

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

10

ČÍSLO 28 (LVI)
PRAHA
ČERVEN 1983
CENA 10 Kčs
ISSN 0590-5214



ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Řídí redakční rada:

prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc. (předseda), akademik Koloman Boďa, doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., MVDr. Miroslav Dvořák, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Miloš Halaša, CSc., prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., MVDr. Evžen Jurák, CSc., prof. MVDr. Ladislav Polák, CSc., MVDr. Josef Straka, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc., akademik Jaroslav Oto Vrtiak

Za vedení časopisu odpovídá ing. Miroslav Štěpánek

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1983

■

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství. Vychází měsíčně. Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—.

■

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о решенных задачах по научному исследованию в области ветеринарии. Издает Чехословацкая сельскохозяйственная академия — Институт научно-технической информации по сельскому хозяйству. — Выход в свет ежемесячно. Редакция 120 56 Прага 2, Слезска 7.

■

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Czechoslovak Academy of Agriculture — Institute of Scientific and Technical Information for Agriculture. Issued monthly. Editorial office 120 56 Prague 2, Slezská 7.

VLIV SVĚTELNÉHO REŽIMU NA BIOCHEMICKÉ UKAZATELE KRVĚ, SÉRA A MOČE JALOVIC V PRŮBĚHU ŘÍJOVÉHO CYKLU

J. Urbanová, J. Drybčák, Z. Věžník, B. Vojtíšek, P. Alexa, V. Holčák, P. Kaláb, F. Pecka

URBANOVÁ, J. — DRYBČÁK, J. — VĚŽNÍK, Z. — VOJTÍŠEK, B. — ALEXA, P. — HOLČÁK, V. — KALÁB, P. — PECKA, F. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv světelného režimu na biochemické ukazatele krve, séra a moče jalovic v průběhu říjového cyklu*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 577-584.

Sledovali jsme dynamiku 38 biochemických ukazatelů krve, séra a moče deseti jalovic v průběhu říjového cyklu ve světlé (80—340 luxů) a tmavé (10—40 luxů) malokapacitní stáji. Ve světlé stáji bylo v průběhu říjového cyklu jalovic významně ($P < 0,05$) ovlivněno pět ukazatelů a v tmavé stáji devět ukazatelů, z nichž čtyři byly v obou stájích ovlivněny shodně: v krvi hematokrit a hemoglobin a v séru cholesterol a progesteron, jehož vztah k jednotlivým dnům cyklu byl výrazný zvláště ve světlé stáji. Meziskupinové vyhodnocení ukazatelů prokázalo, že rozdílný světelný režim významně ovlivnil ($P < 0,05$) v některých dnech říjového cyklu hladiny anorganického fosforu, celkových bílkovin i aktivitu aminotransferázy aspartátu (AST) v séru a hematokrit, hemoglobin i ketolátky v krvi jalovic. Neovlivnil však hladiny progesteronu, které byly sice vyšší ve světlé stáji, ale rozdíl proti tmavé stáji nebyl statisticky významný. Signifikantní rozdíl mezi skupinami jsme zjistili u hladin sodíku a fosforu v moči ($P < 0,05$) mezi prvním a desátým dnem cyklu. Rozdíly mezi říjovým cyklem jalovic ve světlé a tmavé stáji jsme nezjistili. Ani délka říje nebyla významně změněna, pouze její výraznost byla v tmavé stáji slabší.

světlá a tmavá stáj; říjový cyklus; dynamika vnitřního prostředí

K závažným faktorům, které tvoří mikroklima stáji, patří vedle teploty, relativní vlhkosti a proudění vzduchu také světlo. Světelný režim má významný vliv na stabilizaci zdraví i na užitkovost zvířat a ovlivňuje jejich reprodukční procesy (Mehlhorn, 1978); intenzita světla musí přitom zachovávat určitou prahovou úroveň (Schwerdtfeger, 1963).

Na fyziologické zdroje variability biochemických ukazatelů vnitřního prostředí dojníc, jako je vliv ročního období, věku, plemene nebo cirkadianního rytmu, upozornili již různí autoři (Gartner aj., 1966; Hewett, 1974; Kubiński, 1980; Stämpfli aj., 1981; Unshelm a Rappen, 1968). Velké množství ukazatelů bývá ovlivněno také v období inseminace, březosti, porodu a laktace dojníc (Čeremisev aj., 1981; Kirchner aj., 1977; Rowlands, 1980).

Cílem naší práce bylo ověřit, zda rozdílná intenzita světla ovlivňuje biochemické ukazatele krve, séra a moče jalovic v průběhu jejich říjového cyklu, a přispět tak k objasnění dynamiky těchto ukazatelů.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu bylo zařazeno 10 jalovic plemene české strakaté ve věku 16 měsíců o hmotnosti 380 až 400 kg, jejichž krmná dávka byla složena ze sena, slámy, DOB směsi i zelené píce a odpovídala požadavkům ČSN 46 7070 (1966); napájení bylo zabezpečeno automatickými napajecemi *ad libitum*. Zvířata pocházela z jednoho zemědělského podniku.

Vliv světelného režimu na dynamiku vybraných ukazatelů vnitřního prostředí v průběhu říjového cyklu byl ověřován v malokapacitní stáji Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně. Stáj byla příčně rozdělena na dvě samostatná oddělení, z nichž jedno bylo trvale zatemněno a druhé mělo přirozené denní světlo. V každém oddělení bylo ustájeno pět jalovic; na podmínky vnějšího prostředí se adaptovaly 45 dní. Větrání bylo samotížné, s přívodními otvory umístěnými v podélných a příčných stěnách stáje (okna a dveře). V obou odděleních byly ambulantně sledovány tyto vybrané parametry stájového mikroklimatu: intenzita denního osvětlení luxmetrem PÚ 150, teplota suchým teploměrem Assmannova psychrometru, relativní vlhkost Assmannovým aspiračním psychrometrem, rychlost proudění vzduchu C-metrem a obsah kyslíčnicku uhlíčitého detekčními trubičkami fy Labora. Měření bylo prováděno třikrát týdně v ranních (6.30) a odpoledních (13.00) hodinách.

Biochemická vyšetření zahrnovala stanovení 29 ukazatelů v krvi a krevním séru jalovic a devět ukazatelů v jejich moči.

V krevním séru jsme stanovili sodík a draslík metodou plamenové fotometrie (Homolka, 1969), anorganický fosfor fotometricky podle Urbach-Raabeho (cit. Homolka, 1969). Aktivita aminotransferázy aspartátu (EC 2.6.1.1) (AST), alaninu (EC 2.6.1.2) (ALT), alkalické fosfatázy (EC 3.1.3.1) (ALP) a gamaglutamyltranspeptidázy (EC 2.3.2.1) (GMT), hořčík, celkové bílkoviny, chloridy, měď, močovina a vápník jsme v krevním séru určovali fotometricky pomocí Bio-La-testů (fy Lachema Brno). Dále jsme v krevním séru zjišťovali fotometricky obsah beta-karotenu v petroléterovém extraktu, vitamín A metodou podle Carr-Price (Knobloch, 1956) a progesteron pomocí radioimunoanalýzy s použitím vlastní protilátky (KS 01 78 0307 VÚVeL) a progesteronu značeného 125 I, rovněž vlastní přípravy.

V krvi jalovic jsme stanovili fotometricky glukózu pomocí Bio-La-testu a obsah ketolátek kvantitativně destilační metodou (Reid, 1960). Acidobazický stav krve byl zjišťován přístrojem Acid-Base-Cart ABC 1 Radiometer za použití Siggaard-Andersenova nomogramu. Z hematologických ukazatelů jsme určovali hemoglobin a hematokrit (Homolka, 1969); počet leukocytů byl zjišťován pomocí Bürkerovy komůrky (50 čtverců $\times$ 100) za použití Türkova roztoku.

V moči jsme stanovili sodík, draslík, chloridy, hořčík a močovinu stejnými metodami jako v krevním séru; pH moče bylo měřeno pH-metrem Acidimetr 325 (Druopta Praha) a specifická hmotnost byla stanovena urometrem. Acidobazický výluček moče jsme zjišťovali metodou podle Kutase (1965) a obsah ketolátek kvantitativně destilační metodou (Reid, 1960).

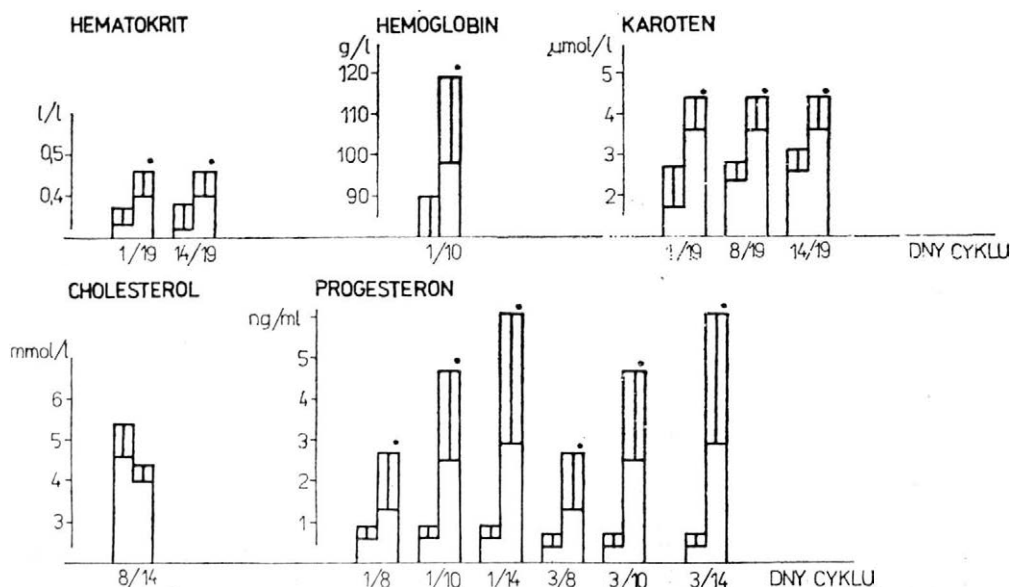
Krev jsme odebírali v průběhu říjového cyklu celkem šestkrát a to 1., 3., 8., 10., 14. a 19. den cyklu. Odběr byl proveden z *v. jugularis* vždy v 6.30 hodin, tj. před ranním nakrmením jalovic. Současně byla také odebírána moč.

Říji jsme detekovali aspekci dvakrát denně, vždy v 8.00 a v 15.00 hodin. Dvakrát týdně byly jalovice vyšetřeny rektálně a byl sledován jejich ovariální cyklus. U zvířat jsme zjišťovali také výraznost změn v chování, zduření ochodu, výtok estrálního hlenu a změny na vaječnících.

Výsledky, které byly získány biochemickým vyšetřením krve, séra a moče jalovic, byly hodnoceny Studentovým *t*-testem, a to u obou skupin s rozdílným světelným režimem zvlášť a meziskupinově.

VÝSLEDKY

Ve sledovaném období byla ve stáji s režimem denního světla (světlá stáj) zjištěna teplota vzduchu od 12,2 do 19,4 °C, relativní vlhkost od 71 do 76 %, rychlost proudění vzduchu od 0,030 do 0,317 m/s, obsah kyslíčnicku uhlíčitého od 0,2 do 0,4 % a intenzita osvětlení od 80 do 340 luxů.

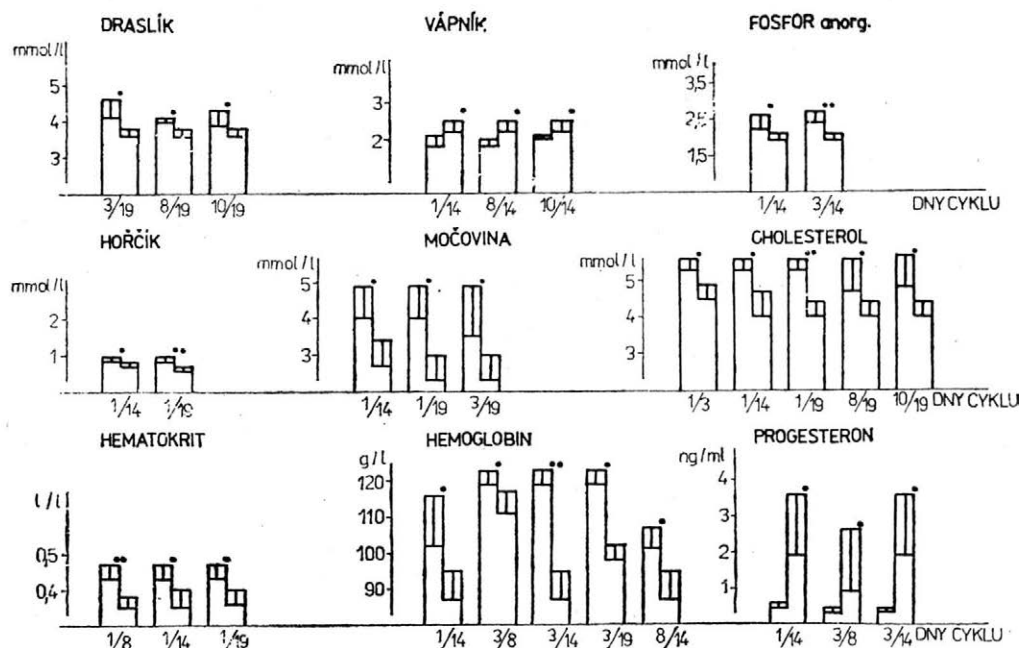


1. Světlá stáj — biochemické ukazatele v krvi a séru jalovic, ovlivněné v průběhu říjového cyklu (● = $P < 0,05$) — A light stable — biochemical parameters in the blood and serum of heifers, influenced during the oestrous cycle (● = $P < 0,05$)

V zatemněné stáji (tmavá stáj) byla ambulantním měřením zjištěna teplota vzduchu od 11,8 do 19,6 °C, relativní od 69 do 80 %, proudění vzduchu od 0,014 do 0,275 m/s, obsah kyslíčnicku uhličitého od 0,4 do 0,6 % a intenzita osvětlení od 10 do 40 luxů.

Dynamika 38 biochemických ukazatelů [z toho 29 stanovených v krvi a séru a 9 stanovených v moči] u jalovic obou pokusných skupin byla v průběhu říjového cyklu signifikantně rozdílná pouze u některých ukazatelů. Ve světlé stáji byly ovlivněny hladiny ($P < 0,05$) pěti ukazatelů v krvi a séru: hematokrit, hemoglobin, karoten, cholesterol a progesteron (obr. 1). V tmavé stáji bylo významně ovlivněno ($P < 0,05$ a $P < 0,01$) devět ukazatelů v krvi a séru: draslík, vápník, anorganický fosfor, hořčík, močovina, cholesterol, hematokrit, hemoglobin a progesteron (obr. 2). V obou stájích, tj. nezávisle na intenzitě osvětlení, byly v průběhu cyklu ovlivněny hladiny čtyř shodných ukazatelů: v krvi hemoglobin a hematokrit, v krevním séru cholesterol a progesteron.

Meziskupinové vyhodnocení ukazatelů prokázalo (obr. 3), že rozdílný světelný režim v průběhu říjového cyklu významně ovlivnil ($P < 0,05$) hladiny hemoglobinu, hematokritu (1. den) a ketolátek (10. den) v krvi jalovic a v séru celkové bílkoviny, AST (3. den) i anorganický fosfor (8. a 14. den); neovlivnil však hladiny progesteronu, které byly sice vyšší ve světlé stáji, ale rozdíl proti tmavé stáji nebyl statisticky významný. Z grafického znázornění této situace dále vyplývá, že fyziologický vztah progesteronu k jednotlivým dnům říjového cyklu byl ze všech sledovaných ukazatelů nejvýraznější. V moči byl zjištěn signifikantní ($P < 0,05$) meziskupinový rozdíl u hladin sodíku a fosforu mezi prvním a desátým dnem říjového cyklu.



