaavalla:

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_i - m_i)^2}{m_i}$$

missä f_i = todettu frekvenssi ja

m_i = odotettu frekvenssi

Saatuja arvoja on verrattu teoreettisiin taulukkoarvoihin vapausasteiden ollessa

$$(n-1) \cdot (k-1).$$

n = pystysarakkeiden määrä ja

k = vaakasarakkeiden määrä

F-testi:

Varianssianalyysin yhteydessä on suoritettu F-testi, joka testaa ovatko luokkien keskiarvot yhtäsuuria vai ei. F-arvot lasketaan vertaamalla luokkien välistä varianssikomponenttia luokan sisäiseen varianssiin (= virhevarienssi). Käytännössä testi tapahtuu jakamalla luokkien välinen keskineliö virheen keskineliöllä. Hierarkisessa varianssianalyysissä testataan luokkien välinen varianssi virhevarienssilla vain jos luokkien sisäinen muuntelu ei ole merkitsevää. Verrattaessa saatuja F-arvoja teoreettisiin taulukkoarvoihin, käytetään varianssitaulukosta saatavia

vapausasteita (k-1) ja (n-k).

Kaikissa suoritetuissa testeissä on käytetty seuraavia riskirajoja ja merkintöjä:

P < 0,05 = * = merkitsevä ((*) = lähes merk.)

P < 0,01 = ** = hyvin merkitsevä

P < 0,001 = *** = erittäin merkitsevä

- = ei merkitsevä

3. 4. Tulokset

Aluksi on laskettu rinnakkaismääritysten välinen korrelaatio, joksi saatiin 0,76^{***}. Varianssianalyysillä (taulukko 13) ei havaita eroja rinnakkaismääritysten välillä.

Taulukko 13: Varianssianalyysi rinnakkaisnäytteiden välisen muuntelun selvittämiseksi.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F
kokonaismuuntelu	66623,95	163		
rinn.näytteiden väl. m.	209,37	1	209,37	↑ -
virhemuuntelu	66414,58	162	409,97	↓

Rinnakkaismääritysten välinen melko korkea vuorosuhde osoittaa määritysten varmuutta. Varmuus on tyydyttävä ottaen huomioon melko pitkällisen ja monivaiheisen määritysmenetelmän. Varianssianalyysin tulos puoltaa myös korrelaation osoittamaa rinnakkaismääritysten välistä yhteyttä.

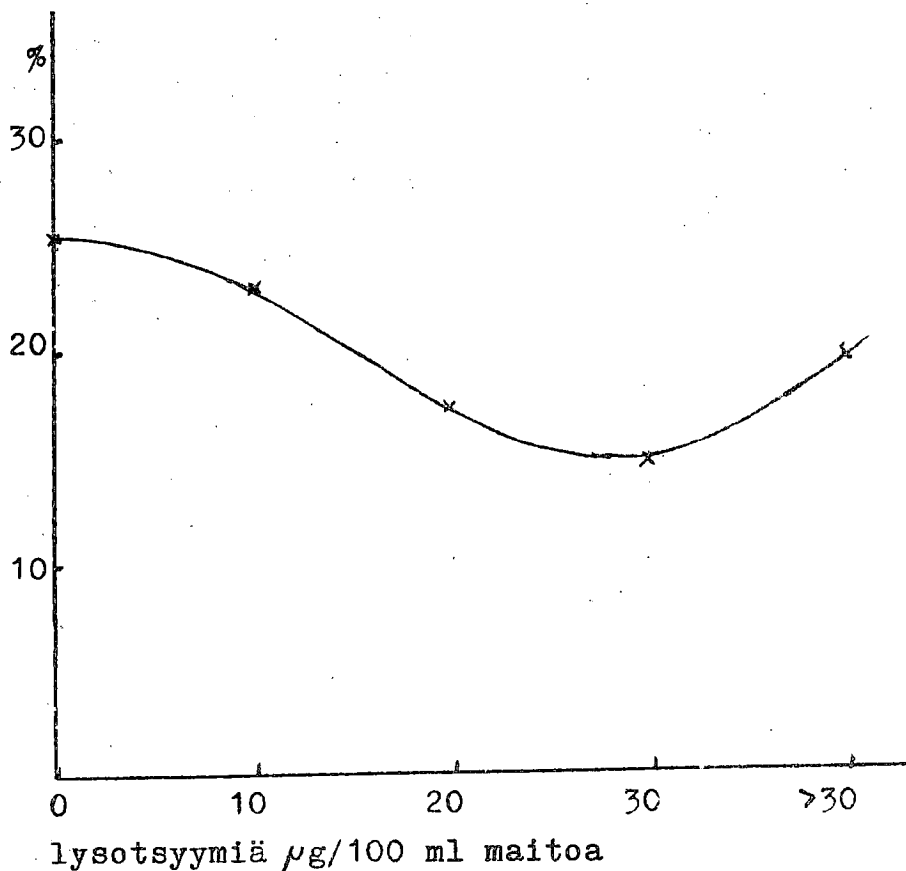
3. 4. 1. Lysotsyymisisältö keskimäärin

Kaikkien havaintojen (84 kpl) perusteella laskettu keskimääräinen lysotsyymimäärä on 20,6 µg/100 ml maitoa.

Määrät vaihtelevat 0,0 - 237,0 μg ja hajonta on 31,35. Vastaavat arvot lehmäkohtaisista keskiarvoista (48 kpl) laskettuna ovat $\bar{x} = 17,1 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa ja $s = 19,4$. Painotettu keskiarvo 20,6 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa vastaa yksittäisistä havainnoista laskettua arvoa. Koska suurimmat ääriarvot vaikuttavat hyvin suuresti kaikkiin lukuarvoihin, poistettiin yli kolmen hajontayksikön päähän keskiarvosta jäävät havainnot. Tämä pienensi aineistoa kahdella havainnolla ja yhdellä lehmällä. Poiston jälkeen lasketut uudet keskiarvot ovat:

laskutapa	n	\bar{x}	s
havainnoittain	82	17,1 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$	18,9
lehmittäin	47	13,9 -"-	13,2
painotettu	82	17,1 -"-	13,8

Hajonnat ovat hyvin suuria, jopa keskiarvoa suurempia, mikä kuvaa hyvin lysotsyymipitoisuuden suurta vaihtelua.



Kuva 5: Havaintojen prosentuaalinen jakautuminen eri lysotsyymiluokkiin.

Sellaisia havaintoja, joissa ei todettu lainkaan lysotsyymiä, oli 21 kpl (25,6 %) (10 lehmää, 21,3 %). Positiivisia tapauksia oli vastaavasti 61 kpl (74,4 %) (37 lehmää, 78,7 %). Siis noin 3/4:lla lehmistä todettiin lysotsyymiaktiivisuutta maidossa. Positiivisten tapausten keskiarvo oli havainnoittain laskettuna 23,0 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ maitoa (17,6 lehmittäin) ja hajonta oli 18,6 (12,5). Kuva 5 osoittaa havaintojen jakautumisen lysotsyymipitoisuuden mukaan. Pieniä ja suuria havaintoja oli suhteellisesti paljon ja keskiluokkiin sijoittuvia havaintoja vähän.

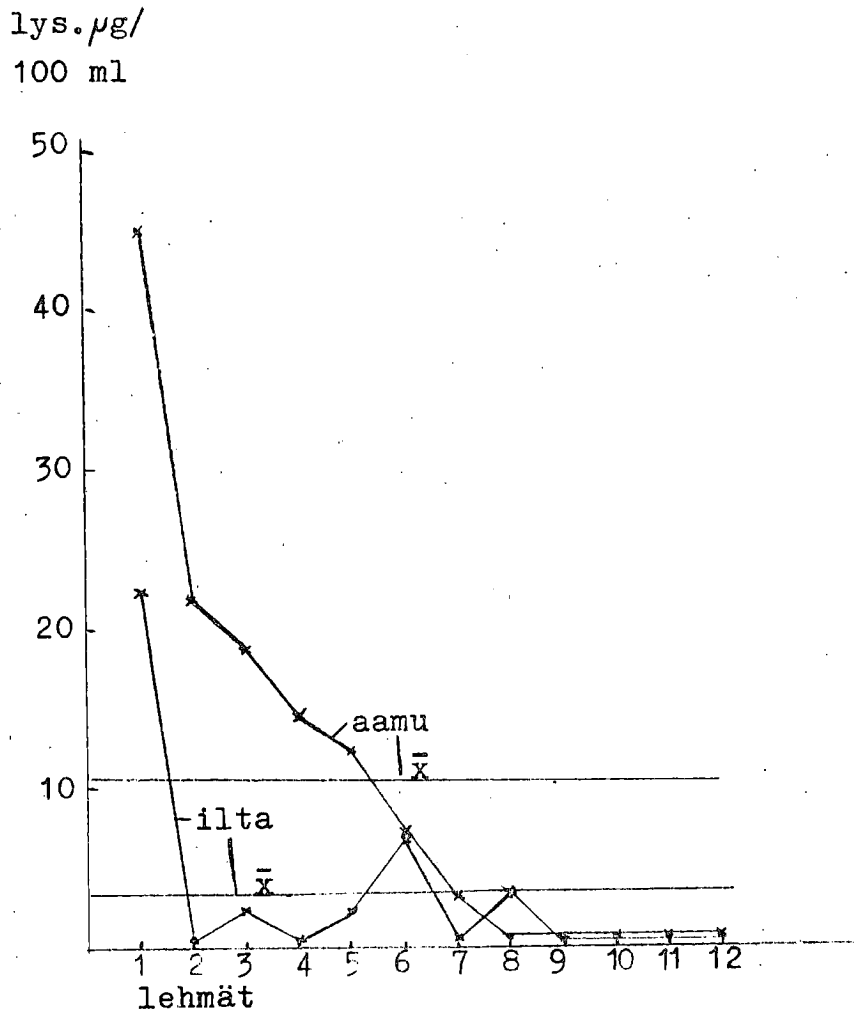
Normaalin, aamumaidosta tapahtuvan määrityksen lisäksi suoritettiin joitakin määrityksiä, joissa verrattiin aamu- ja iltamaitoa, eri utareneljänneksiä ja eri lypsyn vaiheita.