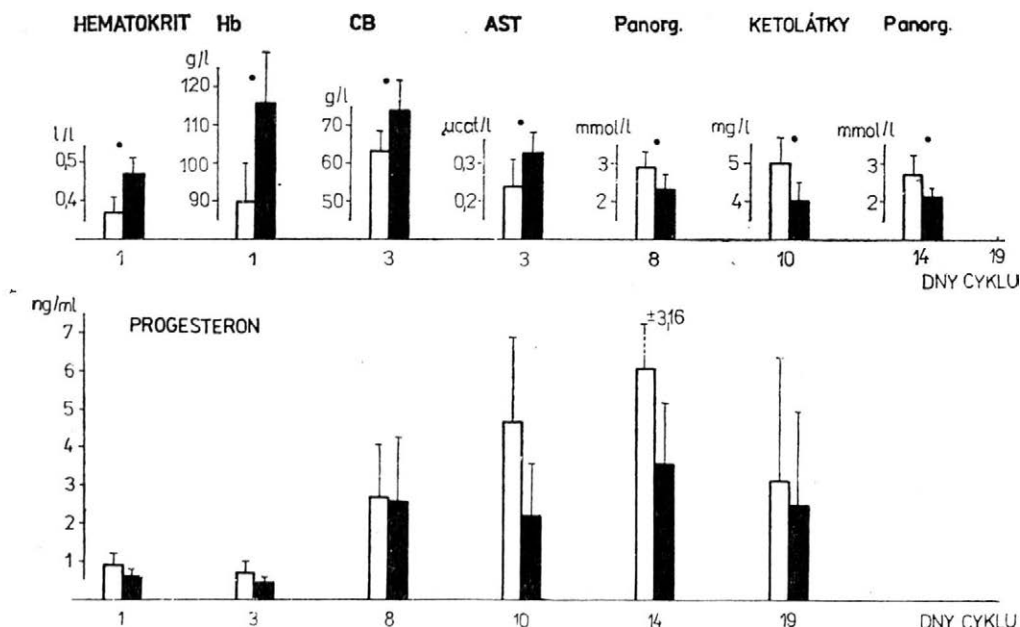
2. Tmavá stáj — biochemické ukazatele v krvi a séru jalovic, ovlivněné v průběhu říjového cyklu (● = $P < 0,05$, ●● = $P < 0,01$) — Dark stable — biochemical parameters in the blood and serum of heifers, influenced during the oestrous cycle (● = $P < 0.05$, ●● = $P < 0.01$)

Říjový cyklus jalovic trval ve světlé stáji 20,48 a ve tmavé stáji 22,08 dne. Délka říje nebyla význačně změněna, pouze její výraznost byla v tmavé stáji slabší než ve stáji světlé.

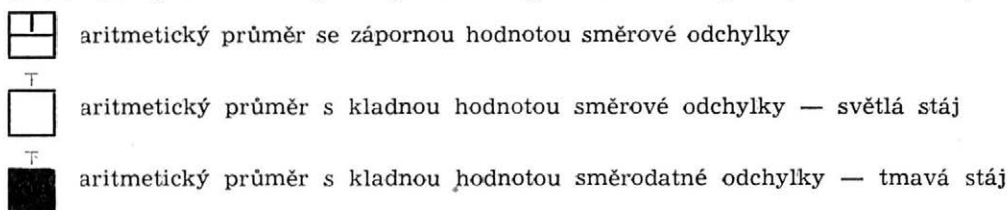
DISKUSE

Vedle výživy se na formování zdraví, odolnosti a užitkovosti zvířat podílí i jejich životní prostředí. V ustájení zvířat je přitom základním aktivačním faktorem denní rytmus světla a tmy. Počátek světla navozuje vzestup srdeční a motorické aktivity i dechové frekvence; vrchol je asi uprostřed dne a má vztah k době krmení. Kratší nebo delší rozsah střídání rytmu světla a tmy může uvedené aktivity různým způsobem ovlivnit [Scheibe aj., 1978], a proto je nezbytné, aby „technologická struktura hodin“ v moderních produkčních stájích byla v souladu s „biologickou strukturou času“ [Börnert, 1978].

Rytmus světla a tmy výrazně ovlivňuje také reprodukční procesy, a to nejen u ptáků, jak je obecně známo [Duben, 1970; Jánský, 1979], ale také u hospodářských zvířat [Döcke, 1975; Mehlhorn, 1978; Lyhs, 1978]. Steiger a Mehlhorn [1976] zlepšili umělým světelným režimem reprodukční parametry krav. Prodloužením světelného dne v zimních měsících na 14 hodin dosáhli signifikantně zvýšené plodnosti; extrémní délka dne s 24hodinovým trvalým osvětlením však působila na reprodukci krav negativně. Účinek světla vysvětlují



3. Meziskupinové srovnání — biochemické ukazatele v krvi a séru jalovic, ovlivněné rozdílným světelným režimem v průběhu říjového cyklu (• = $P < 0,05$) — Comparison of the groups — biochemical parameters in the blood and serum of heifers, influenced by different light regimes during the oestrous cycle (• = $P < 0,05$)



oba autoři jako podnět všeobecné aktivity organismu, zejména aktivity endokrinních žláz, a dále přes faktor výživy, kdy se při vhodném světelném režimu zvyšuje příjem potravy.

Světelný režim, stejně jako reprodukční cyklus, tedy patří k fyziologickým zdrojům variability biochemických ukazatelů vnitřního prostředí skotu. Pro naše sledování jsme zvolili ukazatele v rozsahu metabolického testu, který je u nás v současné době používán [Jagoš aj., 1977] a který klade značné nároky na správnou interpretaci získaných výsledků.

Ve světlé i tmavé stáji jsme v době našeho sledování zjistili různé mikroklimatické parametry, ale kromě intenzity osvětlení nebyly rozdíly mezi nimi natolik výrazné, aby mohly ovlivnit hladiny biochemických ukazatelů. Intenzita osvětlení významně ovlivnila hladiny šesti ukazatelů v krvi a séru a dvou ukazatelů v moči jalovic, ale pouze v některých dnech cyklu, tedy bez vztahu k jeho jednotlivým dnům. Při tomto meziskupinovém srovnání si zvláštní pozornost zasluhuje dynamika progesteronu v krevním séru jalovic. Rozdílný světelný režim sice neovlivnil jeho hladiny signifikantně, ale v obou stájích byl prokázán

výrazný vztah progesteronu k jednotlivým dnům říjového cyklu, který nebyl v našem sledování zjištěn ani u jednoho z ostatních 37 vybraných biochemických ukazatelů.

Nezávisle na intenzitě osvětlení, tj. ve světlé i tmavé stáji, byly říjovým cyklem významně ovlivněny čtyři shodné ukazatele: v krvi hemoglobin a hematokrit, v krevním séru cholesterol a progesteron. Z nich diagnostický význam detektora říje měl opět pouze progesteron.

Rozdíly mezi říjovým cyklem jalovic obou stájí jsme nezjistili, přičemž počet dnů sledovaného cyklu nevybočoval z rozmezí, které u jalovic uvádějí Kudláč aj. (1977).

Získané výsledky opravňují konstatovat, že světelný režim zasahuje do metabolismu jalovic a ovlivňuje některé ukazatele, jak jsme upozornili již v dřívější studii (Urbanová aj., 1983). Prokázali jsme, že říjový cyklus, považovaný za jeden z fyziologických zdrojů variability biochemických ukazatelů (Čeremisov aj., 1981), ovlivnil některé ukazatele látkové výměny také v podmínkách našeho sledování.

Metabolický test u skotu, jehož úspěch spočívá na správném výběru zvířata ukazatelů, na přesnosti provedení a v neposlední řadě také na interpretaci získaných výsledků, je stále předmětem pozornosti veterinárních biochemických laboratorí. Kromě poruch látkové výměny, ovlivňujících rozmezí referenčních hodnot biochemických ukazatelů, mohou podobně zasahovat i některé fyziologické vlivy. Naše poznatky o vztahu mezi intenzitou osvětlení a dynamikou vnitřního prostředí jalovic v období říjového cyklu tomu nasvědčují.

Literatura

- BÖRNERT, D.: Untersuchungen zum Einfluss von Zeitgebern auf den Zirkadianrhythmus bei landwirtschaftlichen Nutztieren. In: LYHS, L.: Umwelt und Leistung landwirtschaftlicher Nutztiere. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1978, s. 35-45.
- ČEREMISOV, G. A. — NEŽDANOV, A. G. — VLASOV, S. A.: Biohimičeskije pokazateli krovi i vosproizvoditelnaja funkcija. Veterinarija, 4, 1981, s. 53-55.
- ČSN 46 7070. Potřeba živin hospodářských zvířat. 1966.
- DÖCKE, F.: Veterinärmedizinische Endokrinologie. 1. Aufl. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1975. 716 s.
- DUBEN, Z.: Veterinární problematika ve velkochovech bažantů. Veterinářství, 20, 1970, č. 1, s. 543-548.
- GARTNER, R. J. W. — RYLEY, J. W. — BEATTIE, A. W.: Values and Variations of Blood Constituents in Grazing Hereford Cattle. Res. veter. Sci., 7, 1966, č. 4, s. 424-434.
- HEWETT, C. D.: On the causes and effects of variations in the blood profile of Swedish dairy cattle. Acta veter. scand., 50, 1974 (suppl.), s. 1-152.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody. 1. vyd. Praha, SZN 1969. 440 s.
- JÁNSKÝ, L.: Fysiologie adaptací. 1. vyd. Praha, ČSAV 1979. 210 s.
- JAGOŠ, P. a kol.: Metodika provádění a interpretace metabolického testu. In: Veterinární péče ve velkochovech skotu. Pardubice, ÚVO 1977. 33 s.
- KIRCHNER, K. — SCHULZ, O. — GROSSMANN, H.: Untersuchungen über das Verhalten einiger Stoffwechselfparameter im geburtsnahen Zeitraum bei industriemässig gehaltenen Milchrindern. Mh. Veter.-Med., 32, 1977, č. 15, s. 566-568.
- KNOBLOCH, E.: Fyzikálně chemické metody. 1. vyd. Praha, SZN 1956. 304 s.
- KUBIŇSKI, T.: Some parameters of water electrolyte metabolism and acid base

balance of dairy cows during pasture and winter season. Arch. exp. Veter.-Med., 34, 1980, č. 2, s. 161-166.

KUDLÁČ, E. — ELEČKO, J. a kol.: Veterinární porodnictví a gynekologie. 1. vyd. Praha, SZN 1977. 776 s.

KUTAS, F.: Determination of net acid base excretion in the urine of cattle. A method for estimation of acid-base equilibrium. Acta veter. Acad. Sci. hung., 15, 1965, č. 2, s. 147-153.

LYHS, L.: Umwelt und Leistung landwirtschaftlichen Nutztiere. 1. Aufl. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1978. 248 s.

MEHLHORN, G.: Die Bedeutung biologischer Rhythmen und künstlicher Lichtregimes für die industriemässige Tierproduktion. In: LYHS, L.: Umwelt und Leistung landwirtschaftlicher Nutztiere. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1978, s. 15-34.

REID, R. L.: The determination of ketose bodies in blood. Analyst, London, 85, 1960, s. 265-271.

ROWLANDS, G. J.: A review of variations in the concentrations of metabolites in the blood of beef and dairy cattle associated with physiology, nutrition and disease, with particular reference to the interpretation of metabolic profiles. Wld Rev. Nutr. Diet., 35, 1980, s. 172-235.

SCHEIBE, K. — SINZ, K. — TEMBROCK, G.: Biorhythmometrische Verfahren und Ergebniss zur Belastungsdiagnostik in der Tierproduktion. In: LYHS, L.: Umwelt und Leistung landwirtschaftlicher Nutztiere. Jena, VEB Gustav Fischer Verlag 1978, s. 61-69.

STÄMPFLI, G. — ANETZHOFFER, J. — STIRNIMANN, J.: Ein Einfluss der Tageszeit auf hämatologische und klinisch-chemische Parameter bei Milchkuh. Schweiz. Arch. Tierheilkde, 122, 1981, s. 327-340.

STEIGER, A. — MEHLHORN, G.: Erhöhung der Fortpflanzungsleistungen beim Rind durch richtige Ausnutzung des Lichtes. Tierzucht, 30, 1976, č. 10, s. 436-438.

SCHWERDFEGER, F.: Ökologie der Tiere. Bd. 1. Autökologie. 1. Aufl. Hamburg, Springer Verlag 1963. 461 s.

UNSHELM, J. — RAPPEN, W. H.: Individuelle, tages- und tageszeitabhängige Schwankungen von Blutbestandteilen beim Rind. Zbl. Veter.-Med., R. A, 15, 1968, č. 5, s. 418-437.

URBANOVA, J. — VOJTÍŠEK, B. — DRYBČÁK, J. — ALEXA, P. — PEČKA, F. — BURSA, J.: Vliv světelného režimu na dynamiku biochemických ukazatelů krve, séra a moče jalovic v průběhu jednoho dne. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 1, s. 21-30.

Došlo dne 13. 6. 1983

УРБАНОВА, Я. — ДРИБЧАК, Й. — ВЕЖНИК, З. — ВОЙТИШЕК, Б. — АЛЕКСА, П. — ГОЛЬЧАК, В. — КАЛАБ, П. — ПЕЦКА, Ф. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Влияние светового режима на биохимические показатели крови, сыворотки и мочи нетелей в ходе полового цикла. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10): 577-584.

Изучали динамику 38 биохимических показателей крови, сыворотки и мочи десяти нетелей в ходе полового цикла в светлом (80—340 люксов) и темном малогабаритных коровниках. В светлом коровнике в ходе полового цикла было оказано достоверное воздействие ($P < 0,05$) на пять показателей, а в темном коровнике на девять показателей, четыре из которых в обоих коровниках совпадали: в крови гематокрит и гемоглобин и в сыворотке холестерин и прогестерон, отношение которого к отдельным дням цикла было отчетливым особенно в светлом коровнике. Межгрупповая оценка показателей показала, что разный световой режим достоверно ($P < 0,05$) повлиял в ходе некоторых дней полового цикла на уровни неорганического фосфора, общих белков и на активность аминотрансферазы аспартата (AST) в сыворотке и гематокрит, гемоглобин и кетовещества в крови нетелей. Однако он не повлиял на уровни прогестерона, которые хотя и были в светлом коровнике выше, но разница в сравнении с темным коровником не была статистически достоверной. Достоверные различия между группами были нами установлены у уровня натрия и фосфора в моче ($P < 0,05$) между первым и десятым днем цикла. Различия между половым циклом нетелей в светлом и темном коровниках установлены не были. Даже продолжительность течки достоверно не была изменена, только ее отчетливость была в темном коровнике слабее.

светлый и темный коровники; половой цикл; динамика внутренней среды

URBANOVÁ, J. — DRYBČÁK, J. — VĚŽNÍK, Z. — VOJTÍŠEK, B. — ALEXA, P. — HOLČÁK, V. — KALÁB, P. — PECKA, F. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Effect of Light Regime on the Biochemical Parameters of Blood, Serum and Urine in Heifers during their Oestrous Cycle*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 577-584.

The dynamics of 38 biochemical parameters of blood, serum and urine was studied in ten heifers during their oestrous cycle in a light house (80—340 lux) and a dark small house (10—40 lux). In the light stable a significant influence ($P < 0.05$) was found to be exerted on five parameters and in the dark stable nine parameters, four being influenced in the same way in both houses: haematocrit value and haemoglobin in blood and cholesterol and progesterone in serum; the relationship of progesterone content in serum to the days of oestrous cycle was particularly high in the light house. The comparison of the parameters between the groups demonstrated a significant ($P < 0.05$) influence of light regime, exerted on some days of the oestrous cycle upon the levels of inorganic phosphorus, total protein and aspartate aminotransferase activity (AST) in serum and upon haematocrit, haemoglobin and ketone bodies in the blood of heifers. However, the light regime did not influence the levels of progesterone which were somewhat higher in the light house but with no statistically significant difference from the dark house. A significant difference between the groups was obtained in the levels of sodium and phosphorus in urine ($P < 0.05$) between the first and tenth days of the oestrous cycle. No differences in the oestrous cycle between the heifers in the light and dark stables were recorded. Neither was the duration of heat influenced significantly; it was only less manifest in the dark stable.

light and dark stable; oestrous cycle; dynamics of indoor environment

Adresy autorů:

MVDr. Jarmila Urbanová, ing. Jiří Drybčák, MVDr. Zdeněk Věžník, CSc., MVDr. Bohuslav Vojtíšek, MVDr. Pavel Alexa, MVDr. Vlastimil Holčák, MVDr. Pavel Kaláb, MVDr. František Pecka, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VIRULENCE STÁJOVÝCH KMENŮ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRO BÍLOU MYŠ

O. Mráz

MRÁZ, O. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Virulence stájových kmenů Klebsiella pneumoniae pro bílou myš*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 585-590.

Virulenci pro bílou myš jsme studovali u 65 stájových kmenů *K. pneumoniae*, z nichž devět pocházelo z případů akutní parenchymatózní mastitidy skotu a 56 z mléka, nosního hleny, z kůže při bázi vemena a z rektálního obsahu klinicky zdravých dojnic. Dosáhli jsme těchto výsledků: 1. Při dávce 1 ml 24hodinové bujónové kultury *i. p.* bylo virulentních 51 (78,4 %) kmenů, při dávce 2 ml 56 (86,1 %) kmenů. Na tomto zjištění se podílely kmeny z mléka a rektálního obsahu klinicky zdravých dojnic přibližně stejným procentem, zatímco kmeny z případů akutní parenchymatózní mastitidy a z kůže byly v celém rozsahu virulentní. 2. Růstová fáze a přítomnost mikrobiálního pouzdra se ve virulenci kmenů výrazně neobrážely, neboť jak u opouzdřených, tak u akapsulárních kmenů činila letální dávka kultury 0,2 až 2,0 ml, a v obou skupinách byly i kmeny zcela neškodné. Při podrobnějším hodnocení však nelze opomenout, že u opouzdřených kmenů (49) bylo těžiště letálních dávek v množství 0,5 ml (50 % případů), zatímco u akapsulárních to bylo 1 ml kultury (43,7 % případů). 3. Při zkoušce na nekrotoxin došlo u 18 (27,7 %) kmenů k lokálnímu zánětu na kůži králíka, trvajícím tři až šest dnů a projevujícím se zarudnutím a otokem o průměru 1,5 až 2,0 cm. Tento nálezn je v přímé korelaci s úhynem pokusných myší, ale nikoli s velikostí letálních dávek a dobou exitu, neboť v obou případech činily tyto dávky 0,2 až 2,0 ml a zvířata hynula za jeden až tři dny po inokulaci.

Klebsiella pneumoniae; bílá myš

Značná frekvence *K. pneumoniae* v nosním hleny, na kůži a v rektálním obsahu zdravého skotu (Mráz, 1978) při relativně malém výskytu klebsielových mastitid u laktujících krav svědčí o silné podmíněnosti těchto infekcí, a to jak ze strany původce, tak i ze strany hostitele. Z faktorů patogenity je uváděno mikrobiální pouzdro (Hallmann, 1955; Weiss, 1981) a stěnový lipopolysacharid (Šlopek, 1961; Schalm a Ziv-Silberman, 1968), nověji také enterotoxin (Klipstein a Engert, 1975) a fimbrie (Fader aj., 1979). Uvážíme-li značné obtíže při laboratorním průkazu těchto činitelů, jejichž výčet nemusí být ještě konečný (agresiny, nekrotoxin), je dosud nejschůdnější cestou k posouzení virulence kmenů biologický pokus.

V minulosti byli k tomuto účelu používáni králci (*i.v.*, *i.p.*), morčata (*i.p.*) a holubi (*i.p.*), ale nejvímavějším pokusným zvířetem je — jak uvádí Toennissen (1914) — bílá myš. Tento autor se zabýval i morfologickými rozdíly kmenů a zjistil, že dobře opouzdřené bujónové kultury zabíjejí bílou myš v dávce 10^{-7} až 10^{-10} ml *i.p.*, zatímco

jejich akapsulární mutanty jsou neškodné často ještě v množství 1 ml. Na dosažené výsledky však hledí střízlivě, neboť našel také ojedinělé výjimky v obou směrech. Svoji úvahu končí podotknutím, že kromě kapsuly bude nutné připustit ještě další faktor patogenity, vázaný na samotnou mikrobiální buňku.

K potvrzení uvedené teze došlo ve třicátých letech, a to zjištěním toxicity stěnového lipopolysacharidu (Delafield, 1934). Výzkum pouzder mezitím pokračoval a vyvrcholil o 20 let později typizací kmenů podle K-antigenů (Kauffmann, 1954). Za oficiální názor lze považovat údaj, který uveřejnili Wilson a Miles (1975). Tito autoři mluví o nápadně virulenci (0,2 ml bujónové kultury zředěné až 1:10⁶ i.p.) jen u sérotypů K1 a K2, zatímco jiné sérotypy považují pro bílou myš zpravidla za téměř nebo zcela neškodné.

Niazi aj. (1977) použili biologického pokusu při vyšetření 67 kmenů *K. pneumoniae*, izolovaných z faeces (44), vnitřních orgánů (21), krve (1) a mléka (1) skotu. Z jejich výsledků plyne, že 0,5 ml 6hodinové až 24hodinové i.p. podané bujónové kultury zahubilo bílou myš v 80 až 100 % případů, a to bez ohledu na typ K-antigenů zkoumaného kmene. Vzhledem k tomu, že není zcela jasné, jakou dávku pokládají Wilson a Miles (1975) pro svoje tvrzení za rozhodující a že Niazi aj. (1977) použili jen množství 0,5 ml, je potřebné zpracovat tento úsek mastitidního výzkumu ještě podrobněji.

MATERIÁL A METODA

Vyšetřili jsme 65 stájových kmenů *K. pneumoniae*, a to:

9 z případů akutní parenchymatózní mastitidy skotu,

18 z mléka klinicky zdravých dojníc z chovů, ve kterých se před třemi až pěti lety vyskytovala klebsiellová mastitida,

38 z nosního hleny (21), z kůže při bázi vemena (4) a z rektálního obsahu (13) dojníc z chovů permanentně zdravých.

Ke stanovení růstové fáze a opouzdrění kmenů sloužilo Duguidovo (1951) agarové „excess sugar medium“, jež podporuje tvorbu kapsuly. Po 24hodinové inkubaci naočkovaných ploten následovalo hodnocení kultur a zhotovení mokrych preparátů za příměsí tuše. Extracelulární sliz je v těchto preparátech zbarven v odstínech šedé barvy, zatímco pouzdra jsou bílá, široká a mají pravidelné kontury.

Z protilátek vůči K-antigenům jsme měli k dispozici jen typová antiséra 1–5, používaná k průkazu nejčastějších sérotypů *K. pneumoniae* u člověka. Vyšetření na „bobtnání pouzdra“ bylo provedeno se všemi kmeny, a to podle návodu výrobce (Difco, 1974).

Biologické pokusy jsme začínali dávkou 0,2 ml 24hodinové bujónové kultury, podané i. p. dvojici bílých myší. Jestliže zvířata během 14 dnů neuhynula, pokračovali jsme na nových dvojicích za použití dávek kultury 0,5, 1 nebo i 2 ml.

Z možných faktorů patogenity bylo vyšetřování u všech kmenů zaměřeno hlavně na dosud sporný nekrotoxin (Schalm aj., 1971), a to intradermální aplikací 0,1 ml 24hodinové bujónové kultury do vyholené kůže králíka (Málek a Wagner, 1948).

VÝSLEDKY

Z úhrnného počtu 65 stájových kmenů *K. pneumoniae* bylo opouzdrěno celkem 49 (75,3 %), a z nich pouze jeden kmen reagoval ve skupině antisér K1–K5 (kmen č. 74, z rektálního obsahu — sérotyp K3).

Údaje o virulenci pro bílou myš jsou uvedeny v tab. I, v níž je poslední kolonka věnována i změnám na kůži králíka z pokusu na nekrotoxin. Použijeme-li za kritérium dávku 1 ml 24hodinové bujónové kultury *i.p.* (dedukováno z Toenniessenových pokusů), tedy ze všech 65 stájových kmenů bylo virulentních 51 (78,4 %) kmenů, a započítáme-li také dávku 2 ml, jde o 56 (86,1 %) kmenů. Na tomto výsledku se podílely kmeny z mléka a rektálního obsahu klinicky zdravých dojnic přibližně stejným procentem, zatímco kmeny z akutních případů parenchymatózní mastitidy a z kůže byly v celém rozsahu virulentní.

Růstová fáze a přítomnost mikrobiho pouzdra se ve virulenci kmenů výrazně neobrážely, neboť jak u opouzdrěných, tak u akapsulárních kmenů činila letální dávka kultury 0,2 až 2,0 ml a v obou skupinách byly i kmeny zcela neškodné. Při podrobnějším hodnocení však nelze opomenout, že u opouzdrěných kmenů (49) bylo těžiště letálních dávek v množství 0,5 ml (50 % případů), zatímco u akapsulárních to byl 1 ml kultury (43,7 % případů).

Při zkoušce na nekrotoxin došlo u 18 (27,7 %) kmenů k lokálnímu zánětu na kůži králíka, trvajícimu tři až šest dnů, a to se zarudnutím a otokem o průměru 1,5 až 2,0 cm. Tento nálezn je v přímé korelaci s úhynem pokusných myší, ale nikoli s velikostí letálních dávek a dobou exitu, neboť v obou případech činily tyto dávky 0,2 až 2,0 ml a zvířata hynula za jeden až tři dny po inokulaci.

DISKUSE

Klebsiella pneumoniae platí za nesporného patogena a její etiologická úloha v infekcích člověka i zvířat je opětovně potvrzována. Nejistá je pouze virulence mikrobiálních kmenů z vnějšího prostředí, neboť saprofytickým způsobem života postupně degenerují. Z laboratorní zkušenosti je znám přechod původní M-fáze růstu až do fáze R, což znamená absenci extracelulárního slizu, pouzdra a později také redukci buněčné stěny, tj. ztrátu poloviny z uváděných faktorů patogenity. Na druhé straně však víme, že tyto mikroby dovedou pasážováním na vnímavém hostiteli ztrátové znaky opět kompletovat a svoji virulenci značně zesílit (Toenniessen, 1914).

Z těchto důvodů je tvrzení autorů Wilson a Miles (1975) o slabé virulenci až úplné neškodnosti většiny K-sérotypů pro bílou myš přijatelné pouze ve srovnání s výjimečnými sérotypy K1 a K2. Dokládají to např. Niazi aj. (1977), kteří z celkového počtu 59 typizovatelných kmenů ze skotu zjistili nejméně 11 K-sérotypů; ve stejném smyslu hovoří také výsledky našich pokusů, v nichž se nejvirulentnější sérotypy ze skupiny K1—K5 téměř nevyskytly. Analogii těchto závěrů lze vyčíst i z diagnostiky terénních případů. Tak např. Braman aj. (1973) izolovali z bovinních mastitid 28 K-sérotypů *K. pneumoniae* a jistý rozptyl v tomto ohledu vykazují také klebsielové kmeny z metritid u klisen.

Uvážíme-li, že se při laboratorním hodnocení kmenů nebere zřetel na typ stěnového lipopolysacharidu, produkci enterotoxinu, fimbrie a možnou tvorbu nekrotoxinu, je jakýkoliv závěr o virulenci z tohoto pohledu příliš jednostranný. Proto se domníváme, že biologický pokus zůstane ještě vyhovující metodou, a to zejména pro klebsielové kmeny

I. Výsledky biologických pokusů na bílých myších (čísla v závorkách udávají počet kmenů) — The results of biological experiments with white mice (parenthesized values indicate the number of strains)

Zdroj kmenů	Růstová fáze	Pouzdru	Letální dávka	Změny na kůži králíka
Mastitida (9)	M (5)	+ (3)	0,5 ml (1) 1 ml (1) 2 ml (1)	+ (0) (1) (0)
		— (2)	0,5 ml (1) 1 ml (1)	+ (1) (0)
	S (4)	+ (2)	0,5 ml (2)	(0)
		— (2)	1 ml (2)	(0)
Mléko (18)	M (9)	+ (9)	0,5 ml (9)	+ (4)
	S (9)	+ (5)	1 ml (4) 2 ml (1)	+ (1) + (1)
		— (4)	2 ml (1) 2 ml < (3)	(0) (0)
Nosní hlen (21)	M (4)	+ (4)	0,2 ml (1) 0,5 ml (1) 1 ml (1) 2 ml < (1)	(0) (0) (0) (0)
	S (17)	+ (11)	0,2 ml (2) 0,5 ml (6) 1 ml (1) 2 ml < (2)	+ (1) + (2) (0) (0)
		— (6)	0,2 ml (1) 0,5 ml (2) 1 ml (2) 2 ml < (1)	(0) (0) + (1) (0)
Kůže (4)	M (1)	+ (1)	0,5 ml (1)	(1)
	S (3)	+ (2)	0,5 ml (2)	+ (1)
		— (1)	1 ml (1)	+ (1)
Rektum (13)	M (4)	+ (4)	1 ml (2) 2 ml (1) 2 ml < (1)	+ (2) + (1) (0)
	S (9)	+ (8)	0,5 ml (3) 1 ml (3) 2 ml (1) 2 ml < (1)	(0) + (1) (0) (0)
		— (1)	1 ml (1)	(0)

z vnějšího prostředí. Zvýšení signifikantní dávky z 0,5 ml 24hodinové bujónové kultury (Niazi aj., 1977) na 1 ml považujeme za odůvodněné, neboť avirulentní kmeny jsou pro bílou myš neškodné i v dávkách mnohem větších nebo koncentrovanějších.

Literatura

- BRAMAN, K. S. — EBERHART, R. J. — ASBURY, M. A. — HERMAN, G. J.: Capsular types of *Klebsiella pneumoniae* associated with bovine mastitis. J. Amer. veter. med. Assoc., 162, 1973, s. 109-111.
- DELAFIELD, M. E.: Blood-sugar changes and toxic effects produced in rabbits by certain fractions derived from *bact. aertrycke*. Brit. J. exp. Path., 15, 1934, s. 130-137.
- DIFCO laboratories: Serological identification of *Klebsiella pneumoniae*. Detroit 1974.
- DUGUID, J. P.: The demonstration of bacterial capsules and slime. J. Path. Bact., 63, 1951, s. 673-685.
- FADER, R. C. — AVOTS-AVOTINS, A. E. — DAVIS, C. P.: Evidence of pili-mediated adherence of *Klebsiella pneumoniae* to rat bladder epithelial cells *in vitro*. Infect. and Immun., 25, 1979, s. 729-737.
- HALLMANN, L.: Bakteriologie und Serologie. II. vyd. Stuttgart, Thieme Verlag 1955. 850 s.
- KAUFFMANN, F.: Enterobacteriaceae. II. vyd. Kopenhagen, E. Munksgaard 1954. 382 s.
- KLIPSTEIN, F. A. — ENGERT, R. F.: Enterotoxigenic intestinal bacteria in tropical sprue. III. Preliminary characterization of *Klebsiella pneumoniae* enterotoxin. J. infect. Diseases, 132, 1975, s. 200-203.
- MÁLEK, I. — WAGNER, V.: Mikrobiologické vyšetřovací metody a stručná diagnostika v praxi. Praha, Grégr a syn 1948. 422 s.
- MRÁZ, O.: Patogenní agens ve vztahu k mastitidám skotu a kvalitě mléka. [Dílčí závěrečná zpráva o resortním výzkumném úkolu č. VL-333-1-6.] Brno, Vysoká škola veterinární 1978. 48 s.
- NIAZI, Z. M. — KIRPAL, G. — AMTSBERG, G. — REFAI, M.: Biochemie, Serologie, Mäusepathogenität und Antibiotikaresistenz von Klebsiellen verschiedener Tierarten. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 90, 1977, s. 435-440.
- SCHALM, O. W. — CARROLL, E. J. — JAIN, N. C.: Bovine Mastitis. Philadelphia, Lea a Febiger 1971. 360 s.
- SCHALM, O. W. — ZIV-SILBERMAN, G.: Reactions following intramammary infusion of *E. coli* endotoxin. Veter. Rec., 82, 1968, s. 100-103.
- ŠLOPEK, S.: *Klebsiella*. In: SEDLÁK, J. — RISCHE, H.: Enterobacteriaceae-Infektionen. Leipzig, Thieme Verlag 1961. 480 s.
- TOENNIEN, E.: Über Vererbung und Variabilität bei Bakterien mit besonderer Berücksichtigung der Virulenz. Zbl. Bakt., I. Abt., Orig. 73, 1914, s. 241-277.
- WEISS, R.: *Klebsiella*. In: BLOBEL, H. — SCHLIESSER, T.: Handbuch der bakteriellen Infektionen bei Tieren. 3. díl. Jena, VEB G. Fischer Verlag 1981. 716 s.
- WILSON, G. S. — MILES, S.: Topley and Wilson's principles of bacteriology, virology and immunity. VI. vyd. London, Edward Arnold 1975. 2076 s.

Došlo dne 23. 6. 1983

MPA3, O. (Veterinárny institút, Brno): Virulentnosť chleviských štámmov *Klebsiella pneumoniae* dla bielej myši. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10): 585-590.

Virulentnosť po ohľadovaní k bielej myši určovali u 65 štámmov *K. pneumoniae* z živočíšnych priestorov, 9 z ktorých pochádzali z prípadov akútneho parenchymatózneho mastitidy kr. r. skotu a 56 — z mlieka, nosovej sliznice, kože u základu výmene a z rektálneho obsahu klinicky zdravých kráv. Výsledky nasledujúce: 1. Pri dávkach 1 ml 24-hodinovej bujónovej kultúry *i.p.* virulentných štámmov bolo 51 (78,4%), a pri 2 ml — 56 (86,1%). V tomto objeme štámmy z mlieka a rektálneho obsahu účinkovali približne rovnakým percentom, keďže ostatné štámmy boli virulentnými v celom rozsahu. 2. Ni fáza rastu, ni mikrobiálna kapsula

не отражались заметно на вирулентности штаммов: как у снабженных капсулой, так и у бескапсульных штаммов летальная доза культуры составила от 0,2 до 2,0 мл, и в обеих группах можно было обнаружить совершенно безвредные штаммы. В подробной оценке, однако, надо привести, что у штаммов с капсулой (49) кульминация летальных доз 0,5 мл (50 % случаев), а у бескапсульных — 1 мл культуры (43,7 % случаев). 3. При испытании на некротоксин у 18 (27,7 %) штаммов отмечены местные воспаления кожи кролика, которые продолжались 3—6 дней в сопровождении покраснений и отеков диам. 1,5—2,0 см. Этот диагноз непосредственно коррелирует с падежом мышей, но не и с размером летальных доз и сроком смерти: в обоих случаях дозы составляли 0,2—2,0 мл, и животные погибали через 1—3 дня после инокулировки.

Klebsiella pneumoniae; белая мышь

MRÁZ, O. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Virulence of Stable Strains of Klebsiella pneumoniae for White Mice*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 585-590.