Aamu- ja iltamaito:

Aamu- ja iltamaidon vertailutulokset nähdään taulukossa 14 ja kuvassa 6. Aamumaidossa näyttäisi olevan

Taulukko 14: Lysotsyymipitoisuudet aamu- ja iltamaidossa.

Lehmä nro	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	
	aamulla	illalla
2	19,1	2,9
3	3,3	0,0
8	44,7	22,6
10	12,8	2,9
13	22,0	0,0
16	0,0	0,0
20	0,0	3,8
24	0,0	0,0
26	7,1	7,1
33	14,3	0,0
43	0,0	0,0
45	0,0	0,0
\bar{x}	10,3	3,3
s	13,5	6,5



Kuva 6: Lysotsyymimäärät aamu- ja iltamaidossa (lehmät aamumaitojen mukaisessa suurusjärjestyksessä).

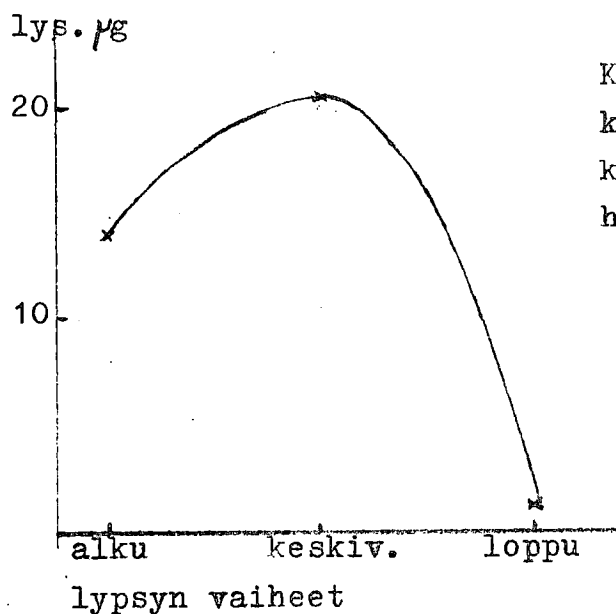
selvästi enemmän lysotsyymiä kuin iltamaidossa, jos-
kaan ero ei ole tilastollisesti merkitsevä ($|t|=1,63$).

Lypsyn eri vaiheet:

Koska haluttiin tutkia myös lysotsyymimäärän vaihte-
lua lypsyn aikana, otettiin muutamilta lehmillä kolme
maitonäytettä lypsyn eri vaiheissa. Ensimmäinen näyte
otettiin lypsyn alussa, toinen keskivaiheilla ja kol-
mas lypsyn lopussa. Mittaustulokset selviävät taulu-
kosta 15 ja kuvasta 7. Tämän kokeen valossa näyttää

Taulukko 15: Maidon lysotsyymimäärät lypsyn eri vai-
heissa.

Lehmä nro	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ lypsyn		
	alussa	keskivaih.	lopussa
1	22,6	59,5	5,7
3	5,5	2,8	0,0
15	0,0	14,8	0,0
43	7,5	7,5	0,0
29	33,3	16,7	0,0
\bar{x}	13,8	20,3	1,1



Kuva 7: Lysotsyymiä
keskim. lypsyn alku-
keski- ja loppuvai-
heessa.

lysotsyymiä olevan lypsyn alku- ja keskivaiheilla maidossa suunnilleen normaalisti, mutta lypsyn lopussa sitä näyttäisi olevan hyvin vähän tai ei lainkaan. Mitään tilastollisesti varmoja johtopäätöksiä ei tällaisten määritysten perusteella voida tehdä, mutta lysotsyymi voisi hyvinkin puuttua loppulypsyn maidosta, koska sen koostumus poikkeaa muutenkin normaalimaidosta.

Eri utareneljännekset:

Koska kokeen päätarkoituksena oli selvittää lysotsyymien ja utaretulehduksen välistä yhteyttä, ja koska tulehdus esiintyy usein vain jossakin utareneljänneksessä, tutkittiin muutamalta lehmältä maitonäytteet utareneljänneksittäin. Tulokset esitetään taulukossa 16. Lysotsyymien määrä näyttää vaihtelevan melkoisesti eri utareneljänneksissä. Tämä koe antaa myös aiheen epäilylle, että juuri utaretulehdus aikaansaa maidon korkean lysotsyymipitoisuuden.

Taulukko 16: Lysotsyymimäärät eri utareneljänneksissä. Rastilla merkityissä neljänneksissä on ollut tulehdus mittausta edeltäneen vuoden kuluessa.

Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$				
Utareneljännes				
Lehmä nro	oikea		vasen	
	etu	taka	etu	taka
43	0,0	12,7	8,4	11,1
22	0,0	0,0	0,0	0,0
10	2,9	2,9	0,0	2,9
1	0,0	66,6*	5,7	96,2*
3	14,8	4,5	41,2*	8,9

Keitetty maito:

Aikaisempien tutkimusten mukaan maidon lysotsyymiaktiivisuus häviää kuumennettaessa. Tämä todettiin myös tässä tutkimuksessa käsiteltäessä maitoa, jota oli keitetty 10 minuuttia. Keitetyn näytteen kanssa samanaikaisesti määritettiin lysotsyymi samasta näyte-erästä tuoreena (taulukko 17).

Taulukko 17: Lysotsyymiaktiivisuus keitettyssä maidossa.

Näyte nro	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	
	tuoreena	keitettynä
1	5,0	0,0
2	0,0	0,0
3	16,7	0,0
4	26,6	0,0
5	17,6	0,0

3. 4. 2. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu

3. 4. 2. 1. Lehmien välinen ja lehmäkohtainen lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu.

Lysotsyymimäärät vaihtelevat melkoisesti lehmien välillä, mutta myös lehmäkohtainen vaihtelu on huomattavan suuri. Lehmäkohtaista vaihtelua kuvaa melko hyvin taulukko 18, missä on esitetty lysotsyymimäärityksen tulokset saman lehmän maidosta lähekkäisinä päivinä.

Taulukko 18: Lysotsyymiaktiivisuuden päivittäinen vaihtelu.

Lehmä nro \ Päivä	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$				
	1.	2.	3.	4.	5.
2	0,0	2,9	8,3	22,2	
1	65,2	42,1			
11	3,1			0,0	
12	44,3				18,0
43	26,6	8,1			

Vaikka määritykset eri päivinä antavat melko yhdenmukaisia tuloksia, havaitaan määrissä melko suurta vaihtelua. Vaikka mukana olisi määritysvirhettäkin, erot eivät voi johtua kokonaan siitä, vaan päivittäisen vaihtelun lysotsyymimäärissä voi olettaa olevan todellista. Kahden eri havainnon välinen korrelaatio (määritysten välinen aika ei ole yhtä pitkä) on $0,33$. Parien lukumäärä on kuitenkin niin pieni (21), että korrelaatio ei poikkea merkittävästi nolasta. Heikko vuorosuhde on myös osoitus suuresta yksilön sisäisestä vaihtelusta. Jos lasketaan korrelaatiosta karkea toistumiskertoimen arvio (korrelaation neliö), saadaan $0,11$. Sen mukaan pystyttäisiin arvioimaan vain runsaat 10 % lysotsyymimäärästä edellisen määrityksen perusteella.

Hierarkisella varianssianalyysillä ei saada lehmien välisen muuntelun osuutta selville, jos yhden havainnon lehmät ovat mukana. Jos poistetaan yhden havainnon lehmien aiheuttama virhe, saadaan lehmien välisen muuntelun osuudeksi 11,2 %. Muuntelu ei ole kuitenkaan tilastollisesti merkitsevää. 11,2 on samalla toistumiskerroin ja se käy hyvin yksiin korrelaatiosta arvioidun kanssa (taulukot 19 a ja b).

Jos laajennetaan aineisto käsittämään myös rinnakkaismääritykset ja lasketaan rinnakkainen varianssianalyysi, saadaan suuremman aineiston takia varmempia tuloksia (taulukot 20 a, b, c ja d). Jos lasketaan pelkästään lehmien välinen muuntelu, saadaan merkitsevä muunteluosuus, joka on 25 % kokonaisuudesta. Mutta jos lasketaan edelleen havaintojen välinen muuntelu lehmien sisällä, ei saada lehmien välisen muuntelun osuutta lainkaan esille. Koska koko aineistosta laskettaessa sisältyy lehmien väliseen muunteluun myös osa lehmien sisäisestä muuntelusta (yhden havainnon lehmät), korjataan virhe

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var. %
kokonais- muuntelu	28953,66	81				
lehmien väl. muuntelu	15342,95	46	333,54	↕		
lehmien sis. l. virhemuunt.	13610,71	35	388,88	↕		

Taulukko 19 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; lehmien välinen muuntelu kaikkien havaintojen mukaan.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var. %
kokonais- muuntelu	24010,47	55			438,05	100,0
lehmien väl. muuntelu	10399,76	20	519,99	↗ 1,337	49,17	11,2
lehmien sis. l. virhemuunt.	13610,71	35	388,88	↘	388,88	88,8

Taulukko 19 b: sama kuin 19 a ilman yhden havainnon lehmiä

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	66623,95	163			410,91	100,0
rinnakkaismäär- väl. muuntelu	209,37	1	209,37	-	0,00	0,0
lehmien väl. muuntelu	30656,10	46	666,44	2,16 ↑ ↓	102,65	25,0
virhe- muuntelu	35758,48	116	308,26	↓	308,26	75,0

Taulukko 20 a: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääri-
tysten ja lehmien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	66623,95	163			442,67	100,0
rinnakkaismäär- väl. muuntelu	209,37	1	209,37	1,98 ↑	1,26	0,3
lehmien väl. muuntelu	30656,10	46	666,44	-	0,00	0,0
hav. väl. muunt. lehmien sis.	27200,63	35	777,16	7,36 ↑ ↓	335,76	75,8
virhe- muuntelu	8557,85	81	105,65	↓	105,65	23,9

Taulukko 20 b: sama kuin 20 a ja lisäksi laskettu hierarkisesti
havaintojen välinen muuntelu lehmien sisällä.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	54835,92	111			499,87	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	264,76	1	264,76	-	0,00	0,0
lehmien väl. muuntelu	20785,83	20	1039,29	2,77	124,48	24,9
virhe- muuntelu	33785,33	90	375,39		375,39	75,1