In 65 stable strains of *K. pneumoniae*, nine of which originated from acute parenchymatous mastitis of cattle and 56 from milk, nasal mucus, skin from the udder base and from the rectal contents of clinically healthy dairy cows, the virulence for white mice was studied. The achieved results were as follows: (1) At 1 ml dose of the 24-hr. broth culture *i. p.*, 51 strains (78.4 %) were virulent, at 2 ml dose 56 strains (86.1 %). The percentage of the strains from milk and from the rectal contents of the clinically healthy dairy cows was approximately the same, whereas the strains from acute parenchymatous mastitis and skin were virulent in the full extent. (2) The influence of the growth phase and of the presence of microbial capsule was not marked because both in the capsuled and in the uncapsuled strains the lethal doses amounted to 0.2 to 2.0 ml, however, in both groups also the completely harmless strains were detected. In a detailed evaluation it is necessary to take into consideration that in the capsuled strains (49) the lethal doses amounted to 0.5 ml (50 % of all cases) and in the uncapsuled to 1 ml (43.7 % of all cases). (3) Necrotoxin test showed that 18 strains (27.7 %) caused local skin inflammation in the rabbit, lasting 3 to 6 days and characterized by skin reddening and swelling ($\varnothing$ 1.5 to 2.0 cm). This finding is in direct correlation with the death of experimental mice but not with the lethal doses and time of exitus; in both cases 0.2 to 2.0 ml doses were applied and the animals died one to three days after inoculation.

Klebsiella pneumoniae; white mouse

Adresa autora:

MVDr. ing. Oldřich Mráz, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

VZŤAHY MEDZI OBSAHOM MINERÁLNYCH LÁTOK V KRVI KRÁV, MNOŽSTVOM MLIEKA A OBSAHOM TUKU V MLIEKU

J. Gabriš, L. Bajan

GABRIŠ, J. — BAJAN, L. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vzťahy medzi obsahom minerálnych látok v krvi kráv, množstvom mlieka a obsahom tuku v mlieku*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 591-596.

Pri skúmaní obsahu vápnika, fosforu, horčíka, draslíka a sodíka v arteriálnej a vo venóznei krvi kráv pred dojením a po dojení (na vrchole laktácie) sme nezistili jednoznačné vzťahy k množstvu nadojeného mlieka za deň odberu vzoriek, ale javí sa tendencia k vyššiemu nádoju pri vyššej hladine fosforu v mlieku kráv čierostrakatého plemena a kráv s vyššou produkciou mlieka. K obsahu tuku v mlieku sme zistili niektoré preukazné vzťahy, a to kladný vplyv obsahu fosforu v arteriálnej krvi kráv slovenského strakatého plemena, kladný vplyv obsahu vápnika a horčíka u kráv s vyššou produkciou mlieka a záporný vplyv obsahu horčíka v krvi kráv s nižšou produkciou mlieka.

vápnik; fosfor; horčík; draslík; sodík; arteriálna krv; venózna krv pred dojením; venózna krv po dojení

Údaje o vzťahoch medzi obsahom minerálnych látok v krvi kráv a ich produkciou sú značne rozporné. Podľa Sapel'ského [cit. Ejdrigievich a Rajevskaja, 1966] je vzťah dojivosti ku kalcio-albumínovému komplexu v krvnom sére kladný a rovnako je to aj s obsahom všetkých foriem fosforu. Podľa Gabriša a i. [1983] sa v krvi jalovic a tých istých zvierat neskôr, t. j. vo veku kráv v II. laktácii, našli pozitívne alebo negatívne vzťahy niektorých minerálnych látok k produkcii mlieka, pričom v krvi kráv sa pôvodné pozitívne korelačné koeficienty zmenili na záporné. Obsah minerálnych látok v krvnom sére kráv nedal jednoznačné výsledky podľa výšky produkcie, jedine obsah vápnika mal v krvi vysokoproduktívnych kráv prevažne nižšie hodnoty. Ejdrigievich a Rajevskaja [1966] citujú väčší počet autorov, podľa ktorých sú výsledky rozdielne — kladné alebo záporné. Zo starších prác už Kříženecký a Podhradský (1947) citujú pozitívne korelácie medzi obsahom vápnika, magnézia a fosforu a množstvom tuku v mlieku kráv. Hladinou makroelementov v krvi kráv sa zaoberá aj naša práca [Gabriš a Bajan, 1983], v ktorej uvádzame aj pramene pojednávajúce o ich obsahu v priebehu laktácie, o rozdieloch medzi plemenami a vo vzťahu k prostrediu a regulačnej činnosti hormónov.

Vzájomné spolupôsobenie minerálnych látok v krvi zvierat na ich zdravotný stav a na tvorbu bielkovín mlieka, množstva mlieka a tuku v mlieku zdôrazňujú Vrzgula a i. [1982]. Viaceré organické látky, predovšetkým sacharidy, ale aj metabolity bielkovín a tukov, sa nemôžu enzymaticky premeniť, keď predtým neboli fosforylované inými

enzýmami. Uvádzajú známu negatívnu bilanciu vápnika aj pri jeho vysokom prívode v krvi vysokoproduktívnych dojníc, potrebu vápnika a fosforu vo vzťahu k obsahu tuku v mlieku, zasahovanie sodíka do metabolizmu ostatných živín (včítane zníženia trávenia bielkovín, potrebu draslíka a pod. u zdravých zvierat) a vplyvy nedostatku alebo nadbytku týchto látok na zvieratá. Podobne Kacerovský (cit. Labuda a i., 1982) uvádza funkcie jednotlivých minerálnych látok a ich pôsobenie na produkciu zvierat a metabolizmus bielkovín, tukov a sacharidov z hľadiska výživy zvierat a zdôrazňuje aj vplyv fosfatázy v krvi. Vzťah alkalické fosfatázy k obsahu tuku v mlieku sme zistili aj my (Gabriš a i., 1983), a to zvlášť výrazne v skupine kráv s vyššou produkciou mlieka (Gabriš a Matťová, 1983).

Otázka vzťahu minerálnych látok k produkcii mlieka a k množstvu tuku v ňom nie je jednoznačne vyriešená, a preto sme sa pokúsili prispieť k jej objasneniu.

MATERIÁL A METÓDA

Na zistenie vzťahov medzi obsahom minerálnych látok v arteriálnej (A) a vo venóznej krvi pred dojením (V₁) a po dojení (V₂) a denným nádojom a obsahom tuku v mlieku v dni odberu vzorky sme použili 35 kráv čiernostrakatého a slovenského strakatého plemena zo Školského poľnohospodárskeho podniku v Zemplínskej Teplici. Popis zvierat a odberu vzoriek je uvedený v predchádzajúcej práci (Gabriš a Bajan, 1983).

Súbor 35 kráv sme rozdelili podľa plemennej príslušnosti a podľa výšky denného nádoja na skupiny. Produkcia mlieka kráv z týchto skupín a obsah tuku v mlieku sú uvedené v tab. I. Podľa plemennej príslušnosti nie je v úžitkovosti významnejší rozdiel. Pozoruhodné je, že skupina kráv s vyšším denným nádojom (16,087 kg) mala oproti skupine s nižším nádojom (10,880 kg; obsah tuku 3,746 %) súčasne aj pomerne vysoký obsah tuku v mlieku (4,672 %). Rozdiel je vysoko preukazný.

Denný nádoj a obsah tuku v mlieku sme korelovali pre celý súbor a pre každú skupinu zvlášť s obsahom minerálnych látok v krvi, uvedeným v predošlej práci (Gabriš a Bajan, 1983); preukaznosť sme testovali pri 5% a 1% α -hladine významnosti.

I. Úžitkovosť kráv pokusných skupín — The performance of the cows of the test groups

Skupina kráv	Denná produkcia	n	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	s	v
Celý súbor	nádoj	35	13,110 $\pm$ 0,615	3,640	27,76
	obsah tuku	35	4,043 $\pm$ 0,084	0,497	3,88
Čiernostrakaté plemeno	nádoj	11	14,081 $\pm$ 1,622	5,513	39,32
	obsah tuku	11	4,174 $\pm$ 0,149	0,495	11,86
Slovenské strakaté plemeno	nádoj	24	12,696 $\pm$ 0,492	2,411	18,99
	obsah tuku	24	3,984 $\pm$ 0,101	0,497	12,47
Vyššie produkčné	nádoj	15	16,087 $\pm$ 0,809	3,135	19,49
	obsah tuku	15	4,672 $\pm$ 0,104	0,344	7,36
Nižšie produkčné	nádoj	20	10,880 $\pm$ 0,462	2,064	18,97
	obsah tuku	20	3,746 $\pm$ 0,048	0,229	6,11

II. Vzťahy medzi hladinami minerálnych látok v krvi a denným nádojom mlieka
— The relations between the levels of minerals in blood and the daily milk yield

Skupina kráv	Mine- rálie	n	A		V ₁		V ₂	
			r	s _r	r	s _r	r	s _r
Celý súbor	Ca	35	-0,0747	0,1681	-0,0968	0,1674	-0,1306	0,1686
	P	35	0,2180	0,1607	0,1421	0,1656	0,1528	0,1675
	Mg	35	-0,1862	0,1632	-0,1798	0,1636	-0,1783	0,1660
	K	34	-0,0737	0,1706	0,0878	0,1702	0,1190	0,1716
	Na	34	-0,1509	0,1676	-0,0361	0,1713	-0,0697	0,1732
Čiernostrakaté plemeno	Ca	11	0,1368	0,3300	0,0513	0,3330	0,1702	0,3310
	P	11	0,4688	0,2940	0,4411	0,2980	0,4080	0,2940
	Mg	11	-0,1689	0,3290	-0,1954	0,3270	-0,3076	0,3170
	K	11	-0,1192	0,3310	0,1313	0,3300	0,2574	0,3220
	Na	11	-0,5037	0,2880	-0,3543	0,3120	-0,4024	0,3050
Slovenské strakaté plemeno	Ca	24	-0,2377	0,2070	-0,2561	0,2060	-0,3268	0,2160
	P	24	-0,0860	0,2120	-0,1290	0,2110	-0,2266	0,2130
	Mg	24	-0,3222	0,2020	-0,2797	0,2050	-0,0915	0,2170
	K	23	-0,0080	0,2180	0,1207	0,2170	0,0195	0,2180
	Na	23	0,1046	0,2170	0,2506	0,2110	0,1701	0,2150
Vyššie produkčné	Ca	15	0,1054	0,2759	0,1044	0,2759	0,0490	0,2886
	P	15	0,3719	0,2575	0,4373	0,2494	0,5439 ⁺	0,2423
	Mg	15	0,3226	0,2689	0,3705	0,2577	0,2063	0,2825
	K	14	-0,3630	0,2689	-0,2692	0,2780	-0,0897	0,3003
	Na	14	0,1348	0,2860	0,2514	0,2791	0,3068	0,2869
Nižšie produkčné	Ca	20	-0,1682	0,2324	-0,1459	0,2332	-0,1544	0,2328
	P	20	0,2415	0,2287	0,0955	0,2345	0,0005	0,2356
	Mg	20	-0,3772	0,2182	-0,4099	0,2149	-0,3019	0,2247
	K	20	0,2197	0,2300	-0,2273	0,2296	-0,3583	0,2200
	Na	20	-0,1937	0,2313	-0,2273	0,2296	-0,3583	0,2200

+ $P < 0,05$

VÝSLEDKY

Medzi denným nádojom mlieka na vrchole laktácie a hladinou minerálnych látok v arteriálnej a vo venóznej krvi pred dojením a po dojení sme nenašli žiadnu závislosť, až na jediný prípad, a to medzi obsahom fosforu vo venóznej krvi po dojení a denným nádojom ($r = 0,5439$). Pri pozornejšom prehladnutí tab. II vidieť, že obsah fosforu v krvi kráv čiernostrakatého plemena má k produkcii mlieka vo všetkých vzorkách krvi kladný, ale nezaistený vzťah s hodnotami r nad 0,4; podobné je to aj v skupine kráv s vyššou produkciou mlieka vo vzťahu obsahu v arteriálnej a vo venóznej krvi pred dojením.

Iná situácia je pri skúmaní obsahu minerálnych látok v krvi kráv

III. Vzťahy medzi hladinami minerálnych látok v krvi a obsahom tuku v mlieku
— The relations between the levels of minerals in blood and milk fat content

Skupina kráv	Mine- rálie	n	A		V ₁		V ₂	
			r	s _r	r	s _r	r	s _r
Celý súbor	Ca	35	0,2108	0,1621	0,1853	0,1632	0,1422	0,1680
	P	35	-0,3024	0,1536	-0,3208	0,1378	-0,2594	0,1559
	Mg	35	0,1554	0,1649	0,0099	0,1690	-0,0920	0,1700
	K	34	-0,3607 ⁺	0,1492	-0,1187	0,1691	-0,2122	0,1662
	Na	34	0,0470	0,1711	-0,0321	0,1713	-0,0304	0,1739
Čiernostrakaté plemeno	Ca	11	-0,3723	0,3090	-0,3699	0,3100	-0,5091	0,2670
	P	11	-0,1630	0,3291	-0,1638	0,3290	0,2550	0,3220
	Mg	11	0,4513	0,2200	0,4640	0,2151	0,4960	0,2022
	K	11	-0,2680	0,3211	-0,2830	0,3200	-0,2420	0,3230
	Na	11	0,4500	0,2980	0,5285	0,2830	0,5740	0,2730
Slovenské strakaté plemeno	Ca	24	0,3872	0,1970	0,3030	0,2030	0,3606	0,2040
	P	24	0,5372 [×]	0,1800	-0,5655 [×]	0,1760	-0,6150 [×]	0,1720
	Mg	24	-0,1566	0,2110	-0,3811	0,1970	-0,1993	0,2460
	K	23	-0,3836	0,2020	-0,0061	0,2180	-0,1661	0,2201
	Na	23	-0,1873	0,2140	-0,3188	0,2070	-0,2924	0,2140
Vyššie produkčné	Ca	15	0,5527 ⁺	0,2778	0,3127	0,2634	0,6191 ⁺	0,2617
	P	15	-0,2711	0,3208	-0,1905	0,3273	0,0810	0,3323
	Mg	15	0,6613 [×]	0,2161	0,3494	0,2786	0,4862	0,2912
	K	15	-0,4213	0,1902	-0,4244	0,2604	-0,5264 ⁺	0,2828
	Na	15	0,4283	0,3012	0,3454	0,3127	0,3937	0,3064
Nižšie produkčné	Ca	20	0,1166	0,2341	0,1481	0,2330	0,0947	0,2414
	P	20	-0,1658	0,2152	-0,2018	0,2138	-0,3904	0,1949
	Mg	20	-0,4757 ⁺	0,1918	-0,4638 ⁺	0,1934	-0,3557	0,1990
	K	19	0,1199	0,2220	0,1706	0,2149	0,1166	0,2278
	Na	19	-0,0398	0,2234	-0,1857	0,2145	-0,0426	0,2291

⁺ $P < 0,05$; [×] $P < 0,01$

vo vzťahu k obsahu tuku v mlieku. Tu vidíme preukazný záporný vzťah obsahu draslíka v arteriálnej krvi v celom súbore, vysoko preukazný vzťah obsahu fosforu u kráv plemena slovenské strakaté, preukazný vzťah obsahu vápnika a vysokopreukazný vzťah obsahu horčíka v skupine kráv s vyššou produkciou mlieka a konečne záporne preukazný vzťah obsahu horčíka v skupine kráv s nižšou produkciou mlieka.

Vo venóznej krvi pred dojením a po dojení sa zmenil pôvodne kladne vysokopreukazný vzťah obsahu fosforu v arteriálnej krvi na vysoko-preukazne záporný vzťah. Ďalej vo venóznej krvi pred dojením je záporne preukazný vzťah obsahu horčíka a vo venóznej krvi po dojení preukazný vzťah obsahu vápnika a záporne preukazný vzťah obsahu draslíka v skupine produktívnejších kráv.

Vyššie, ale nepreukazné hodnoty korelačných koeficientov sme zistili v skupine kráv čiernostrakatého plemena pre obsah horčika a sodíka vo všetkých troch vzorkách krvi. Nepreukaznosť je asi v dôsledku nižšieho počtu prípadov (11 kusov) a vyššej variability vlastností.

DISKUSIA

Z výsledkov možno jednoznačne konštatovať, že obsah minerálnych látok v bežných podmienkach, t. j. pri zdravých zvieratách a správnej výžive v kvantite a kvalite, nemá priamy vplyv na výšku produkcie mlieka. Situácie, ktoré majú klinický charakter, vplývajú na túto produkciu, aj keď pre jednotlivé makroelementy nemožno úplne jednoznačne oddeliť sféru ich vplyvu (Vrzgula a i., 1982; Kacerovský — cit. Labuda a i., 1982).

Trochu inakšie sa javí situácia obsahu makroelementov v krvi kráv vo vzťahu k obsahu tuku v mlieku. Tu vidíme celý rad preukazných korelácií, pričom je zvyraznený vplyv fosforu na množstvo tuku v mlieku kráv slovenského strakatého plemena, vplyv vápnika a horčika na obsah tuku v mlieku kráv s vyššou produkciou mlieka a vplyv horčika na obsah tuku v mlieku menej produktívnych kráv. To čiastočne súhlasí s údajmi, ktoré uvádzajú Ejdrigievíč a Rajevskaja (1966), a s významom fosforylácie zisteným Vrzgulom a i. (1982). Významné je zistenie vzťahov obsahu magnézia k obsahu tuku v mlieku, a preto treba magneziémii, rovnako ako aj iným karenciám minerálnych a iných látok, venovať príslušnú pozornosť (Vrzgula, 1963; Slanina a Běseda, 1979 a iní).