Taulukko 20 c: sama kuin 20 a ilman yhden havainnon lehmiä

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	54835,92	111			500,18	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	264,76	1	264,76	2,21	2,59	0,5
lehmien väl. muuntelu	20785,83	20	1039,29	1,34	49,15	9,8
hav. väl. muunt. lehmien sis.	27200,63	35	777,16	2,49	328,72	65,7
virhe- muuntelu	6584,65	55	119,72		119,72	24,0

Taulukko 20 d: sama kuin 20 c ja lisäksi laskettu hierarkisesti havaintojen välinen muuntelu lehmien sisällä.

ottamalla mukaan vain ne lehmät, joilta on vähintään kaksi havaintoa. Tällöin saadaan lehmien välisen muuntelun osuudeksi 9,8 %. Lehmien välinen muuntelu ei ole kuitenkaan tilastollisesti merkitsevää. Havaintojen välinen muuntelu lehmien sisällä on sen sijaan erittäin merkitsevää, ja sen osuus on 65,7 % kokonaismuuntelusta. Tämän aineiston perusteella ei saada varmuutta siihen, kuinka suuresti lysotsyymipitoisuus vaihtelee lehmien välillä. Laskujen perusteella voidaan kyllä olettaa, että lehmien välisiä eroja on olemassa, ja että laajemmasta aineistosta pystyisi selvittämään erojen suuruuden ja niiden merkitsevyyden.

3. 4. 2. 2. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu utareilta terveiden ja sairaiden eläinten välillä.

Viikin karjassa on runsaasti utaretulehdusta. Tässä aineistossa mukana olevista lehmistä (47 kpl) on vain 17 kpl (36,2 %) luokiteltu terveiksi ja 30 kpl (63,8 %) utaretulehduslehmiksi. Tulehduksiksi on katsottu sellaiset tapaukset, jotka karjakortistossa (liite 3) ovat kuuluneet seuraaviin diagnostisiin luokituksiin kortiston koodinumeroitten mukaan:

- 31 Tarttuva utaretulehdus = Str. agalactiae
- 32 Äkillinen muusta tartunnasta johtuva utaretulehdus = muut streptokokit, koliform, mikrokokit
- 33 Krooninen utaretulehdus
- 34 Septinen utaretulehdus, "vaikea" utaretulehdus, verenmyrkytys
- 38 utaretulehdus (maito sakkautunut, bakteriologisesti kielteinen.

Käsiteltäessä aineistoa se jaettiin utaretulehdusten perusteella kolmeen luokkaan sen mukaan, kuinka usein

tulehdus oli ollut ennen määrittystä. Ryhmään 2 laitettiin sellaiset eläimet, joilla tulehdus oli todettu toistuvasti, ryhmään 1 sellaiset, joilla oli ollut yksi tulehdus ja ryhmään 0 sellaiset, joilla ei oltu todettu tulehdusta. Taulukossa 21 esitetään eläinten ja havaintojen jakautuminen näihin luokkiin sekä lysotsyymimäärien keskiarvot ja hajonnat luokissa.

Taulukko 21: Lysotsyymimäärät keskimäärin lehmillä. utaretulehduksen mukaan ryhmiteltynä.

Ryhmä	Lehmiä kpl	Hav. kpl	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100$ ml	
			\bar{x}	s
0	17	21	8,8	9,9
1	13	23	17,1	15,7
2	17	38	21,8	22,8
1 + 2	30	61	20,0	20,4

Testattaessa t-testillä, poikkeavatko ryhmien keskiarvot toisistaan, saadaan seuraavat tulokset:

1 \leftrightarrow 0	t = 2,13 *
1 \leftrightarrow 2	t = 0,95 -
2 \leftrightarrow 0	t = 3,04 **
1 + 2 \leftrightarrow 0	t = 3,39 **(*)

Testin perusteella voidaan päätellä, että tulehduslehmien maidossa on lysotsyymiä keskimäärin merkitsevästi enemmän kuin terveiden lehmien maidossa.

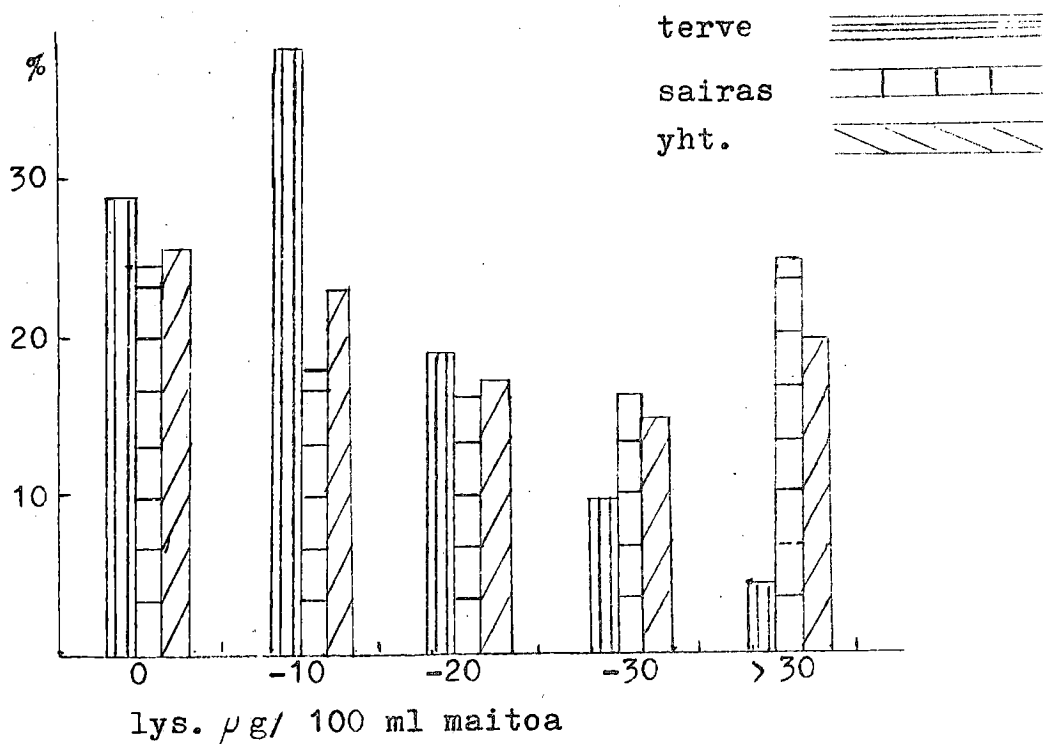
Kun aineisto luokitellaan lysotsyymipitoisuuden mukaan ja tutkitaan terveiden ja sairaiden eläinten osuutta eri luokissa, huomataan terveiden eläinten suhteellisen osuuden olevan suurempi alhaisissa lysotsyymiluokissa ja sairaiden osuuden suurissa luokissa (taulukko 22, kuvat 8 a ja b).

Tutkittaessa χ^2 -testillä, poikkeako luokkien sisäinen jakautuminen terveisiin ja tulehduslehmisiin

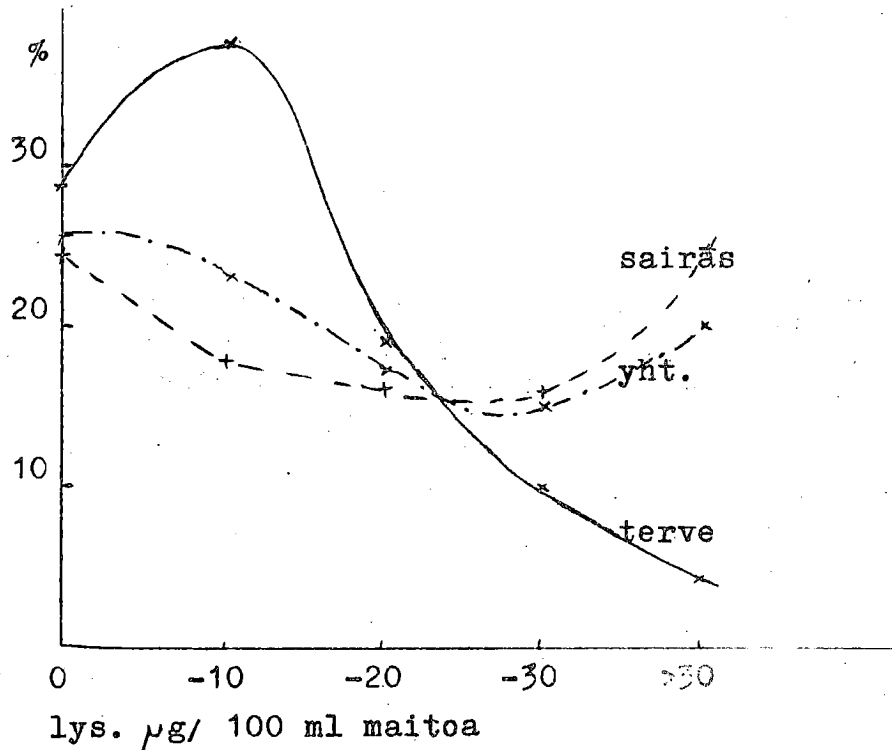
koko aineiston terveiden ja tulehduslehmien suhteesta, ei saada merkitsevää testiarvoa ($\chi^2 = 6,49$, va 4). Vaikka siis näyttää siltä, että terveiden ja sairaiden osuus eri luokissa olisi hyvin erilainen, tämä aineisto ei riitä osoittamaan eroja tilastollisella varmuudella.

Taulukko 22: Utareiltaan terveiden tai sairaiden lehmien jakautuminen eri lysotsyymiluokkiin.

Lysots. $\mu\text{g}/100\text{ml}$ maitoa	Havaintoja lehmillä					
	yhteensä		terveiltä		tulehtuneilta	
	kpl	%	kpl	%	kpl	%
0	21	25,6	6	28,6	15	24,6
-10	19	23,2	8	38,1	11	18,0
-20	14	17,1	4	19,0	10	16,4
-30	12	14,6	2	9,5	10	16,4
>30	16	19,5	1	4,8	15	24,6
yht.	82	100,0	21	100,0	61	100,0

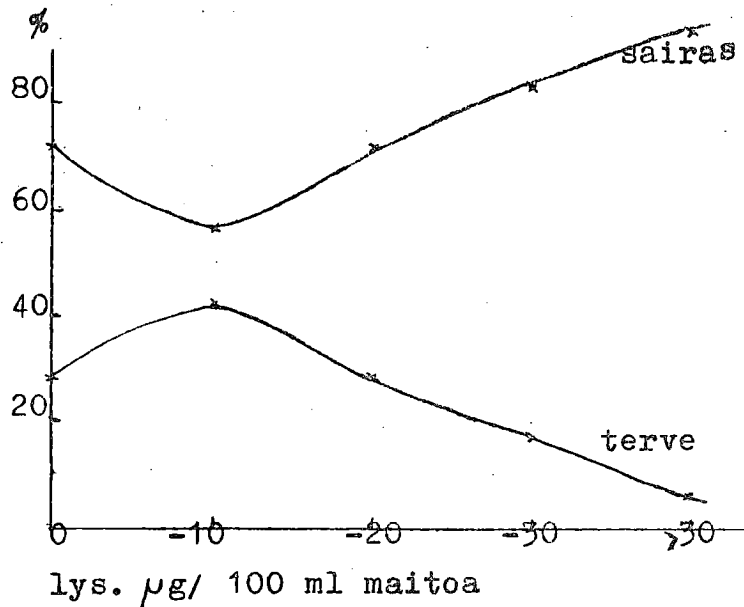


Kuva 8 a: Utareiltaan terveiden ja sairaiden lehmien suhteellinen jakautuminen eri lysotsyymi-luokkiin (tulehdusluokkien sisällä).



Kuva 8 b: sama kuin 8 a.

Taulukossa 22 näkyy siis jakautuminen terveiden ja sairaiden havaintoluokkien sisäisesti. Saadaan ehkä vielä havainnollisempi kuva, jos tutkitaan montako prosenttia eri lysotsyymiluokkiin kuuluvista havainnoista on terveiltä ja sairailta eläimiltä (kuva 9).



Kuva 9: Utareiltaan terveiden tai sairaiden eläinten osuudet eri lys.-luokissa (lys.-luokkien sisällä).

Tutkittaessa varianssianalyysillä lysotsyymipitoisuuden muuntelua utaretulehdusten perusteella tapahtuvan luokituksen mukaan havaitaan, että muuntelu on merkitsevää terveiden ja tulehduslehmien välillä (vrt. t-testi). Erot ovat merkitseviä jo hierarkisen varianssianalyysin (82 hav.) perusteella ja varmistuvat rinnakkaisella varianssianalyysillä aineiston suurentuessa (saadaan lehmien väliseen muunteluun mukaan yhden havainnon lehmät). Tulehdusten aiheuttaman muuntelun osuuden voidaan varianssianalyysin perusteella arvioida olevan 7 - 10 % kokonaisuunte-
lusta (taulukot 23 a ja b sekä 24 a ja b).

Laskemalla vuorosuhteita saadaan lisätietoa utaretulehduksen ja lysotsyymien mahdollisista yhteyksistä. Lysotsyymimäärän ja ennen määrittystä olleiden utaretulehdusten välinen korrelaatio on $0,28^{***}$. Vuorosuhde on siis positiivinen ja poikkeaa merkitsevästi nolasta. Mutta jos lasketaan osittaiskorrelaatio, missä poistetaan lehmän iän vaikutus utaretulehdusten määrään ($r = 0,56^{***}$), saadaan tulokseksi $r_{os} = 0,14^{-}$. Saatu korrelaatio ei enää anna varmuutta lysotsyymien ja tulehdusten väliselle vuorosuhteelle. Lysotsyymimäärällä ei havaittu myöskään olevan yhteyttä lehmissä jälkeenpäin todettuihin tulehduksiin ($r = 0,06^{-}$). Aineistosta tutkittiin myös, olisiko lysotsyymimäärillä yhteyttä siihen aikaan, mikä oli kulunut edellisestä utaretulehduksesta tai kului seuraavaan tulehdukseen. Aikaan edellisestä tulehduksesta ei saatu merkitsevää vuorosuhdetta ($r = 0,07^{-}$), mutta sensijaan saatiin melko varma negatiivinen korrelaatio aikaan seuraavaan tulehdukseen ($r = -0,26^{**}$). Mikäli tällainen vuorosuhde todella on olemassa, se tarkoittaisi, että mitä vähemmän maidossa on todettu lysotsyymiä sitä kauemman kuluisi aikaa seuraavaan tulehdukseen. Tämä voisi selittyä sillä, että lehmällä on aikaisemmin ollut

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	28953,66	81			367,11	100,0
tul.-luokkien väl. muuntelu	2299,06	2	1149,53	3,41 [※]	29,71	8,1
virhe- muuntelu	26654,60	79	337,40		337,40	91,9

Taulukko 23 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; tulehdusluokkien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	28953,66	81			377,31	100,0
tul.-luokkien väl. muuntelu	1985,60	1	1985,60	5,89 [※]	40,21	10,7
virhe- muuntelu	26968,06	80	337,10		337,10	89,3

Taulukko 23 b: sama kuin 23 a, mutta tulehdusluokat 1 ja 2 on yhdistetty.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var. %
kokonais- muuntelu	66623,95	163			421,35	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	209,37	1	209,37	↖ -	0,00	0,0
tul.-luokkien väl. muuntelu	4600,41	2	2300,21	↖ 5,95 ↗	35,01	8,9
virhe- muuntelu	61814,17	160	386,34	↖ ↗	386,34	91,7

Taulukko 24 a: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääritysten ja tulehdusluokkien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var. %
kokonais- muuntelu	66623,95	163			420,87	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	209,37	1	209,37	↖ -	0,00	0,0
tul.-luokkien väl. muuntelu	4600,41	2	2300,21	↖ 3,88 ↗	31,24	7,4
lehmien väl. m. tul.-luokk. sis.	26055,69	44	592,17	↖ 1,92 ↗	81,37	19,3
virhe- muuntelu	35758,48	116	308,26	↖ ↗	308,26	73,3

Taulukko 24 b: sama kuin 24 a ja lisäksi laskettu hierarkisesti lehmien välinen muuntelu tulehdusluokkien sisällä.

utaretulehdus ja sen ansiosta suuri maidon lysotsyymipitoisuus, ja että utaretulehdus kerran oltuaan melko varmasti toistuu. Terveellä lehmällä puolestaan olisi alhainen lysotsyymipitoisuus maidossaan ja se saattaisi olla kestävämpi utaretulehdusta vastaan, koska sillä ei ole aikaisempaa tartuntaa.

3. 4. 2. 3. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu ikäryhmien välillä.

Tutkimusaineiston lehmät ovat keskimäärin hyvin nuoria (\bar{x} 4,2 vuotta) iän vaihdella 2 - 8 vuoteen. Lehmät on aineiston käsittelyssä jaettu kolmeen eri ikäluokkaan, jotka ovat 2-3, 4-5 ja yli 6 vuotta. Taulukossa 25 nähdään havaintojen ja lehmien määrät eri luokissa sekä havaintojen perusteella laskettu keskimääräinen lysotsyymimäärä ja sen keskihajonta eri luokissa.

Taulukko 25: Lehmien ja havaintojen määrät sekä maidon lysotsyymisisältö keskimäärin eri ikäluokissa.

Ikäluokka	Lehmiä kpl	Havaint. kpl	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100$ ml	
			\bar{x}	s
2 - 3v	24	30	14,3	12,6
4 - 5v	11	19	6,0	11,7
> 6v	12	33	26,1	22,8

Kun verrataan keskiarvoja t-testillä, huomataan, että ne ovat merkitsevästi erilaisia:

$$2-3 \leftrightarrow 4-5 \quad |t| = 3,17^{***}$$

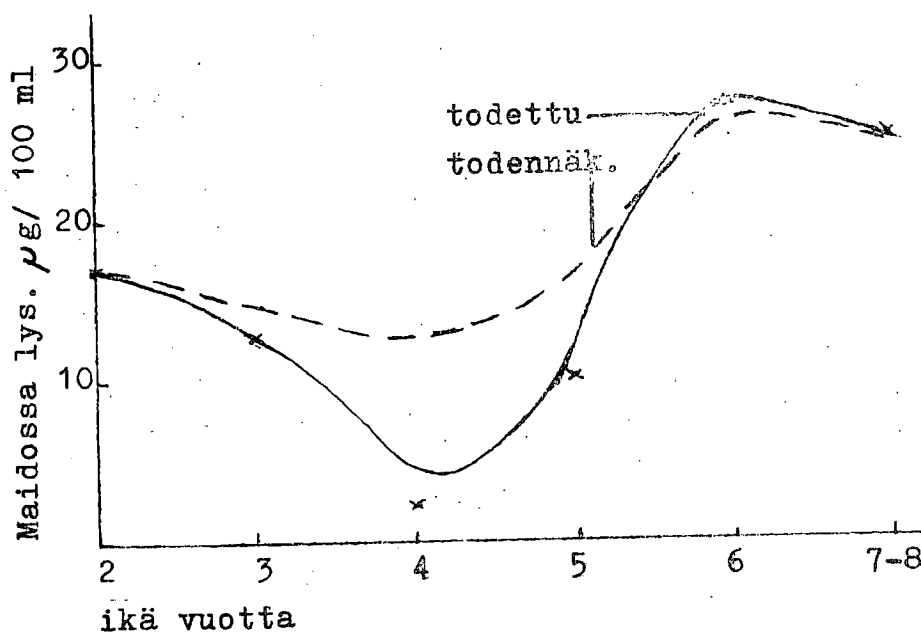
$$2-3 \leftrightarrow >6v \quad |t| = 2,58^{**}$$

$$4-5 \leftrightarrow >6v \quad |t| = 2,36^{**}$$

Vanhempien lehmien maidossa on siis merkitsevästi enemmän lysotsyymiä kuin nuorilla. Yhtä varmasti ei voida sanoa, onko 4-5 vuotiailla tosiaan vähiten

lysotsyymiä maidossaan, vai johtuuko tässä saatu arvio esimerkiksi pienestä havaintomäärästä tässä luokassa. Aineiston tilastollisesta käsittelystä poistetut ääriarvot sattuvat myös juuri tähän ikäluokkaan. Tuntuu siis todennäköiseltä, että kuvassa 10 esitetty käyrä on huomattavasti suoraviivaisempi. Tilastollisesti on kuitenkin varmaa, että lysotsyymiä on eniten noin 6-vuotiaiden lehmien maidossa.