V skupine jalovic čiernostrakatého plemena a neskôr tých istých zvierat vo veku kráv sme našli niektoré vzťahy minerálnych látok k produkcii mlieka: pre jalovice išlo o fosfor, pre kravy o magnézium. K množstvu tuku v mlieku sme vzťahy nezistili, ale pre jalovice sme našli kladné vzťahy množstva tuku v kilogramoch za laktáciu k obsahu vápnika a fosforu a v skupine tých istých zvierat v kategórii kráv k obsahu horčika a zápornú hodnotu k obsahu fosforu (Gabriš a i., 1983). V inej práci (Gabriš a i., 1975) sme nezistili vzťah obsahu minerálnych látok k produkcii mlieka, ale zistili sme preukazný a vysoko-preukazný vzťah obsahu chloridov k obsahu fosforu a vápnika a k množstvu tuku v kilogramoch. Podobne ako uvádzajú Ejdrigievíč a Rajevskaja (1966), sú výsledky rozporné a treba počítat s veľkými vplyvmi interakcie minerálnych látok navzájom a s ukladaním a uvoľňovaním minerálnych látok z depotných orgánov.

Literatúra

- EJDRIGIEVIČ, E. V. — RAJEVSKAJA, V. V.: Interiér sel'skochozjajstvennych životnych. Moskva, Kolos 1966.
GABRIŠ, J. — BAJAN, L.: Hladiny niektorých minerálnych látok v arteriálnej a vo venóznej krvi kráv. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 6, s. 321-327.
GABRIŠ, J. — KUCHAROVÁ, K. — MATTOVÁ, J.: Štúdium vzťahov medzi zložkami krvi a mlieka dojnic z hľadiska diferenciácie produkčných typov. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1975.
GABRIŠ, J. — MATTOVÁ, J.: Vzťahy niektorých biochemických ukazovateľov v krvi kráv k dojivosti pri rozdielnej výške denného výdoja. Poľnohospodárstvo, 1983.

GABRIŠ, J. — VOJENČIAK, J. — KUCHÁROVÁ, K. — MATTOVÁ, J. — DUNČÁKOVÁ, E.: Hodnoty niektorých biochemických ukazovateľov v krvi kráv a ich vzťah k produkcii mlieka. Poľnohospodárstvo, 1983.
 KRÍŽENECKÝ, J. — PODHRADSKÝ, J.: Korelace ve složení mléka. In: Sbor. českoslov. Akad. zeměd., 20, 1947, s. 321-330.
 LABUDA, J. a kol.: Výživa a krmenie hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1982.
 SLANINA, L. — BESEDA, J.: Metabolický profil HD vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. [Rezortná tematická úloha.] Bratislava, MPVŽ SSR 1979.
 VRZGULA, L.: Štúdium hladín minerálie v krvnom sére HD pri niektorých ochoreniach. [Habilitačná práca.] Košice 1963. — Vysoká škola veterinárská.
 VRZGULA, L. a kol.: Poruchy látkového metabolizmu hospodárskych zvierat a ich prevencia. Bratislava, Príroda 1982.

Došlo dňa 20. 5. 1983

ГАЕРИШ, Ю. — БАЯН, Л. (Ветеринарный институт, Кошице): Зависимости между содержанием минеральных веществ в крови коров, количеством молока и содержанием молочного жира. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10): 591-596.

При изучении содержания кальция, фосфора, магния, калия и натрия в артериальной и венозной крови коров перед дойкой и после нее в период максимума лактации установили явные зависимости от количества надоенного молока в день взятия проб, однако отмечается тенденция к повышенному надое при высшем уровне фосфора в молоке чернопестрых и высокомолочных коров. У содержания жира в молоке установили некоторые достоверные отношения, а именно положительное влияние содержания фосфора в крови словацких пестрых коров, положительное влияние содержания кальция и магния у высокомолочных коров и отрицательное влияние магния в крови у коров с меньшей молочной продуктивностью.

кальций; фосфор; магний; калий; натрий; артериальная кровь; венозная кровь перед дойкой; венозная кровь после дойки

GABRIŠ, J. — BARAN, L. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Relations between the Content of Minerals in the Blood of Cows, Milk Yield and Fat Content in Milk*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10): 591-596.

No explicit relations to the milk yield on the day of sampling were found when studying the content of calcium, phosphorus, magnesium, potassium and sodium in the arterial and venous blood of cows before and after milking in the peak lactation period. However, there is a tendency of higher milk yields at higher phosphorus levels in the milk of the Black-Pied and higher-yielding cows. Some relations to milk fat content were found to be significant: a positive effect of phosphorus content in the blood of Slovak Spotted cows, a positive effect of calcium and magnesium content in the blood of more productive cows and a negative effect of magnesium content in the blood of less productive cows.

calcium; phosphorus; magnesium; potassium; sodium; arterial blood; venous blood before milking; venous blood after milking

Adresa autorov:

Prof. MVDr. ing. Juraj Gabriš, DrSc., MVDr. Ľudovít Bajan, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

VPLYV STUPŇOVANÝCH DÁVOK ŽIARENIA NA FOLIKULÁRNY APARÁT VAJEČNÍKOV A NA ADENOHYPOFÝZU OVIEC

J. Arendarčík, M. Tokoš, M. Praslička, J. Balún

ARENDAČÍK, J. — TOKOŠ, M. — PRASLIČKA, M. — BALÚN, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice; Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice): *Vplyv stupňovaných dávok žiarenia na folikulárny aparát vaječníkov a na adenohypofýzu oviec*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 597-604.

Sledovali sme vplyv stupňovaných dávok žiarenia, aplikovaných priamo na vaječníky pri laparotómii, na kvalitatívne a kvantitatívne zmeny folikulárneho aparátu vaječníkov a na adenohypofýzu oviec v anestríckom období a reparačné procesy v uvedených orgánoch s odstupom času po ožiarení. Pri ožiarení vaječníkov dávkou 4,79 Gy sme s odstupom času od ožiarenia zistili vyššiu hmotnosť vaječníkov. V 10. a 30. dni po ožiarení počet terciárnych folikulov poklesol, v 100. dni stúpol ich počet v porovnaní s 10. dňom na štvornásobok. V adenohypofýze sme zistili postupný nárast počtu PAS-pozitívnych buniek. Po ožiarení vaječníkov dávkou 9,57 Gy boli vaječníky najmenej poškodené v 10. dni ožiarení, v 30. a 100. dni boli všetky prítomné terciárne folikuly v stave atrezie. V porovnaní s kontrolnou skupinou sa množstvo gonadotropných buniek adenohypofýzy po prudkom poklese po ožiarení postupne zvýšilo. Po ožiarení vaječníkov dávkou 19,14 Gy sa všetky terciárne folikuly nachádzali v štádiu atrezie a počet PAS-pozitívnych buniek adenohypofýzy bol pri porovnaní s kontrolnou skupinou nižší.

X-lúče; ožiarenie vaječníkov; terciárne folikuly; atrezia; reparačné procesy

Skúmaním vplyvu ionizujúceho žiarenia na vaječníky cicavcov, najmä malých, sa zaoberajú viaceré práce (Murray, 1931; Mandl, 1963; Desai, 1957 a ďalší). U domácich hospodárskych zvierat sledovali vplyv žiarenia na funkciu vaječníkov Ichikawa a i. (1968), u oviec Arendarčík a i. (1973) a Tokoš a i. (1980), u kráv Erickson a i. (1976). Uvedení autori sa zhodujú v tom, že: 1) dávka X-lúčov, potrebná na odstránenie všetkých zárodočných buniek vo vaječníkoch, je rôzna podľa druhu zvierat a že 2) rádiosenzitivita oocytov závisí od štádia dozrievania príslušných folikulov v čase ožiarenia. Pri tom folikulárny systém vaječníkov je na pôsobenie X-lúčov pomerne citlivý, zatiaľ čo žlté teliesko patrí k rádiorezistentnejším tkanivám.

V našej práci sme sa zamerali na sledovanie kvalitatívnych a kvantitatívnych zmien folikulárneho aparátu vaječníkov po ich priamom ožiarení u oviec. Zároveň sme sledovali aj kvantitatívne zmeny gonadotropných buniek adenohypofýzy. Cieľom práce bolo získať ďalšie vedomosti o priamom vplyve ionizujúceho žiarenia na vaječníky a o reparačných procesoch, nastupujúcich v určitom odstupe po ožiarení.

Skupina	Počet zaradených oviec	Dávka X-lúčov v Gy podaná na vaječníky pri laparotómii	Deň zabíjania zvierat po ožiarení, resp. po začatí pokusu
1.	4	—	10. a 100. deň od začatia pokusu
2.	6	4,79	10., 30. a 100. deň po ožiarení
3.	6	9,57	10., 30. a 100. deň po ožiarení
4.	6	19,14	10. a 100. deň po ožiarení

MATERIÁL A METÓDY

Do pokusu sme zaradili 22 dvojročných oviec plemena slovenské merino v čase fyziologického anestru. Rozdelili sme ich do troch pokusných a jednej kontrolnej skupiny. Ovce pokusných skupín sme ožarovali stupňovanými dávkami žiarenia (tab. I) exponovaného prímou na vaječníky pri laparotómii. Metodiku ožarovania a technické parametre ožarovania uviedli Tokoš a i. (1980).

Ovce sme zabíjali v 10., 30. a 100. dni po ožiarení. Odobraté excízy vaječníkov sme po zistení ich hmotnosti fixovali v médiu formalín — sublimát — kyselina octová, excízy hypofýz v Bouinovom roztoku a zaliali sme ich do parafínu. Rezy o hrúbke 6 μ m sme u vaječníkov oľadili hematoxylin-eozínom, u hypofýz Schiffovým reagensom po predchádzajúcej oxidácii kyselinou jodistou ako Mc Manus-Hotchkisovu reakciu PAS a reakciou kyselina permravčia — alcianová modrá — PAS — oranž G.

Vo vaječníkoch sme sledovali kvalitatívne zmeny buniek *membrana granulosa* a prítomných oocytov, stanovili sme celkový počet terciárnych folikulov a diferencovali sme ich na neatretické a atretické podľa Mariana a i. (1968). Kvantitatívnu cytologickú analýzu adenohipofýz sme vykonali podľa Rassmussen-Herricka, ako uvádza Mess (1962).

VÝSLEDKY

Priemerná hmotnosť hypofýz a vaječníkov, ako aj priemerný počet terciárnych folikulov a žltých teliesok sú uvedené na obr. 1 a v tab. II. Najvyššiu hmotnosť hypofýz sme zistili u skupín 2 a 3 v 30. dni po ožiarení. Aj v 100. dni po ožiarení bola hmotnosť hypofýzy u všetkých pokusných skupín vyššia ako u kontrolných oviec. Podobné zmeny sme zistili aj pri sledovaní hmotnosti vaječníkov. Priemerný počet terciárnych folikulov bol u oviec pokusných skupín nižší ako u oviec kontrolnej skupiny. U oviec kontrolnej skupiny a u oviec v 10. dni po ožiarení dávkou 4,79 Gy sme prítomnosť žltých teliesok nezistili. U ďalších skupín sme zistili v priemere 0,5 až 2,0 žlté telieska na ovcu.

Pri kvalitatívnom hodnotení folikulárneho systému vaječníkov sme zistili uvoľňovanie buniek *membrana granulosa* do folikulárnej tekutiny. V 30. a 100. dni po ožiarení dávkami 9,57 Gy a 19,14 Gy sme zistili vymiznutie oocytov v terciárnych folikuloch. Pri dávke 4,79 Gy v 100. dni po ožiarení sme zistili prítomnosť normálnych terciárnych folikulov s nepoškodenými oocytmi, aj keď ich počet bol menší ako u oviec kontrolnej skupiny.

Pri kvantitatívnom hodnotení folikulárneho aparátu (tab. III) sme zistili u pokusných skupín nižšie zastúpenie alebo úplné vymiznutie

II. Priemerný počet terciárnych folikulov a žltých teliesok u oviec jednotlivých pokusných skupín — The average number of tertiary follicles and corpora lutea in the ewes in the test groups

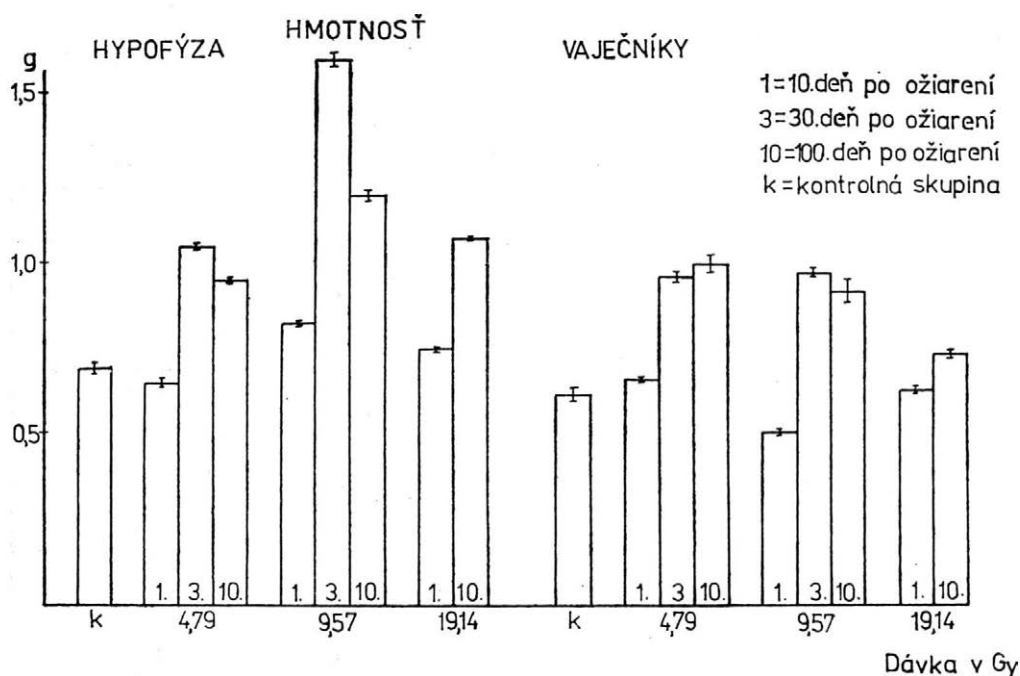
Skupina	Deň po ožiarení	Priemerný počet terciárnych folikulov $\pm$ s. e. m.	Priemerný počet žltých teliesok $\pm$ s. e. m.
1.	kontroly	34,0 $\pm$ 19,09	0
2.	10.	7,0 $\pm$ 1,0	0
	30.	6,0 $\pm$ 1,0	1,0 $\pm$ 1,0
	100.	23,0 $\pm$ 3,0	1,0 $\pm$ 1,0
3.	10.	7,5 $\pm$ 5,5	1,5 $\pm$ 0,5
	30.	4,5 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,0
	100.	5,0 $\pm$ 1,0	1,0 $\pm$ 1,0
4.	10.	5,5 $\pm$ 4,5	0,5 $\pm$ 0,5
	100.	2,0 $\pm$ 2,0	1,0 $\pm$ 1,0

neatretických terciárnych folikulov. Prítomné terciárne folikuly boli prevažne atretické. Čiastočnú obnovu folikulárneho aparátu sme zaznamenali v 100. dni po ožiarení vaječníkov oviec dávkou 4,79 Gy.

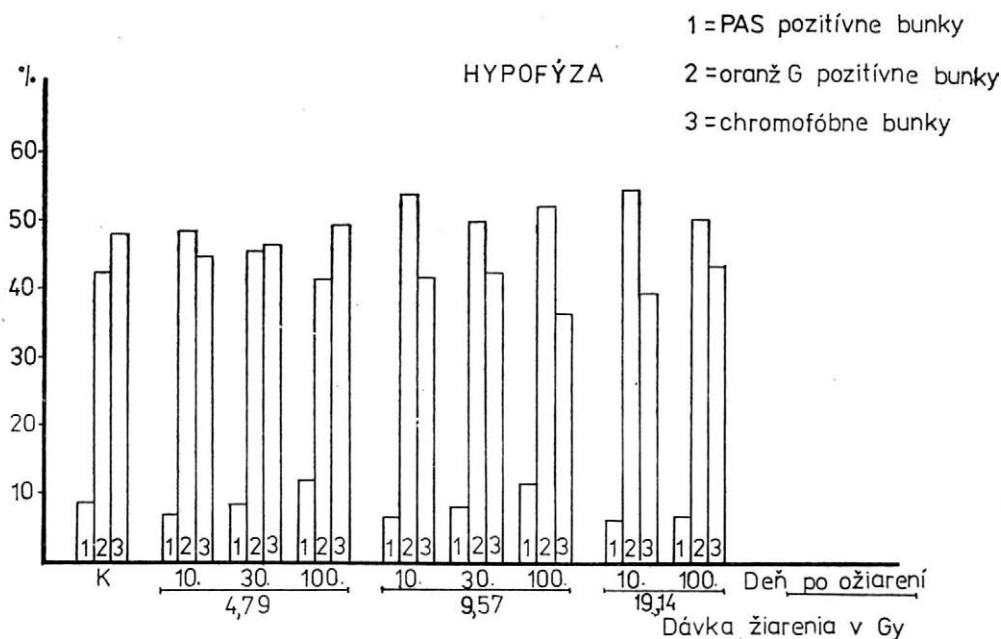
Atretické folikuly sme pri hodnotení jednotlivých štádií atrézie (tab. III) u oviec kontrolnej skupiny väčšinou zaradili do štádia ranej a definitívnej atrézie. U oviec po ožiarení dávkou 4,79 Gy bolo zastúpenie jed-

III. Zastúpenie neatretických a atretických terciárnych folikulov (v percentách) a diferenciácia atretických folikulov na jednotlivé štádiá atrézie (v percentách z počtu atretických folikulov) — The proportions of non-atretic and atretic tertiary follicles (in percent) and the differentiation of atretic follicles into different stages of atresia

Skupina	Deň po ožiarení	Percento terciárnych folikulov		Percento jednotlivých štádií atrézie folikulov		
		neatretických	atretických	raná atrézia	definitívna atrézia	neskorá atrézia
1.	kontroly	34,5	65,5	42,85	51,95	5,20
2.	10.	0	100,0	36,36	36,36	27,28
	30.	0	100,0	42,86	42,86	14,28
	100.	10,8	89,2	43,90	46,34	9,76
3.	10.	7,1	92,9	54,85	30,77	15,38
	30.	0	100,0	14,28	57,14	28,58
	100.	0	100,0	30,00	60,00	10,00
4.	10.	0	100,0	0	0	100,0
	100.	0	100,0	50,0	0	50,0



1. Priemerná hmotnosť hypofýzy a vaječníkov oviec jednotlivých pokusných skupín (v gramoch) — The average weight of hypophysis and ovaries in the ewes of the test groups (in grams)



2. Percentuálne zastúpenie jednotlivých typov adenohypofyzárnych buniek u oviec jednotlivých pokusných skupín — Percentual proportions of different types of adenohypophysial cells in the ewes of the test groups

notlivých foriem atrézie podobné ako u oviec kontrolnej skupiny. Po ožiarení vaječníkov dávkou 9,57 Gy v 30. a 100. dni boli atretické folikuly prevažne v štádiu definitívnej atrézie a po ožiarení dávkou 19,14 Gy v 10. dni v štádiu neskorej atrézie, v 100. dni v štádiu ranej a neskorej atrézie.

Výsledky kvantitatívnej cytologickej analýzy adenohipofyzárnych buniek sú uvedené na obr. 2. V 10. dni po ožiarení uvedenými dávkami sme zaznamenali pokles počtu PAS-pozitívnych buniek; tento pokles pri dávke 19,14 Gy pretrvával aj v 100. dni po ožiarení. Po ožiarení vaječníkov dávkami 4,79 Gy a 9,57 Gy sme v 100. dni od ožiarovania zaznamenali zvýšenie počtu PAS-pozitívnych buniek. Zastúpenie oranž-G-pozitívnych buniek bolo u všetkých ožiarených oviec vyššie ako u kontrolnej skupiny, s výnimkou 100. dňa po ožiarení dávkou 4,79 Gy.

DISKUSIA

Ako zistil Baker (1966), závisí stupeň poškodenia folikulov a počet zárodočných buniek prežívajúcich ožiarenie u opíc a iných druhov od použitej dávky žiarenia a od doby uplynutej od ožiarovania. Účinok žiarenia na oocyty opíc sa začína prejavovať asi vo štvrtom dni. Najviac sú oocyty postihnuté v siedmom až desiatom dni po ožiarení dávkou 5000 r (50 Gy). Podobné účinky X-lúčov sme potvrdili v našom pokuse u oviec, u ktorých sme po ožiarení vaječníkov dávkami 9,57 a 19,14 Gy v 30. a 100. dni nezistili prítomnosť oocytov v terciárnych folikuloch. Dávka žiarenia, ktorou sú odstránené všetky oocyty z viacvrstvových folikulov, kolíše podľa druhu zvierata. Napr. u myši miznú folikuly v 30. dni po ožiarení dávkou 1890 r (18,9 Gy) (Mandl a Zuckerman, 1956a), u potkana dávkou 4400 r (44 Gy) — (Mandl a Zuckerman, 1956b). Podľa Oakberga a Clarka (1964) môžu byť druhové rozdiely v citlivosti oocytov spôsobené rozdielmi v konfigurácii chromozómov v čase ožiarovania.

Rádiosenzitivita viacvrstvových a Graafových folikulov je vo všeobecnosti približne rovnaká u všetkých druhov, aj keď folikuly myši sú dvakrát citlivejšie ako folikuly potkanov, morčiat alebo opíc (Baker, 1971). Po ožiarení vaječníkov sa bunky *membrana granulosa* stávajú pyknotickými a uvoľňujú sa do folikulárnej tekutiny (Mandl, 1964). Podobné zmeny buniek *membrana granulosa* popisujeme po ožiarení vaječníkov oviec dávkou 9,57 Gy v 10. dni.

Z celkových zmien na vaječníkoch po ožiarení je popisovaná ich značná hyperémia (Hahn a Ward, 1971) s praskaním krvných ciev v *theca folliculi interna* a výskytom hemoragických folikulov, ktoré môžu pretrvávať aj niekoľko mesiacov (Baker a Neal, 1977; Tokoš a i., 1980). Dochádza k zmenšovaniu vaječníkov a k zníženiu ich hmotnosti, čo Lacassagne a i. (1962) pripisujú deštrukcii folikulov. Tieto zistenia, až na deštrukciu folikulov, sme v našom pokuse nepotvrdili. Priemerná hmotnosť vaječníkov ožiarených oviec bola vyššia ako hmotnosť vaječníkov kontrolných oviec, čo môže byť spôsobené zápalovými zmenami po ich priamom ožiarení.

V dlhodobom pokuse po celotelovom ožiarení kráv expozíciou 0 až 600 R (0—154,6 mC/kg) nezaznamenali Erickson a i. (1976) zmenu

reprodukčných vlastností pokusných zvierat pri porovnaní s kontrolnými zvieratami.

Najcitlivejšou časťou hypofýzy na žiarenie je adenohypofýza. Pokusy u potkanov ukázali, že ožiarenie hlavy vedie ku zmenám ovariálnej štruktúry spojenej s modifikáciou estrálneho cyklu (Matsumoto, 1972). Po ožiarení potkanov expozíciou 190 R (49 mC/kg) zistil Matsumoto (1973) zmenu počtu PAS-pozitívnych buniek adenohypofýzy. Po ožiarení oviec expozíciou 64,4 mC/kg zistili Maraček a i. (1980) zmenu počtu PAS-pozitívnych buniek. Nami zistený prvotný pokles počtu PAS-pozitívnych buniek v 10. a 30. dni po ožiarení dávkami 4,79 Gy a 9,57 Gy s jeho následným vzostupom v 100. dni po ožiarení je porovnateľný so zmenami počtu PAS-pozitívnych buniek po ovariektómii bahníc (Maraček a Arendarčík, 1968).

Naše pozorovania potvrdzujú značnú citlivosť folikulárneho aparátu vaječníkov oviec na žiarenie v porovnaní s primátmi, u ktorých k uvedeným zmenám v Graafových folikuloch dochádza až po expozícii dávkou okolo 5000 R (1290 mC/kg) — (Baker a Neal, 1977).

Literatúra

ARENDAČÍK, J. — STANÍKOVÁ, A. — MAROSSY, A. — MARAČEK, I. — ITZE, L. — HORÁK, J.: Vplyv X-lúčov na gonadotropnú funkciu adenohypofýzy a na ovariálnu štruktúru bahníc. Prednesené na Celoštátnej rádiobiol. konf., Starý Smokovec, 21.—24. mája 1973.

BAKER, T. G.: The sensitivity of oocytes in post-natal rhesus monkeys to X-irradiation. *J. Reprod. Fertil.*, 12, 1966, s. 183-192.

BAKER, T. G.: Radiosensitivity of mammalian oocytes with particular reference to the human female. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, 110, 1971, s. 746-761.

BAKER, T. G. — NEAL, P.: Action of ionizing radiations on the mammalian ovary. In: ZUCKERMANN, WEIR: *The Ovary*. 2nd ed., Vol. III. New York, Academic Press 1977, s. 1-58.

DESAIVE, P.: Restoration of primordial follicles in the irradiated ovary. In: HEVESY, FORSBERG, ABBAT, eds., *Advances in Radiobiology*. Edinburgh, Oliver and Boyd 1957, s. 274-280.

ERICKSON, B. H. — REYNOLDS, R. A. — MURPHREE, R. L.: Late effects of ^{60}Co radiation in bovine oocyte as reflected by oocyte survival, follicular development and reproductive performance. *Radiat. Res.*, 68, 1976, s. 132-137.

HAHN, E. W. — WARD, W. F.: Changes in ovarian intravascular compartment prior to superovulation in X-irradiated rats. *Radiat. Res.*, 46, 1971, s. 192-198.

ICHIKAWA, Y. — McCracken, J. A. — BAIRD, D. T. — UNO, A.: Effect of X-ray irradiation on ovarian steroid secretion in the sheep. *Proc. int. Congr. Endocrin.*, 3rd, Excerpta Med. Found, int. Congr., Ser. No 157, 1968, 210 s.

LACASSAGNE, A. — DUPLAN, J. F. — MARCOVICH, H. — RAYNAUD, A.: The action of ionizing radiations on the mammalian ovary. In: S. ZUCKERMANN, ed., *The Ovary*. 1st ed., Vol. II. New York, Academic Press 1962, s. 463-532.

MANDL, A. M.: The radiosensitivity of oocytes at different stages of maturation. *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, 158, 1963, s. 141.

MANDL, A. M.: The radiosensitivity of germ cells. *Biol. Rev. Cambr. philos. Soc.*, 39, 1964, s. 288-371.

MANDL, A. M. — ZUCKERMANN, S.: Changes in the mouse ovary after X-ray sterilization. *J. Endocrinol.*, 13, 1956a, s. 262.

MANDL, A. M. — ZUCKERMANN, S.: The reactivity of the X-irradiated ovary of the rat. *J. Endocrinol.*, 13, 1956b, s. 243.

MARAČEK, I. — ARENDARČÍK, J.: Interrelations between pituitary FSH and

ICSH content and cytological changes following ovariectomy and partial thyroidectomy in sheep. *Endocrin. exp.*, 2, 1968, s. 225-235.

MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — TOKOŠ, M. — BALÚN, J.: Funkčne-morfologické zmeny adenohipofýzy oviec po ožiarení X-lúčmi. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, s. 153-160.

MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. anim. Sci.*, 27, 1968, s. 451-465.

MATSUMOTO, A.: Effects of X-ray irradiation in early postnatal rats on subsequent development of ovaries. *Annot. zool. jap.*, 45, 1972, s. 80-87.

MATSUMOTO, A.: Changes in the ovaries and pituitary of female rats exposed to X-rays before weaning. *J. Fac. Sci., Tokyo*, 13, 1973, s. 95-105.

MESS, B.: Morfológiai vizsgálati módszerek a hypothalamo-hypophysealis rendszerei. A hisérleti orvostudomány vizsgálo módszerei. Szerkesztette Kovács A. Budapest, Akadémiai Kiadó 1962, s. 298-306.

MURRAY, J. M.: A study of the histological structure of mouse ovaries following exposure to Roentgen irradiation. *Amer. J. Roentgenol. Radium Ther.*, 25, 1931, s. 1-46.

OAKBERG, E. F. — CLARK, E.: Species comparisons of radiation response of the gonads. In: CARLSON, GASSNER, eds., *Effects of Ionizing Radiation on the Reproductive System*. Oxford, Pergamon 1964, s. 11-24.

TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — MARAČEK, I. — STANIČKOVÁ, A. — BALÚN, J.: Zmeny vaječníkov oviec po ožiarení X-lúčmi. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, s. 91-100.

Došlo dňa 20. 4. 1983

АРЕНДАРЧИК, И. — ТОКОШ, М. — ПРАСЛИЧКА, М. — БАЛУН Й. (Ветеринарный институт, Кошице; Природоведческий факультет УПИШ, Кошице): Влияние дифференцированных доз облучения на фолликулярный аппарат яичников и на аденогипофиз овец. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983 (10) : 597-604.

Изучали влияние дифференцированных доз облучения, применяемых непосредственно на яичники при вскрытии живота, на количественные и качественные изменения фолликулярного аппарата яичников и на аденогипофиз овец в анаэстрический период и восстановительные процессы в упомянутых органах по истечении времени от облучения. При облучении яичников дозой 4,79 Гр по истечении некоторого времени от облучения установили повышенную массу яичников. На 10 и 30 день после облучения число третичных фолликулов сократилось, на 100 день их число по сравнению с состоянием на 10 день увеличилось в 4 раза. В аденогипофизе установили постепенное повышение числа ПАС-положительных клеток. После облучения яичников дозой 9,57 Гр яичники были меньше всего повреждены на 10 день после облучения, тогда как на 30 и на 100 день все имеющиеся третичные фолликулы находились в состоянии зарастания. По сравнению с контрольной группой количество гонадотропных клеток аденогипофиза после резкого снижения после облучения постепенно повысилось. После облучения яичников дозой 19,14 Гр все третичные фолликулы были в стадии зарастания и число ПАС-положительных клеток аденогипофиза было в сравнении с контрольной группой ниже.

Х-лучи; облучение яичников; третичные фолликулы; зарастание; восстановительные процессы

ARENDAČIK, J. — TOKOŠ, M. — PRASLIČKA, M. — BALÚN, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Faculty of Science, P. J. Šafárik University, Košice): *The Effect of Graded Radiation Doses upon the Follicular Apparatus of Ovaries and the Adenohypophysis of Ewes*. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983 (10) : 597-604.

Gradually increased radiation doses were applied directly to the ovaries of laparotomized ewes. The effect of these doses was studied as exerted on the qualitative and quantitative changes in the follicular apparatus of the ovaries and adenohypophysis of ewes in anoestrus and upon the recovery processes later on after irradiation. The ovaries irradiated with the dose of 4.79 Gy were found to be heavier when examined after some time from irradiation. The 10th and 30th day from

irradiation the number of tertiary follicles decreased, the 100th day from irradiation their number increased to a four-fold level, as compared with the 10th day. Adenohypophysis showed a gradual growth of the number of PAS-positive cells. After the irradiation of ovaries with the dose of 9.57 Gy the ovaries showed the lowest rate of damage on the 10th day from irradiation; the 30th and 100th day from irradiation all the present tertiary follicles were in the state of atresia. In comparison with the control group, the amount of gonadotropic cells of adenohypophysis gradually increased, recovering from a rapid drop after irradiation. When the ovaries were irradiated with the dose of 19.14 Gy, all the tertiary follicles were in the state of atresia and the number of PAS-positive cells of adenohypophysis was lower in comparison with the control group.

X-rays; irradiation of ovaries; tertiary follicles; atresia; recovery processes

Adresy autorov:

Prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., MVDr. Marián Tokoš, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Jozef Balún, CSc., Ústredná veterinárna nemocnica, Komenského 73, 041 81 Košice

Prof. MUDr. Milan Praslička, DrSc., katedra všeobecnej biológie PF UPJŠ, Moyzesova 11, 040 00 Košice

DYNAMIKA ZMIEN AKTIVÍT INHIBUJÚCICH TRYPSÍN (TIA) V CERVIKÁLNOH HLIENE, KRVÍ A HISTOMORFOLOGICKEJ STAVBY MATERNICE OVIEC OŽIARENÝCH X-LÚČMI

M. Molnárová, J. Arendarčík, M. Tokoš

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — TOKOŠ, M. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Dynamika zmien aktivít inhibujúcich trypsin (TIA) v cervikálnom hliene, krvi a histomorfologickej stavby maternice oviec ožiarených X-lúčmi*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 605-612.