Kuva 10: Maidon lysotsyymimäärät eri ikäluokissa.



Tutkittaessa ikäluokkien välistä muuntelua varianssi-analyysillä (taulukko 26 a ja b) huomataan, että muuntelu on erittäin merkitsevää sekä yksisuuntaisella että rinnakkaisella analyysillä laskien. Aikaisemmin suoritettu t-testi osoittaa, minkä luokkien välillä muuntelua on. Varianssianalyysin perusteella saadaan iästä johtuvan muuntelun osuudeksi noin 20 % kokonaisu-muuntelusta.

Lysotsyymimäärän korrelaatio ikään on $0,31^{**}$. Vuoro-suhde on siis positiivinen ja hyvin merkitsevä. Kos-ka ikä korreloituu erittäin merkitsevästi myös utare-

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	28953,66	81			385,31	100,0
ikäluokkien väl. muuntelu	5284,42	2	2642,21	↑ 8,82	85,70	22,0
virhe- muuntelu	23669,24	79	299,61	↓	299,61	78,0

Taulukko 26 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; ikäluokkien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	66623,95	163			439,04	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	209,37	1	209,37	-	0,00	0,0
ikäluokkien väl. muuntelu	10560,73	2	5280,37	↑ 11,56	88,24	20,1
lehmien väl. m. ikäal. sis.	20095,37	44	456,71	↑ 4,48	42,54	9,7
virhe- muuntelu	35758,48	116	308,26	↓	308,26	70,2

Taulukko 26 b: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääri-
tysten ja ikäluokkien välinen muuntelu sekä leh-
mien välinen muuntelu ikäluokkien sisällä hier-
arkisesti.

tulehdusten määrään ($r = 0,56^{***}$), on laskettu osittaiskorrelaatio, missä tulehdusten vaikutus on poistettu $r_{08} = 0,19^{(*)}$. Osittaiskorrelaatio ei aivan varmasti poikkea nolasta, mutta se pysyy kuitenkin positiivisena ja tukee käsitystä, että maidon lysotsyymimäärä on suurempi vanhemmilla eläimillä.

3. 4. 2. 4. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu eri laktaatiovaiheissa.

Tutkittavan aineiston lehmät edustavat kaikkia lypsyvaiheita. Aineiston käsittelyssä lehmät jaettiin lypsyvaiheen mukaan kolmeen ryhmään. Jako pyrkii noudattamaan normaalista laktaatiokäyrää, minkä perusteella on erotettu herumisvaihe, suoraviivainen tuotantovaihe sekä ehtymisvaihe lypsykauden lopussa. Aineiston jakautuminen näihin ryhmiin näkyy taulukossa 27 ja kuvassa 11.

Taulukko 27: Maidon lysotsyymimäärät sekä havaintojen määrät eri laktaatiovaiheissa.

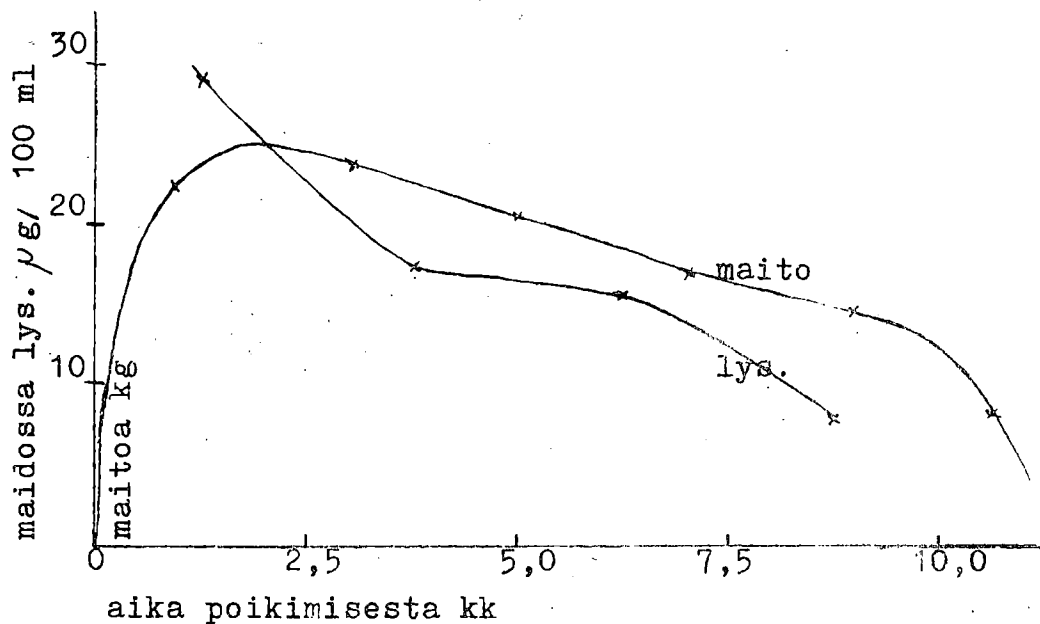
Aika poikimisesta kk	Havaint. kpl	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ml}$	
		\bar{x}	s
I < 2,5	17	29,3	23,5
II 2,5-7,5	48	16,4	17,4
III > 7,5	17	7,1	10,1

t-testi:

$$\begin{aligned}
 \text{I} \leftrightarrow \text{II} & \quad |t| = 2,07^* \\
 \text{I} \leftrightarrow \text{III} & \quad |t| = 3,57^{**} \\
 \text{II} \leftrightarrow \text{III} & \quad |t| = 2,63^{**}
 \end{aligned}$$

Lysotsyymiä näyttää siis olevan maidossa runsaimmin lypsykauden alussa, ja vielä normaalin laktaationkin aikana selvästi runsaammin kuin aivan lypsykauden lopussa. Suurta lysotsyymipitoisuutta lypsykauden

alussa voisi ehkä perustella sillä, että lehmä on tuotantohuipussa ollessaan herkin infektiolle, jolloin myös tätä "vasta-ainetta" on enemmän. (Tässä aineistossa on saatu hyvin merkitsevä positiivinen korrelaatio $0,37^{***}$ poikimisesta kuluneen ajan ja seuraavaan tulehdukseen kuluneen ajan välille.)



Kuva 11: Lehmien keskimääräiset tuotokset ja maidon lysotsyymimäärä laktaatiokauden aikana.

Myös varianssianalyysillä (taulukko 28 a ja b) havaitaan, että lysotsyymimäärän vaihtelu eri laktaatiovaiheiden välillä on hyvin merkitsevää. Laktaatiovaiheesta aiheutuvan muuntelun osuudeksi saadaan 16-18 % kokonaismuuntelusta.

Lysotsyymimäärän ja laktaatiovaiheen välinen korrelaatio on $-0,43^{***}$. Yhteys on negatiivinen ja poikkeaa erittäin merkitsevästi nolasta. Negatiivinen vuorosuhde osoittaa maidon lysotsyymimäärän laskevan melko voimakkaasti poikimisesta kuluneen ajan pidentessä. Koska maitotuotos on hyvin erilainen eri laktaatiovaiheissa, on tuotoksen mahdollinen vaikutus

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	28953,66	81			379,93	100,0
laktaatiovaih. väl. muuntelu	4236,52	2	2118,26	6,77	67,05	17,6
virhe- muuntelu	24717,14	79	312,88		312,88	82,4

Taulukko 28 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; laktaatio-
vaiheiden välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	66623,95	163			437,24	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	209,37	1	209,37	-	0,00	0,0
laktaatiovaih. väl. muuntelu	8464,62	2	4232,31	8,39	72,78	16,6
lehmien väl. m. lakt. sis.	22191,48	44	504,35	1,64	56,20	12,9
virhe- muuntelu	35758,48	116	308,26		308,26	70,5

Taulukko 28 b: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääri-
tysten ja laktaatiovaiheiden välinen muuntelu
sekä lehmien välinen muuntelu laktaatioluokkien
sisällä hierarkisesti.

poistettu osittaiskorrelaatiolla (tuotoksen ja lypsyvaiheen välinen korrelaatio on $-0,59^{***}$). Osittaiskorrelaatioksi saatiin $-0,38^{***}$. Lysotsyymimäärän ja laktaatiovaiheen välinen vuorosuhde on siis todellinen, eikä näytä suuresti riippuvan muista tekijöistä.

3. 4. 2. 5. Lysotsyymiaktiivisuuden vaihtelu eri tuotostasoilla.

Maitotuotoksen mittaajana on käytetty päivätuotosta. Tutkittavassa karjassa maito punnitaan kolme kertaa kuukaudesaa, joista otettiin mukaan lysotsyymimäärityspäivää lähinnä oleva punnitustulos. Punnituspäivän ja näytteenottopäivän eroksi tulee näin korkeintaan viisi päivää. Lehmien keskituotos oli 19,4 kg ja vaihtelua oli 0 -31 kg (karjan keskimääräinen laktaatiokäyrä on esitetty kuvassa 11). Havaintoaineisto on jaettu kolmeen tuotantoluokkaan ja lysotsyymimäärät eri luokissa esitetään taulukossa 29.

taulukko 29: Havaintojen jakautuminen eri tuotosluokkiin ja maidon lysotsyymisisältö eri luokissa.