Vplyv ionizujúceho žiarenia na reprodukčné orgány oviec sme študovali po jednorazovom lokálnom ožiarení vaječníkov rôznymi dávkami X-lúčov. 22 oviec plemena slovenské merino, dvojročných, o priemernej živej hmotnosti 30 kg, rozdelených do štyroch pokusných skupín, sme ožiarili dávkami: I. skupina $n = 6$, 4,78 Gy (500 R), II. skupina $n = 6$, 9,67 Gy (1000 R), III. skupina $n = 6$, 19,14 Gy (2000 R). Ovce IV. skupiny, kontrolnej, boli len laparotomované a neožiarené. Trypsín inhibičnú aktivitu krvnej plazmy a cervikálneho hlienu sme stanovovali zo spomalenia hydrolýzy nízkomolekulového substrátu (TAPA); hrúbku epitelov krčka a tela maternice sme merali po fixácii a ofarbení mikroskopicky. Dynamika zmien TIA cervikálneho hlienu v percentách sa líšila u skupín v priebehu 10, 30 a 100 dní (1,84 K, Ø 1.—10. deň: 1 = 2,1; 2 = 1,7; 3 = 1,7; 4 = 2,5). Ø 10.—30. deň: 1 = 1,8; 2 = 1,7; 3 = 1,8; 4 = 1,0). Ø 30.—100. deň: 1 = 1,7; 2 = 1,1; 3 = 1,2; 4 = 1,5). Dynamika zmien hrúbky epitelu endometria, maternicových rohov a krčka maternice mala odlišný charakter. 100 dní po ožiarení sa hodnoty líšili iba nevýrazne. Dynamika TIA krvnej plazmy (celková aj nízkomolekulové frakcie) bola u jednotlivých skupín odlišná a v 100. dni pokusu boli hodnoty signifikantne nižšie ako v prvom dni. Pri porovnaní hodnôt u ožiarených a kontrolných oviec vidíme, že hodnoty TIA cervikálneho hlienu vzrástli v období od 10. do 30. dňa, hodnoty nízkomolekulových TIA plazmy poklesli.

ionizujúce žiarenie; krvná plazma; hrúbka epitelu endometria; uterus, cervix

Vplyv ionizujúceho žiarenia na metabolizmus buniek reprodukčných orgánov hospodárskych zvierat je v nám dostupnej literatúre (Staničková a i., 1980) pomerne málo opísaný. Väčšina autorov predpokladá, že pod vplyvom ionizujúceho žiarenia môže dôjsť ku dvojitému zlomu makromolekúl DNK, aj keď nevylučujú niektoré iné možné zmeny. Prežitie buniek alebo ich zmenený metabolizmus je výsledkom veľmi zložitého procesu nielen vo vnútri jednotlivých buniek alebo u jedného druhu tkaniva.

Cervikálny hlien je komplexný sekrét produkovaný prevažne neciliárnymi bunkami valcovitého epitelu krčka maternice. Umožňuje spermiiám vstúpiť do horného genitálneho traktu a jeho vlastnosti riadené hormónmi (viskoelasticita, biochemické zloženie a podobne) sú v priamej korelácii s penetráciou spermii. V období prevládajúceho pôsobenia

estrogénov je hlien priehľadný a podporuje prenikanie spermií. V období prevládajúceho pôsobenia gestagénov sa mení charakter hlienu a morfológia cervixu. Zmenené podmienky pri používaní hormonálnych preparátov na cielavedomé ovplyvnenie ruje hospodárskych zvierat môžu vyvolať nežiaduce zmeny, ktoré v konečnom dôsledku ovplyvnia fertilitu ošetrovaných zvierat. Faktory pôsobiace mutagénne do značnej miery pôsobia na metabolizmus buniek genitálneho traktu a prejavia sa v zmenených vlastnostiach krvnej plazmy a cervikálneho hlienu. V závislosti od spôsobu a dávky ožiarovania X-lúčmi sa menia vlastnosti krvnej plazmy a cervikálneho hlienu, inhibujúce trypsín (Molnárová a Arendarčík, 1981). Histologické zmeny oviduktov, endometria a vagíny oviec ožiarovaných X-lúčmi a závislosť od hladín estrogénov v krvnej plazme opísali Arendarčík a i. (1974), zmeny histomorfologického charakteru maternice vajcovodov oviec Staníková a i. (1980), vaječníkov oviec Tokoš a i. (1980). Gonadotropná funkcia adenohipofýzy krýs je podľa Mikolajczyka (1977) ovplyvnená X-lúčmi, ktoré inhibujú vylučovanie uvoľňovacích hormónov (liberínov), lebo pozoroval kvantitatívne zmeny neurosekrečných granúl v bunkách jadier hypotalamu. Podobné pozorovania u oviec opísali Maraček a i. (1975) a Arendarčík a i. (1979).

V našich predchádzajúcich prácach (Arendarčík a i., 1974) sme pri štúdiu ovplyvnenia funkcií pohlavného aparátu oviec a regulačnej úlohy hypotalamo-hypofyzárnej oblasti po ožiarení X-lúčmi použili rôzne dávky žiarenia priamo na vaječníky po laparotómii a hypotalamo-hypofyzárnu oblasť. Sledovali sme dynamiku zmien aktivít trypsínových inhibítorov (TI) v krvnej plazme a v cervikálnom hliene oviec (Molnárová a Arendarčík, 1981). V predkladanej práci sme sa zamerali na štúdium dynamiky zmien trypsín inhibičnej aktivity (TIA) v cervikálnom hliene a v krvnej plazme oviec po jednorazovom ožiarení vaječníkov X-lúčmi vo zvyšujúcich sa dávkach (4,78; 9,57; 19,14 Gy/500, 1000 a 2000 R) a porovnávali sme ich s kvalitatívnymi zmenami buniek endometria, krčka a rohov maternice.

MATERIÁL A METÓDA

Pre pokusy sme použili dvojročné ovce plemena slovenské merino, o živej hmotnosti približne 30 kg, v čase fyziologického anestrusu. Ovce sme ožiarovali jednorazovo priamo na vaječníky pri laparotómii zvyšujúcimi sa dávkami X-lúčov. Okolie operačnej rany sme chránili olovenou platňou 150 X 200 mm. Na ožiarovanie sme použili roentgenový prístroj Chirana A (RTG prístroj TVR-T-250) s minútovým prílevom 0,804 Gy, ohnisková vzdialenosť 40 cm, filtre 0,5 mm Cu a 0,5 mm Al, príkon 15 mA, 180 kV. Pokusné skupiny (po šiestich ovciach) sme ožiarovali týmito dávkami:

I. skupina — 4,78 Gy (500 R), II. skupina — 9,57 Gy (1000 R), III. skupina — 19,14 Gy (2000 R). Ovce IV. pokusnej skupiny boli laparotomované bez ožiarovania a slúžili ako kontrolné. Dynamiku zmien sme vyhodnocovali počas 10, 30 a 100 dní. Cervikálny hlien sme odoberali na vatové tampóny, heparizovanú krv sme po odobratí centrifugovali pri 2500 otáčkach za minútu, plazmu sme zmrazili a uchovávali pri teplote -25°C až do stanovenia TIA. Aktivitu nízkomolekulových inhibítorov sme stanovovali zo supernatantnej frakcie krvnej plazmy po pridaní kyseliny chloristej (HClO_4) a po neutralizácii uhlíčitom draselným (K_2CO_3). TIA vzoriek cervikálneho hlienu a krvnej plazmy sme upravili metódou podľa Bartíka a i. (1974) stanovovali zo spomalenia hydrolýzy syntetického nízkomolekulového substrátu N-alfa-tosyl-p-nitroanilidu (TAPA) hovädzím trypsínom. Inhibičnú aktivitu sme vyjadrili v percentách inhibovaného trypsínu. Inkubačná zmes obsahovala

10 μg trypsínu na 1 ml. Za 100% aktivitu sme pokladali $\Delta A_{405} = 1,00$ po desaťminútovej inkubácii pri teplote 25 °C.

Excízy materníc sme odoberali do média formalín — sublimát — kyselina octová (4:1:2 obj.) pri zabíjaní oviec. Po odvodnení a vypratí sme ich zaliali do parafínu a sámkovým mikrotómom sme zhotovili 6 až 7 μm hrubé rezy. Tie sme farbili hematoxylin-eozínom a zisťovali sme celkové kvalitatívne a kvantitatívne zmeny povrchového epitelu endometria. Výšku povrchového epitelu maternicových rohov a krčka maternice sme merali metódou podľa Hacketta a Hafsa (1969). Hrúbku ostatných vrstiev maternicových rohov sme merali metódou podľa Burtona (1980). Výsledky kvalitatívnej analýzy sme štatisticky hodnotili Studentovým *t*-testom.

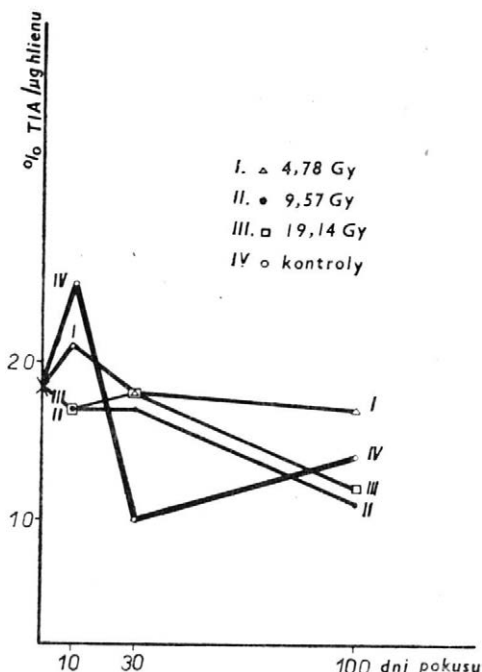
VÝSLEDKY

Dynamika zmien TIA cervikálneho hlienu, vyjadrená v percentách inhibovaného trypsínu 1 μg hlienu, je znázornená na obr. 1. Po prvých desiatich dňoch hodnoty TIA signifikantne vzrástli u kontrolnej skupiny z 1,84 na 2,5 %.

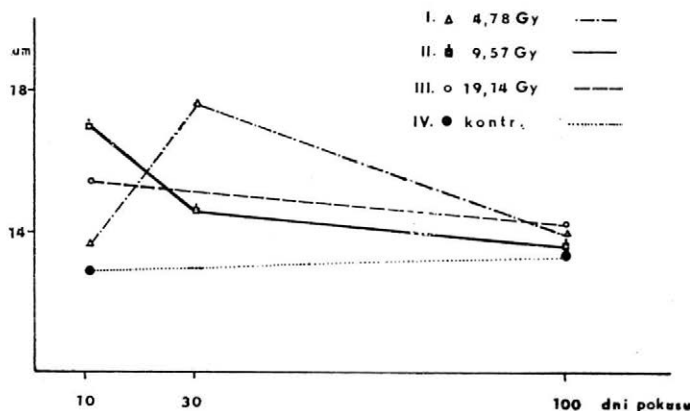
U I. pokusnej skupiny je zvýšenie menej výrazné — na 2,1 % a u II. a III. pokusnej skupiny hodnoty nevýrazne poklesli na 1,7 %. Počas ďalších 20 dní pokusu u kontrolnej skupiny TIA výrazne poklesla na 1,0 %. U I. skupiny bol tento pokles menej výrazný — na 1,8 % a u II. a III. skupiny sme zistili nesignifikantné zmeny 1,7 % a 1,8 %. V nasledujúcich 70 dňoch TIA cervikálneho hlienu kontrolnej skupiny vzrástla na 1,5 %, ale u pokusných skupín mala naďalej klesajúcu tendenciu (1,7 %, 1,1 % a 1,2 %).

Na obr. 2 je znázornená dynamika zmien priemernej výšky povrchového epitelu endometria, maternicových rohov a krčka pokusných oviec. Zistili sme, že u ožiarených oviec sa hodnoty hrúbky epitelu krčka po 10 dňoch zvýšili štatisticky významne z 12,8 na 13,6, 15,4, 17,0 μm , najviac po strednej dávke (1000 R) použitého žiarenia. Po 30 dňoch pokusu u skupiny s najnižšou dávkou žiarenia sme zistili výrazné zhrubnutie epitelu krčka z 13,6 na 17,6 μm , zatiaľ čo u II. skupiny sme pozorovali pokles hrúbky epitelu krčka zo 17,0 na 14,6 μm . Po 100 dňoch pokusu sa hodnoty u jednotlivých skupín nevýrazne líšili. Porovnanie zmien hrúbky epitelu rohov maternice, podepitelového tkaniva a svalovej vrstvy maternicových rohov je znázornené na obr. 3.

Dynamika zmien TIA krvnej plazmy oviec po ožiarení je znázornená na obr. 4. Aktivita nízkomolekulových inhibítorov plazmy (obr. 4a) vykazovala maximálne zvýšenie u III. pokusnej skupiny po 10 dňoch od ožiarenia. U I. a II. pokusnej skupiny bolo zvýšenie v porovnaní s hodnotami kontrolných oviec menej výrazné. 30. deň pokusu sme pozorovali zníženie TIA u všetkých skupín, ktoré pokračovalo ďalej do 100. dňa

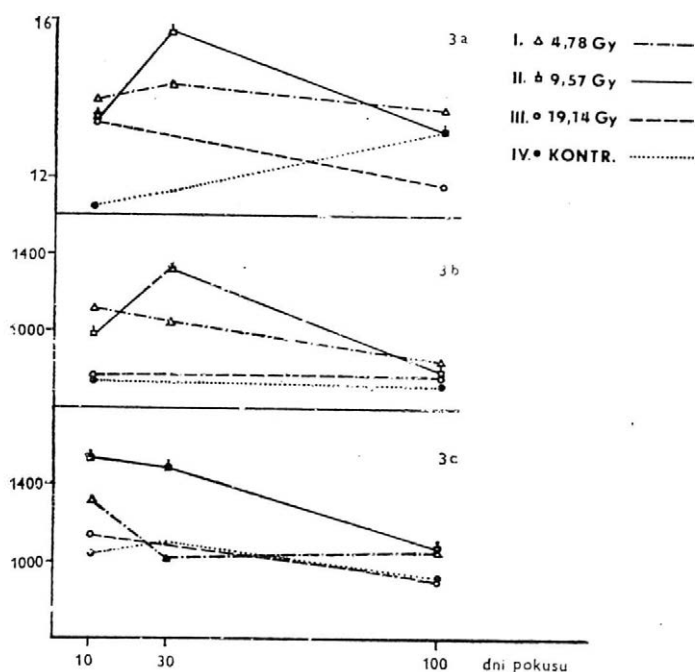


1. TI aktivita cervikálneho hlienu oviec — TI activity of cervical mucus in ewes



2. Hrúbka epitelu krčka maternice — Epithelium thickness in uterine cervix

pokusu, keď sa hodnoty u jednotlivých skupín nevýrazne líšili. Dynamika celkovej inhibície trypsínu krvnou plazmou je znázornená na obr. 4b. V prvých desiatich dňoch sme zaznamenali najvyššie hodnoty TIA u kontrolnej skupiny (44,5 %). Hodnoty u pokusných skupín sa líšili nevýrazne (I. 34,2 %, II. 39,6 %, III. 36,7 %), ale v priemere boli nižšie ako u kontrolnej skupiny. Po 30 dňoch hodnoty celkovej TIA plazmy kontrolnej skupiny mierne poklesli na 42,4 %, zatiaľ čo u I. pokusnej skupiny vzrástli z 34,2 % na 41,4 %. U pokusných skupín II a III sme zaznamenali mierny pokles (u II. skupiny na 37,0 %, u III. skupiny na 32,2 %). V nasledujúcich dňoch pokusu zo stého dňa sme zaznamenali



3a EPITEL ROHOV MATERNICE
3b POĎEPITELOVÉ TKANIVO
3c ŠVALOVÁ VRSTVA

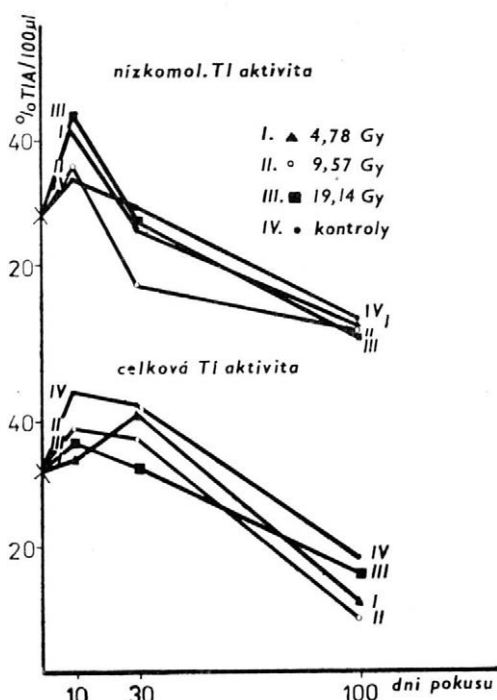
3. Hrúbka tkanív v μm — Tissue thickness in μm

pokles hodnôt celkovej TIA krvnej plazmy u všetkých skupín a hodnoty boli celkove nižšie ako na začiatku pokusu.