Tuotos kg	Havaintoja kpl	Maidossa lys. $\mu\text{g/l}$ 100 ml	
		\bar{x}	s
I <17	28	12,7	18,0
II 17 -23	30	17,0	16,6
III >23	24	22,5	21,8

t-testin mukaan luokkien väliset erot lysotsyymimäärissä eivät ole merkitseviä:

$$\begin{aligned}
 I \leftrightarrow II & \quad |t| = 0,93^- \\
 I \leftrightarrow III & \quad |t| = 1,75^- \\
 II \leftrightarrow III & \quad |t| = 1,03^-
 \end{aligned}$$

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	28953,66	81			360,69	100,0
tuotostasojen väl. muuntelu	1245,75	2	622,87	1,78	9,96	3,0
virhe- muuntelu	27707,91	79	350,73		350,73	97,0

Taulukko 30 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; tuotostasojen välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	66623,95	163			414,44	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	209,37	1	209,37	-	0,00	0,0
tuotostasojen väl. muuntelu	2490,35	2	1245,18	1,95	11,07	2,7
lehmien väl. m. tuotost. sis.	28165,75	44	640,13	2,08	95,11	22,9
virhe- muuntelu	35758,48	116	308,26		308,26	74,4

Taulukko 30 b: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääri-
tysten ja tuotostasojen välinen muuntelu sekä
lehmien välinen muuntelu tuotostasojen sisällä
hierarkisesti.

Myöskään varianssianalyysin mukaan ei lysotsyymimäärissä ole eri tuotostasojen välillä merkitsevää muuntelua. Tuotostasojen välisen muuntelun osuus on vain noin 3 % kokonaismuuntelusta (taulukko 30 a ja b).

Jos katsotaan kuvaa 11, näyttävät tuotos- ja lysotsyymikäyrät hyvin samansuuntaisilta. Lysotsyymimäärän ja maitomäärän välillä onkin lievästi merkitsevä positiivinen korrelaatio $0,23^*$. Koska maitotuotokset on mitattu eri lypsyvaiheissa eri lehmillä, eivät ne ole keskenään samanarvoisia. Jos suoritamme lypsyvaiheen mukaisen korjauksen laskemalla osittaiskorrelaation (maitotuotoksen ja lypsyvaiheen välinen korrelaatio on $-0,59^{***}$), saadaan tulokseksi $-0,04^-$. Vuorosuhde lysotsyymien ja maitomäärän välillä näyttää siis häviävän kokonaan.

Maitotuotos on korreloitunut voimakkaasti myös lehmän ikään ($r = 0,48^{***}$). Jos lasketaan osittaiskorrelaatio, jolla pyritään poistamaan sekä iän että lypsyvaiheen vaikutus maitomäärään, saadaan tulokseksi $-0,16^-$. Jos näin saatu negatiivinen vuorosuhde on todellinen, olisi korkeilla tuotostasoilla maidossa alhaisempi lysotsyymipitoisuus. Tällaisen vuorosuhteen olemassaoloa voisi perustella olettamuksella, että tulehdukset laskevat tuotantoa ja nostavat vasta-ainemääriä maidossa.

Taulukko 31: Tutkimusaineistosta saatuja korrelaatioita.

	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
1. Lysootsyymien määrä								
2. Ikä	0.305							
3. Päivätuotos	0.227	0.475						
4. Lypsyyveihe (aika poikim.)	-0.431	-0.230	-0.588					
5. Tulehd. määrä ennen määritystä	0.278	0.558	0.253					
6. Aika viimeisestä tulehduksesta	0.072	0.014	0.245	-0.224				
7. Aika seuraavaan tulehdukseen	-0.263	-0.232	-0.164	0.372	-0.197			
8. Tulehd. määrä jälkeen määrityksen	-0.061	0.084	0.137		0.213			

3. 4. 3. Lysotsyymiaktiivisuuden periytyminen.

3. 4. 3. 1. Isien välisen muuntelun perusteella arvioituna.

Tutkittaessa isien välistä muuntelua pitää isällä olla vähintään kaksi jälkeläistä. Tässä aineistossa on vain kahdeksan tällaista isää. Näillä on 2 -6 jälkeläistä (yhteensä 25), joilta on 39 havaintoa. Isien välisten erojen arviointi perustuu siis hyvin pieneen aineistoon.

Isittäin lasketut keskimääräiset lysotsyymimäärät vaihtelevat 0,0 - 33,9 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa. Yksisuuntaisella varianssianalyysillä ei saada merkitsevää muuntelua isien välille (taulukko 32 a). Jos laajennetaan aineisto käsittämään myös rinnakkaismääritykset ja lasketaan rinnakkainen varianssianalyysi (taulukko 32 b ja c), saadaan heikko tilastollinen merkitsevyys isien väliselle muuntelulle. Isien välisen muuntelun osuudeksi saadaan 8 - 10 % kokonaismuuntelusta.

Rinnakkaisen varianssianalyysin perusteella pystytään laskemaan puolisisariin perustuva periytymisasteen arvio maidon lysotsyymipitoisuudelle. Täten saadaan arvio:

$$h^2 = \frac{4 \cdot 27,24}{27,24 + 283,78} = 0,35$$

Jos lasketaan myös heritabiliteetin keskivirhe, saadaan periytymisasteen arvioksi $0,35 \pm 0,38$. Suuri heritabiliteetin keskivirhe osoittaa saadun arvion hyvin epävarmaksi. Koska keskivirheen arviointi perustuu isien määrään ja jälkeläisten määrään isää kohti, voidaan todeta aineisto liian pieneksi varman periytymisasteen arvion saamiseksi. Saatu tulos osoittaa kuitenkin, että perinnöllistä muuntelua on

Muuntelulähde	MS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	9773,22	38				
isien välinen muuntelu	943,86	7	134,84	-		
virhe- muuntelu	8829,36	31	284,82			

Taulukko 32 a: Yksisuuntainen varianssianalyysi; isien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	MS	Va	KN	F	Var.	Var.%
kokonais- muuntelu	23556,39	77			311,02	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	130,00	1	130,00	-	0,00	0,0
isien välinen muuntelu	3845,62	7	549,37	1,94 ^(*)	27,24	8,8
virhe- muuntelu	19580,77	69	283,78		283,78	91,2

Taulukko 32 b: Rinnakkainen varianssianalyysi; rinnakkaismääri-
tysten ja isien välinen muuntelu.

Muuntelulähde	NS	Va	KN	F	Ver.	Ver. %
kokonais- muuntelu	23556,39	77			312,46	100,0
rinnakkaismäär. väl. muuntelu	130,00	1	130,00	-	0,00	0,0
isien välinen muuntelu	3845,62	7	549,37	2,45	33,37	10,7
lehmien välinen muuntelu	9499,58	24	395,82	1,77	55,06	17,6
virhe- muuntelu	10081,19	45	224,03		224,03	71,7

Taulukko 32 c: sama kuin 32 b sekä lisäksi lehmien välinen muuntelu.

olemassa, vaikka ei annakaan varmuutta sen määrästä.

3. 4. 3. 2. Emä-tytärpareittain tarkasteltuna.

Koska tutkimusaineisto koostuu yhdestä karjasta, siitä löytyy myös emä-tytärpareja sekä puolisisaria emän suhteen. Jos tarkastellaan maidon lysotsyymimääriä emä-tytärpareilla (taulukko 33), voidaan havaita melko selvää yhdenmukaisuutta. Mielenkiintoiselta näyttää varsinkin se, että lysotsyymiä joko on kummallakin tai ei ole kummallakaan.

Taulukko 33: Maidon lysotsyymimäärät emillä ja tyttärillä.

emä		tytär	
nro	maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$	nro	
1	46,7	39	26,6
1	46,7	44	21,4
4	0,0	14	0,0
5	28,9	43	13,2
9	0,0	22	0,0
10	22,1	21	90,3
11	1,6	41	7,0
12	31,2	25	4,7
15	2,5	40	9,2

Sisarusten välillä voidaan havaita saman suuntaisen tendenssi, joskaan ei yhtä selvästi (taulukko 34). Havaintomäärät ovat kuitenkin niin pieniä, että havaittuja yhdenmukaisuuksia ei voida osoittaa tilastollisella varmuudella.

Taulukko 34: Maidon lysotsyymimäärät saman emän eri tyttärillä (rastilla merkityt ovat täyssisaria).

emä nro	Maidossa lys. $\mu\text{g}/100\text{ ml}$		
	tytär 1	tytär 2	tytär 3
1	46,7	31,3	
2 R	0,0	13,9	
3	28,9	0,0	
4	22,1	2,5	24,4
5	1,6	4,9	
6 R	26,6	21,4	

4. TULOSTEN TARKASTELU

Tässä tutkimuksessa saatuja tuloksia ei voida yleistää suurempaa populaatiota, esimerkiksi koko suomalaista ayrshirekarjaa, koskevaksi. Aineisto ei nimittäin ole satunnainen näyte populaatiosta, vaan käsittää ainoastaan yhden karjan. Tällaisesta aineistosta ei pystytä poistamaan karjan erityispiirteiden vaikutusta tuloksiin eikä myöskään aineiston koko ole riittävän suuri.

Suurin syy aineiston suppeuteen on määrittämissä. Koska määritykset piti tehdä tuoreesta maidosta ja maksimi koeputkimäärä näytteiden käsittelyssä oli kahdeksan, saatiin päivittäin käsiteltäviä korkeintaan neljän lehmän maitonäytteet. Määrittämissä menetelmä sinänsä (hitaus poisluettuna) osoittautui käyttökelpoiseksi ja tyydyttävän tarkaksi. Rinnakkaismäärittämissä välinen korrelaatio oli 0,76^{***} eikä varianssianalyysillä todettu rinnakkaismäärittämissä välillä olevan merkitsevää muuntelua.

Lopullinen aineisto käsitti 82 maitonäytettä 47 lehmältä ja lysotsyymimäärittämissä tehtiin kaikkiaan 164. Lysotsyymiaktiivisuus todettiin 61 maitonäytteessä (74 %), mikä suuruusluokaltaan vastaa KORHOSEN (1973) saamaa 61 %:a. Maidon lysotsyymimäärä vaihteli 0,0 - 237,0 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$, painotettu keskiarvo oli 17,1 ja hajonta 13,8 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ maitoa. Lysotsyymimäärä on hyvin samansuuruinen kuin muidenkin toteamat (KORHONEN 1973, SHAHANI ym. 1962). Suuri hajonta osoittaa lysotsyymimäärän

vaihtelevan suuresti. Suurta vaihtelua on todettu varsinkin yksilökohtaisesti jopa peräkkäisinä määrityspäivinä. Myöskin SHAHANI ym. ovat havainneet päivittäisen vaihtelun ja KORHONEN on todennut päivittäisen vaihtelun riippuvan maidon soluluvun vaihteluista. Myöskin utareneljänneksittäin tutkittaessa on havaittu selviä eroja, ja lysotsyymimäärä näyttäisi olevan erityisen suuri sellaisissa neljänneksissä, joissa on ollut utaretulehdus. SHAHANI ym. ovat myös todenneet neljännesten välillä vaihtelua, mutta he eivät havainneet siinä mitään säännönmukaisuutta. Edelleen on havaittu aamumaidossa suurempi lysotsyymipitoisuus kuin iltamaidossa samoin kuin SHAHANIN ym. tutkimuksissa.

Aineistosta pyrittiin selvittämään eri tekijöiden, kuten eläimen iän, laktaatiovaiheen ja tuotostason vaikutusta maidon lysotsyymimäärään. Varianssianalyysin mukaan ikäluokkien välinen muuntelu on erittäin merkitsevää. Iän ja lysotsyymimäärän väliseksi korrelaatioksi saatiin $0,31^{***}$ ($0,19^{**}$), kun utaretulehdusten vaikutus on poistettu). Lysotsyymimäärä näyttää siis suuremmalta vanhempien (6 - 8 v) lehmien maidossa samoin kuin SHAHANIN ym. tutkimuksissa (4 - 8 v). Lysotsyymien todettiin hyvin merkitsevästi vähenevän maidossa laktaatiokauden loppua kohti ($r = -0,43^{***}$; $-0,38^{***}$ tuotoksella korjattuna). SHAHANI ym. eivät ole todenneet riippuvuutta laktaatiovaiheesta, mutta MANASJANIN ja GRIGORJANIN (1969) mukaan lysotsyymimäärä on suuri 6 - 7 kuukautta laktaatiokauden alussa. Lehmien tuotostason ei todettu sanottavasti vaikuttavan lysotsyymimäärään ($r = -0,16 - +0,23$). Myöskään SHAHANI ym. eivät todenneet yhteyttä maitotuotokseen, mutta EMELYANOV ja KULAKOVA (1968) ovat sitä mieltä, että runsastuottoisten lehmien maidossa on normaalia suurempi lysotsyymipitoisuus.

Tutkimuksen yhtenä päätarkoituksena oli tutkia maidon lysotsyymiin ja utaretulehduksen välistä yhteyttä. Tämän aineiston mukaan näyttäisi tulehduslehmien maidossa olevan merkitsevästi enemmän lysotsyymiä kuin terveiden lehmien maidossa ($r = 0,28^{***}$ lysotsyymimäärän ja tulehdusten esiintymisen välillä; $0,14$ iällä korjattuna). Tulosta voidaan pitää samansuuntaisena kuin KORHOSEN toteamusta, että maidon lysotsyymimäärä riippuu sen soluluvusta. Myös KLOCKARSIN (1975) kokeet leukeemisilla rotilla osoittavat vieraiden solujen lisäävän lysotsyymiin muodostusta. Mutta tulokset ovat täysin ristiriidassa sen käsityksen kanssa, että terveiden ja resistenttien lehmien maidossa on runsaimmin lysotsyymiä (MUTOVIN & YATSUK 1968, EMELJANOV & KULAKOVA 1968 ja MANASJAN & GRIGORJAN 1969). On kuitenkin huomioitava, että aineistossa ei todennäköisesti ollut yhtään todella resistenttiä eläintä (kokeen aikana terveiksi luokitellut yksilöt olivat nuoria eläimiä, jotka yleensä sairastuivat myöhemmin).

Aineiston pienuuden vuoksi ei lysotsyymiaktiivisuuden periytyvyydestä saatu tarkkaa arviota. Puolisisarten perusteella saatiin kuitenkin heritabiliteetin arvioksi $0,35 \pm 0,38$. Myöskin muiden sukulaisuuksien perusteella (emä-tytärparit) suoritettut vertailut tukevat aikaisempia käsityksiä lysotsyymiaktiivisuuden periytyvyydestä (JOLLES 1969, KRÜGER ym. 1969).

Tämä tutkimus ei osoita lysotsyymillä olevan ennaltaehkäisevää vaikutusta utaretulehduksiin. Myöskään ei saatu todisteita siitä, että suuri lysotsyymimäärä maidossa olisi osoitus resistenssistä utaretulehdukseen vastaan. Lysotsyymiin on kuitenkin todettu vaikuttavan juuri pahimpiin utaretulehduksen aiheuttajiin (staphylokokit ja streptokokit, SALTON 1957)

ja alentavan taudinaiheuttajien patogeenisuutta.

Jotta lysotsyymien todellinen merkitys selviäisi, pitäisi suorittaa perusteellisempia tutkimuksia laajemmalla aineistolla. Ennen kaikkea pitäisi tutkimukseen saada todella resistenttejä lemmiä, jotta selviäisi, voidaanko lysotsyymien (tai ehkä jonkin muun aineen) avulla tunnistaa resistentit eläimet. Mikäli suuri lysotsyymipitoisuus osoittautuisi selvästi hyödylliseksi ominaisuudeksi, voitaisiin sonnienkin osalta suorittaa valintaa (tai ainakin kokeita ja tarkkailua) esimerkiksi seerumin lysotsyymien perusteella.

5. YHTEENVETO

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää maidon lysotsyymiaktiivisuuden ja utaretulehduksen välistä yhteyttä, lysotsyymiaktiivisuuden riippuvuutta eri tekijöistä sekä lysotsyymiaktiivisuuden periytyvyyttä.

Aineistona oli Viikin opetus- ja koetilan ayrshirekarja ja määritykset tehtiin Helsingin yliopiston maitotalouslaitoksella. Määritykset tehtiin spektrofotometrisenä mittauksena lähinnä PARRYn ym. (1965) menetelmää soveltaen. Menetelmä osoittautui melko hyväksi, ja rinnakkaismääritysten väliseksi korrelaatioksi saatiin $0,76^{***}$. Yhteensä suoritettiin 164 lysotsyymimääritystä 82 maitonäytteestä 47 lehmältä.

Lysotsyymiaktiivisuus todettiin 74 %:lla näytteistä ja 78 %:lla lehmistä. Maidon lysotsyymimäärät vaihtelivat $0,0 - 237,0 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$, painotettu keskiarvo oli 17,1 ja hajonta $13,8 \mu\text{g}/100 \text{ ml}$ maitoa. Lysotsyymiaktiivisuuden todettiin vaihtelevan päivittäin; eri utareneljänneksissä siten, että lysotsyymiä oli enemmän tulehtuneissa neljänneksissä; sekä lypsyn aikana niin, että lysotsyymiaktiivisuus oli pienin lypsyn lopussa. Edelleen havaittiin aamumaidossa olevan enemmän lysotsyymiä kuin iltamaidossa. Maidon keittämisen (10 min) todettiin tuhoavan lysotsyymiaktiivisuuden.

Maidon lysotsyymiaktiivisuuden havaittiin erittäin merkitsevästi riippuvan eläimen iästä ($r = 0,31^{**}$).

Suurin lysotsyymimäärä oli noin 6-vuotiaiden lehmien maidossa. Lysotsyymimäärissä todettiin myös hyvin merkitseviä eroja laktaatiokauden eri vaiheissa ($r = -0,43^{***}$ lys.-määrän ja poikimisesta kuluneen ajan välillä) ja vähiten lysotsyymiä oli maidossa laktaatiokauden lopussa ($>7,5$ kk poikimisesta). Maidon lysotsyymimäärissä ei havaittu merkitsevää tuotostasosta johtuvaa vaihtelua.

Ryhmiteltäessä aineistoa utaresairauksien perusteella havaittiin, että utaretulehduslehmien (vähintään yksi tulehdus ennen määrittystä) maidossa oli merkitsevästi enemmän lysotsyymiä ($r = 0,28^{**}$) kuin terveiden lehmien maidossa. Korkeamman lysotsyymiaktiivisuuden ei kuitenkaan havaittu estävän lehmää sairastumasta uudelleen ($r = -0,26^x$ lys.-määrän ja seuraavaan tulehdukseen kuluneen ajan välillä).

Lysotsyymiaktiivisuuden heritabiliteetiksi saatiin $0,35 \pm 0,38$ kahdeksan isän ja 25 puolisisaren perusteella. Vaikka isien välinen muuntelu on vähäistä, on se kuitenkin osoitus perinnöllisen muuntelun olemassaolosta. Lysotsyymiaktiivisuuden periytyvyyteen viittaavat myös emä-tytärpareittain havaitut yhtäläisyydet.

Koska tutkimusaineisto käsitti vain yhden karjan, ei tuloksia voida pitää ehdottomina vaan ainoastaan suuntaa-antavina. Maidon lysotsyymiaktiivisuuden merkityksen tarkempi selvittäminen vaatisi monipuolisempaa tutkimusta laajemmalla aineistolla.

6. KIRJALLISUUTTA

- AFIFI, Y. 1967. Genetical and some environmental influences affecting the level of leucocyte counts in milk of cows. Thesis. Wageningen, (Ref. Anim. Breed. Abstr. 36: 2457.)
- ANON., 1966. Nautaeläinten utaretulehduksen vastustamistoimikunnan mietintö. Komiteamietintö 1966: B 87. Helsinki 1966, IV. 21 s.
- , 1975 a. Piilevä utaretulehdus harmillinen karjoissa. (Maitohygienialiitto) Maas. Tulev. 59: 31.
- , 1975 b. Maataloustilastollinen kuukausikatsaus. 1975: 2.
- CHANDAN, R., PARRY, R. Jr. & SHAHANI, K. 1968. Lysozyme, lipase and ribonuclease in milk of various species. J. Dairy Sci. 51: 606-607.
- CRAPLET, C. 1963. Part VI Diseases. The dairy cow: 381-. Lontoo.
- DODD, F. & NEAVE, F. 1951. Machine milking rate and mastitis. J. Dairy Res. 18: 240-245.
- EMELYANOV, A. & KULAKOVA, N. 1968. Variation in muramidase titer of cows milk during lactation. Dokl. vses. Akad. sel'skokhoz. Nauk, 1968 (10): 22. (Ref. Dairy Sci. Abstr. 31: 655.)
- FLEMING, A. 1922. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. Roy. Soc. 93: 306-317. (Ref. KLOCKARS 1975)
- GAUNYA, W. & MAPHER, R. 1962. Heritability of resistance to bovine mastitis. J. Dairy Sci. 45: 1577-.
- HOLLANDER, H. 1969. Genetische Grundlagen der Mastitisresistenz beim Rind. Diss. 85 s. Giessen.

- HUTT, F. 1958. Genetic resistance to disease in domestic animals. 198 s. Lontoo.
- JOHANSSON, I. 1957. Untersuchungen über die Variation in der Euter und Strichform der Kühe. Z. Tierz. Züchtungsbiol. 70: 233-270.
- JOLLES, P. 1964. Neuere Untersuchungen an Lysozymen. Angew. Chem. 76: 20. (Ref. KORHONEN 1973)
- , 1969. Lysozyme: Ein Kapitel Molekularbiologie. Angew. Chem. 81: 244. (Ref. KORHONEN 1973)
- KLOCKARS, M. 1975. Biochemical and immunohistochemical studies of lysozyme in normal, germ-free and leukemic rats and observations on the non-antibacterial effects of lysozyme on cells in vitro. Soc. Sci. Fenn. Comment. Biol. 1975: 78.
- KORHONEN, H. 1973. Untersuchungen zur Bacterizidie der Milch und Immunisierung der bovinen Milchdrüse. Meijeritiet. Aikak. 32: 3.
- KOSSILA, V., SEPPÄLÄ, A. & PAULAMÄKI, M. 1967. Laktaatiokauden vaiheen, iän ja utaretulehdusten vaikutuksesta vastalypsetyn maidon pH- ja ³⁵S-arvoihin sekä utaretulehdusreaktion. Karjantuote 1967: 12.
- KRÜGER, L. ym. 1969. Enzymaktivitäten bei Rind, Schwein und Schaf und ihre Eignung für die Zuchtwahl. EAAP Kongr. Helsinki 1969.
- LEGATES, J. & GRINNELLS, C. 1952. Genetic relationships in resistance to mastitis in dairy cattle. J. Dairy Sci. 35: 829-833.
- LEGOSIN, G. 1966. The resistance to mastitis of cows of various breeds and its heritability. Sb. nauch. Rab. vses. nauchno-issled. Inst. Zhivot. 2: 72-76. (Ref. Anim. Breed. Abstr. 35: 1261.)
- LISITZIN, P. 1962. Utaretulehdus. 103 s. Helsinki.

- LUSH, J. 1950. Inheritance of susceptibility to mastitis. *J. Dairy Sci.* 33: 121-125.
- MAIJALA, K. 1964. Karjantarkkailun sairasmaerkintöjen jalostuksellisesta merkityksestä. *Maatal. ja Koetoim.* 18: 239-248.
- MANASJAN, A. & GRIGORJAN, G. 1969. Behandlung von Rindermastitis mit Lysozymmilch. *Intern. Z. Landw.* 1969: 673-674.
- MURPHY, J. & STUART, O. 1955. *Cor. Veter.* 45:262. (Ref. HUTT 1958)
- MUTOVIN, V. & YATSUK, M. 1968. Contents of leucocytes and other cells in milk in relation to muramidase content. *Trudy vses. nauchno-issled. Inst. Vet. Sanit.* 30: 88-110. (Ref. *Dairy Sci. Abstr.* 31: 3060.)
- O'BLENESS, G., Van VLECK, L. & HENDERSON, C. 1960. Heritabilities of some type appraisal traits and their genetic and phenotypic correlations with production. *J. Dairy Sci.* 43: 1490-1498.
- PANTJUHOVA, O. 1969. Effect of lysozyme on survival and fertilising ability of spermatozoa. *Moloch.-m'yas. Skotarst. Kȳyiv* 14: 79-81. (Ref. *Anim. Breed. Abstr.* 38: 1374.)
- PARRY, R., Jr., CHANDAN, R. & SHAHANI, K. 1965. A rapid and sensitive assay of muramidase. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119: 384.
- PHILPOT, W. 1975. Better Udder Health. *Hoard's Dairyman* 120: 3.
- POLITIEK, R. 1968. Selection on ease of milking worth while? *World Rev. Anim. Prod.* 4 (16): 94-98.
- PROBST, A., BEHRINGER, J. & KIERMEIER, F. 1968. Zur Frage prädisponierender Faktoren bei Mastitis. *Züchtungskunde* 40: 248-253.
- RENDEL, J. & SUNDBERG, T. 1962. Factors influencing the type and incidence of mastitis in Swedish dairy cattle. *Acta Veter. Skand.* 3: 13-32.

- RYNIEWICZ, Z. 1971. Some observations on the bulls role in the hereditary resistance to mastitis of cattle. Atti V Simp. Int. Zootec. Milano 1970: 847-852. (Ref. Anim. Breed. Abstr. 39: 4515.)
- SALTON, M. 1957. The properties of lysozyme and its action on microorganisms. Bact. Rev. 21:82.
- SAUTER, E., PETERSEN, C. & STEELE, E. 1970. The relationships of the lysozyme fraction in thick egg white to fertility and hatchability of eggs. Poultry Sci. 49: 987-991.
- SCHMIDT, G., MERRILL, W. & GUTHRIE, R. 1964. Relationships of milking times, procedures and installations to level of milk production and incidence of mastitis. Ithaca 1964. 29 s. Cor. Univ. Agric. Exp. Sta. Bull. 996.
- & Van VLECK, L. 1965. Heritability estimates of udder disease as measured by various tests and their relationship to each other and to milk yield, age and milking times. J. Dairy Sci. 48: 51-55.
- SEIFERT, H. 1975. Unspezifische Resistenzfaktoren und ihre Bedeutung für die Widerstandskraft von Haustieren. Der Tierzüchter 27: 146-149.
- SHAHANI, K., CHANDAN, R., KELLY, P. & MACQUIDDY, E., Sr. 1962. Determination of lysozyme in milk and factors affecting its concentration and properties. XVI Int. Dairy Congr., København, C. 285.
- VAKIL, J., CHANDAN, R., PARRY, R. & SHAHANI, K. 1969. Susceptibility of several microorganisms to milk lysozymes. J. Dairy Sci. 52: 1192-.
- VELITOK, I. 1971. Heritability of morphological and functional parameters of the cows udder. In Genetika i selektsiya na Ukraine. Ch. 2. Kiev: Nauk. Dumka, P. 6. From abstr. in Referat. Zh. Zhivot. Vet. 1971 (10). No 10. 58, 366. (Ref. Anim. Breed. Abstr. 40: 1721.)

- VUORINEN, R. 1963. Nautaeläinten utaretulehdus.
Suuri eläinlääkärikirja: 322-. Helsinki.
- WARD, A. 1939. Emp. J. Exper. Agric. 7: 350. (Ref.
HUTT 1958.)
- , 1945. N. Z. Dairy Board, 21st Ann. Report 59.
(Ref. HUTT 1958.)
- WILTON, J., Van VLECK, L., EVERETT, R., GUTHRIE, R.
& ROBERTS, S. 1972. Genetic and environmental
aspects of udder infections. J. Dairy Sci. 55:
183-193.
- YOUNG, C., LEGATES, J. & LECCE, J. 1960. Genetic
and phenotypic relationships between clinical
mastitis, laboratory criteria and udder height.
J. Dairy Sci. 43: 54-62.

Liite 3: Karjakortiston

sairausmerkintöjen numerointi ja tulkinta

20 Tapaturma tai loukkaantuminen

21 Vieras esine etumahoissa (naula, hiekka, jne.)

29 Muut tapaturmat (rovähtymät, jne.)

30 Utaretulehdus tai muu utarevika

31 "Tarttuva utaretulehdus" = St. agalactiae

32 Äkillinen, muusta tartunnasta johtuva utaretulehdus =
muut streptokokit, koliform, mikrokokit (yleensä maito muut-
tunut)

33 Krooninen utaretulehdus = stafylokokit

34 Septinen utaretulehdus, "vaikea utaretulehdus", verenvyr-
kytys (kuumetta) = E. Coli

35 Vedintukkeumat tai tiukkalypsyisyys (tai Thelitis vedin-
kanavassa)

36 Vuotavat vetimet

37 Vedinten ja utareen loukkaumat (polkemat, piikkilangan
haavat, "verinen maito")

38 Utaretulehdus (=maito sakkautunut, bakteriologisesti
kielteinen, runsaasti soluja CMT-testissä)

39 Muut utareen tai vetimien sairaudet (syyliät, Thelitis,
jne.)

40 Poikimiseen liittyvät sairaudet

41 Poikimahalvaus, välitön (myös PH:n oireet)

42 Jälkeisten jähminen, vuoto kohdusta (ensint. 2 viikkoa poi-
kimisestä), kuume ja ruokahaluttomuus oireina

43 Kohdun (tai emättimen) esiinluiskahdus

44 Epämuodostuneista sikiöistä aiheutunut vaikea synnytys

45 Muu vaikea synnytys (ahtaat paikat, jne.)

46 Kuolleena syntynyt vasikka

47 Luotu tai mumioidunut vasikka (kuolleen ja luodun raja
n. 1 kk ennen poikimista)

49 Muut poikimiseen liittyvät sairaudet

KOTIELÄINJALOSTUKSEN TIEDOTE-SARJASSA ILMESTYNYT:

1. UUSITALO, H., 1975. Valintaindeksien rakentaminen kanojen jalostusarvostelua varten. Lisensiaattityö, 119 s.
2. RUOHOMÄKI, Hilikka, 1975. Nuoren lihanaudan teurasominaisuuksien arvioimisesta. Lisensiaattityö 197 s.
3. MAIJALA, K., 1975. Kotieläinjalostus ja sen tutkimus. Esitelmä maataloustutkimuksen päivillä, 26 s.
4. HELLMAN, T., 1975. Maidon lysotsyymiaktiivisuudesta ja utaretulehduksesta Viikin karjassa. Pro gradu-työ, 77 s.

ISBN 951 - 45 - 0666 - 9