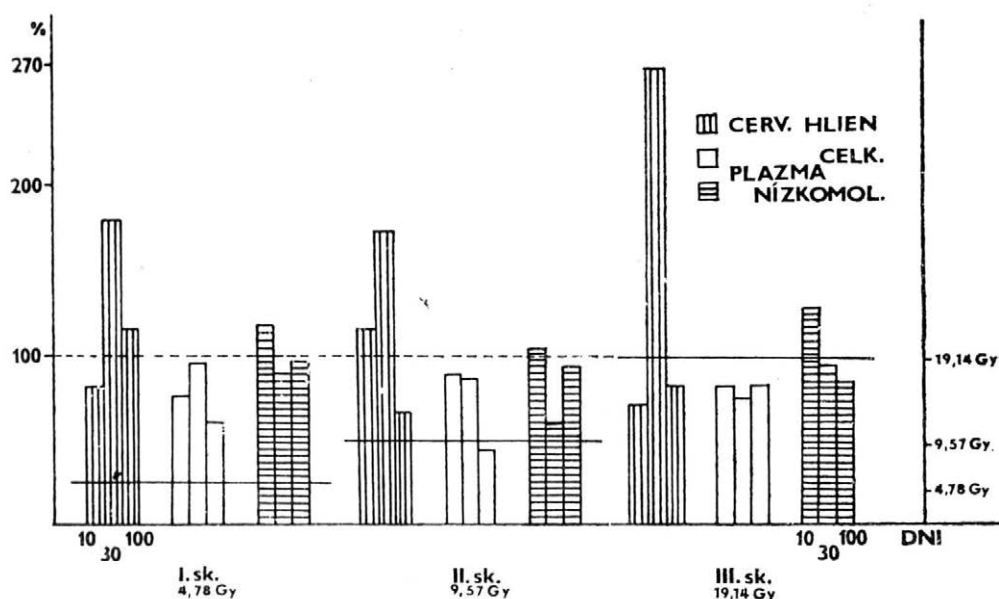
Na obr. 5 je znázornená dynamika TIA počas pokusu, vyjadrená v percentách hodnôt kontrolnej skupiny. Prvá trojica plných stĺpcov znázorňuje hodnoty TIA cervikálneho hlienu počas 10, 30 a 100 dní pokusu u I. pokusnej skupiny. Podobne prázdne stĺpce znázorňujú celkovú TIA krvnej plazmy, šrafované stĺpce predstavujú hodnoty nízkomolekulových TIA plazmy ožiarených oviec.

DISKUSIA

V ožiarenom organizme vzniká veľa špecifických zmien, ktoré sa odrážajú v zmenenom kvalitatívnom aj kvantitatívnom zložení bielkovinovej zložky krvného séra a sekrétov (Arendarčík a Itze, 1962; Paulov, 1975;



4. Plasma oviec — Ewe plasma



5. Aktivita inhibitorov trypsínu (%) v cervikálnom hliene a plazme oviec po ožiarení vaječníkov rôznymi dávkami X-lúčov, vyjadrené v percentách hodnôt kontrolnej skupiny — Trypsin-inhibitor activity (%) in the cervical mucus and plasma of ewes after the irradiation of ovaries with different doses of X-rays, expressed as the percentage of the values of the control group

Arendarčík a i., 1980; Molnárová a Arendarčík, 1981). U ožiarených zvierat sa zistili zmeny v rýchlosti obratu sérových bielkovín ako aj objavenie sa nových bielkovinových frakcií v sére. Hlavným dôsledkom radiačného zásahu je poškodenie proteosyntézy, závažné sú zmeny štruktúry a aktivity enzýmov (Hupka a i., 1971). Na základe novších výsledkov rádiobiologického výskumu bolo zistené, že nie každá zmena v štruktúre DNA musí viesť k nepriaznivým dôsledkom pre organizmus alebo k jeho zániku. Konečný výsledok postiradiačného poškodenia je modifikovaný nielen citlivosťou ožiareného organizmu, ale je ovplyvnený aj reparačnými mechanizmami (Dienstbier a Bakoš, 1971; Ebert a Howard, 1965a, b).

Zmeny TIA cervikálneho hlienu sú v korelácii s dávkou žiarenia a poukazujú na zmenený metabolizmus týchto biologicky aktívnych látok a podobne aj na kvalitatívne zmeny povrchového epitelu endometria, čo je v súlade so zisteniami v našich predchádzajúcich prácach (Arendarčík a i., 1974; Molnárová a i., 1979).

Pri kvalitatívnom histologickom hodnotení povrchového epitelu endometria sme najväčšie zmeny zistili u skupín s vyššími dávkami žiarenia. Zvýšil sa počet „round cels“ a vo zvýšenej miere sme pozorovali subnukleárnu vakuolizáciu buniek endometria. Výrazné krvné výrony sme zistili v podepitelovom tkanive, najmä u III. pokusnej skupiny po 10 dňoch pokusu, podobne ako v našich predchádzajúcich pokusoch (Staníková a i., 1980).

Hrúbka epitelu krčka maternice, rohov maternice, podepitelového tkaniva a svalovej vrstvy koreláciu s dávkou žiarenia nenaznačovali. Hrúbka epitelu krčka maternice je po 10 dňoch najvyššia po strednej dávke žiarenia, potom sa znižuje. Najnižšia dávka žiarenia spôsobila maximálne zvýšenie po 30 dňoch pokusu. Po 100 dňoch sa hodnoty u všetkých pokusných skupín priblížili hodnotám u kontrolných oviec. Hrúbky epitelu rohov maternice, podepitelového tkaniva a svalovej vrstvy boli najviac ovplyvnené strednou dávkou žiarenia. To, že hodnoty TIA cervikálneho hlienu kontrolných oviec sú po 10 dňoch najvyššie, ale hrúbka epitelu krčka maternice je najnižšia, je spôsobená pravdepodobne zvýšenou syntézou trypsínových inhibítorov, vyvolanou laparotómiou. Podľa toho najnižšia dávka žiarenia rýchlosť syntézy znížila a stredná a najvyššia dávka posunula rovnováhu medzi syntézou a odbúraním smerom k zvýšenej degradácii (obr. 1). Reparačné tendencie s ohľadom na TIA sme u skupín II a III do 100 dní nepozorovali. Hodnoty TIA krvnej plazmy sú ovplyvnené žiarením, podobne ako TIA cervikálneho hlienu. Po 10 dňoch je TIA krvnej plazmy u pokusných skupín nižšia než u kontrolnej skupiny, po 30 dňoch u skupín so strednou a najvyššou dávkou ožiarovania stúpa tak, že sa približuje hodnotám kontrolných oviec, čo by mohlo naznačovať určitú reparačnú schopnosť krvivorného systému s ohľadom na TIA. Vyhodnotením podielu frakcií nízkomolekulových inhibítorov krvnej plazmy sme zistili, že po 10 dňoch majú najväčší podiel u skupiny s najvyššou dávkou ožiarovania a najnižší podiel u kontrolných oviec, čo by mohlo naznačovať zasa zvýšenú degradáciu vysokomolekulových inhibítorov trypsínu. Celkovo nižšie hodnoty TIA na konci pokusu môžu súvisieť s adaptačnými procesmi u pokusných oviec. Porovnaním parametrov získaných po ožiarení a ich vyjadrením v percentách hodnôt u kontrolných oviec sme zistili zníženú TIA plazmy

vo všetkých prípadoch, TIA cervikálneho hlienu a nízkomolekulové inhibítory plazmy mali vo väčšine prípadov klesajúcu tendenciu ku 100. dňu pokusu.

Literatúra

- ARENDARČIK, J. — HALAGAN, J. — MARAČEK, I. — STANÍKOVÁ, A.: Histologické zmeny oviduktu, endometria a vagíny vo vzťahu k hladine estrogénov v krvi bahnic po ožiarení X-lúčmi. *Folia veter.*, 18, 1974, s. 347-361.
- ARENDARČIK, J. — ITZE, L.: Príspevok k štúdiu aktivity niektorých hemokoagulačných a hematologických faktorov u psov po gama žiarení. *Veter. Čas.*, 5, 1962, s. 485-494.
- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I. — HALAGAN, J.: Histologické zmeny endometria, epitelu vagíny a cervikálneho hlienu jalovic po podávaní melengestrol acetátu. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, s. 29-38.
- ARENDARČIK, J. — MARAČEK, I. — STANÍKOVÁ, A. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Vplyv ionizujúceho žiarenia na gonadotropnú funkciu hypotalamo-hypofyzárneho systému u oviec. [Záverečná správa.] Košice, Vysoká škola veterinárska 1980.
- ARENDARČIK, J. — STANÍKOVÁ, A. — MARAČEK, I. — MAROSSY, A. — ITZE, L. — HORÁK, J.: Gonadotropná funkcia adenohipofýzy a štruktúra ovárií bahnic po ožiarení X-lúčmi. *Folia veter.*, 23, 1979, č. 1-2, s. 19-39.
- BURTON, G. J.: Light microscopy of the endometrium of the dusky leaf-monkey (*Presbytis obscura*). *J. Reprod. Fertil.*, 59, 1980, s. 107-111.
- DIENSTBIER, Z. — BAKOS, K.: Nukleární medicína. Praha, Avicenum 1971.
- EBERT, M. — HOWARD, A.: Current topics in radiation research. *N. Holl. Publ. Comp.*, Vol. 1, 1965a.
- EBERT, M. — HOWARD, A.: Current topics in radiation research. *N. Holl. Publ. Comp.*, Vol. 2, 1965b.
- HACKETT, A. J. — HAFS, H. D.: Biochemical and morphological changes in bovine tubular genitalia during the estrous cycle. *J. anim. Sci.*, 29, 1969, s. 35-38.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — STANÍKOVÁ, A. — HORÁK, J.: Príspevok k histológii a cytológii adenohipofýzy bahnic po ožiarení X-lúčmi. *Folia veter.*, 19, 1975, č. 1-2, s. 119-135.
- MIKOLAJCZYK, H. J.: Microwave irradiation and endocrine functions. In: *Proc. int. Symp.*, Warsaw, 15-18 October, 1973. Warsaw, Polish Medical Publishers 1974, s. 46-51.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Irradiation effect at different x-ray dose rates on the activity of trypsin inhibitors in the cervical mucus and in the plasma of sheep. *Physiol. bohemoslov.*, 30, 1981, s. 444.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — STANÍKOVÁ, A.: Proteín-proteázové inhibítory v cervikálnom hliene oviec po ožiarení. *Českoslov. Fyziol.*, 29, 1979, s. 366.
- PAULOV, Š.: Homeostáza a adaptácia bielkovín krvného séra. UK Bratislava, 1975.
- STANÍKOVÁ, A. — MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — BALÚN, J. — PRASLIČKA, M.: Kvalitatívne a kvantitatívne histologické zmeny vajcovodu a matrice po ožiarení X-lúčmi. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, s. 161-170.
- TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — PRASLIČKA, M. — MARAČEK, I. — STANÍKOVÁ, A. — BALÚN, J.: Zmeny vaječníkov oviec po ožiarení X-lúčmi. *Veter. Med. (Praha)*, 25, 1980, s. 91-100.

Došlo dňa 20. 4. 1983

МОЛНАРОВА, М. — АРЕНДАРЧИК, И. — ТОКОШ, М. (Ветеринарный институт, Кошице): Динамика изменений трипсин ингибирующих активностей (ТИА) во влагалищной слизи, крови, и гистоморфологического строения матки овец, облученных лучами X. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983 (10) : 605-612.

Влияние ионизирующего облучения на воспроизводственные органы овец изучали после разового местного облучения яичников различными дозами лучей X. 22 двухлетних овцы

породы словацкий меринос со средней живой массой 30 кг, разделенные на четыре опытные группы, облучали дозами: I группа $n = 6$, 4,78 Ги (500 Р), II группа $n = 6$, 9,67 Ги (1000 Р), III группа $n = 6$, 19,14 Ги (2000 Р). Овцы IV группы — контрольной — были только лапаротомированы без облучения. Трипсин ингибирующую активность кровяной плазмы и влагалищной слизи определяли на основании замедления гидролиза низкомолекулярного субстрата (ТАРА), толщину эпителиев шейки и тела матки мы определяли после фиксации и окраски микроскопически. Динамика изменений ТИА влагалищной слизи в процентах отличалась у групп в течение 10, 30 и 100 дней (1,84 К, в среднем за 1—10 дней: 1 = 2,1; 2 = 1,7; 3 = 1,7; 4 = 2,5. В среднем за 10—30 дней: 1 = 1,8; 2 = 1,7; 3 = 1,8; 4 = 1,0. В среднем за 30—100 дней: 1 = 1,7; 2 = 1,1; 3 = 1,2; 4 = 1,5). Динамика изменений толщины эпителия эндометрия, рогов матки и шейки матки имела различный характер. Через 100 дней после облучения величины отличались незначительно. Динамика ТИА кровяной плазмы (общая и низкомолекулярной фракции) была у отдельных групп различной, а на 100 день опыта значения были достоверно ниже, чем на 1 день. При сравнении значений у облученных и контрольных овец видно, что значения ТИА влагалищной слизи возросли в период от 10 до 30 дня, значения низкомолекулярных ТИА плазмы понизились.

ионизирующее облучение; кровяная плазма; толщина эпителия эндометрия; матка; шейка матки

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Dynamics of Changes in the Trypsin-Inhibiting Activities (TIA) of Cervical Mucus and Blood and in the Histomorphological Composition of Uterus in X-Ray Irradiated Ewes*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 605-612.

The effect of ionizing radiation on the reproduction organs of ewes was studied after single local irradiation of ovaries with different X-ray doses. Twenty two ewes of the Slovak Merino breed at the age of two years and at the average live weight of 30 kg were divided into four test groups to be irradiated with the following doses: Group I ($n = 6$) 4.78 Gy (500 R), group II ($n = 6$) 9.67 Gy (1000 R), group III ($n = 6$) 19.14 Gy (2000 R). The ewes of the fourth group were used as the control; they were only laparotomized, otherwise left intact. The trypsin-inhibiting activity of blood plasma and cervical mucus was determined from the retardation of the hydrolysis of low-molecular substrate (TAPA); the thickness of the epithelium of uterine body and cervix was measured microscopically after fixing and staining. The dynamics of changes in the TIA of cervical mucus, in percentual expression, showed differences when measured in the course of 10, 30 and 100 days (1.84 K, aver. for 1st—10th day: 1 = 2.1; 2 = 1.7; 3 = 1.7; 4 = 2.5. Aver. for 10th—30th days: 1 = 1.8; 2 = 1.7; 3 = 1.8; 4 = 1.0. Aver. for 30th—100th day: 1 = 1.7; 2 = 1.1; 3 = 1.2; 4 = 1.5). The dynamics of changes in the thickness of the epithelium of endometrium, uterine horns and uterine cervix had a different nature. A hundred days from irradiation the values showed little difference. TIA dynamics of blood plasma (total as well as low-volume fraction) was different in each group and on the 100th day of trial the values were significantly lower than on the first day. The comparison of the values for irradiated and control ewes indicates that the TIA values of cervical mucus increased in the period from the 10th to the 30th day whereas the values of low-molecule TIA in plasma decreased.

ionizing radiation; blood plasma; epithelium thickness in endometrium; uterus; cervix

Adresa autorov:

Ing. Marie Molnárová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., MVDr. Marián Tokoš, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

PRENATÁLNY A POSTNATÁLNY VÝVOJ SERTOLIHO BUNIEK U BARANOV

V. Cigánková

CIGÁNKOVÁ, V. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Prenatálny a postnatálny vývoj Sertoliho buniek u baranov*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10): 613-620.

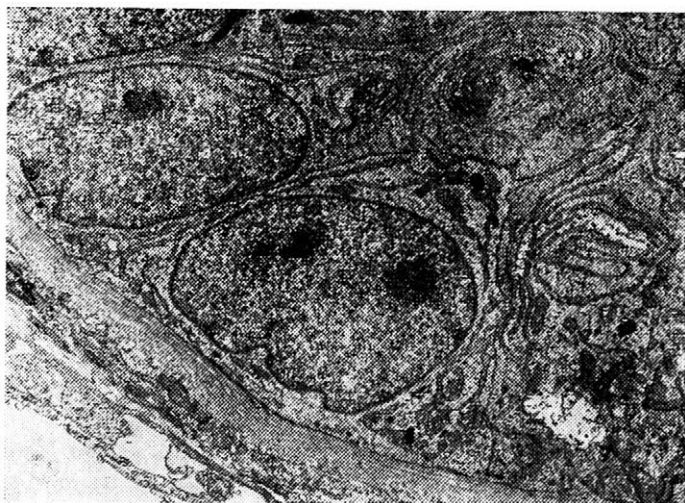
V práci sme zamerali pozornosť na morfológický obraz Sertoliho buniek z vývojového aspektu. Študovali sme tkanivo semenníkov barančiek od 80. do 140. dňa intrauterinného vývoja, semenníky jahniat od 1. do 40. dňa po narodení a semenníky pohlavne dospelých baranov. Sledovali sme vývoj a diferenciáciu prekursorov Sertoliho buniek a ich zmenu na zrelé diferencované Sertoliho bunky. Opísali sme elektrónovomikroskopický obraz týchto buniek s osobitným zameraním na tie morfológické zmeny buniek, ktoré úzko súvisia s ich funkčnou aktivitou počas vývoja semenníkov. Doterajšie poznatky v tejto oblasti sú neúplné a týkajú sa prevažne laboratórnych zvierat a človeka. Výsledky práce rozširujú teoretické základy z histológie a embryológie, fyziológie, endokrinológie a andrológie. Zároveň môžu slúžiť ako východiskový materiál pri štúdiu regulácie spermatogenézy v experimentálnych podmienkach. vývoj a diferenciácia Sertoliho buniek; elektrónová mikroskopia

Sertoliho bunky v cicavčích semenotvorných kanálikoch zohrávajú v priebehu spermatogenézy dôležitú úlohu. Prekursori Sertoliho buniek sú dôležité pri sexuálnej diferenciácii pohlavného traktu počas ontogenetického vývoja. Tieto bunky syntetizujú látku, ktorá inhibuje vývoj Mülleroého kanálika [Josso, 1972]. Produkujú aj bielkovinu, ktorá má schopnosť viazať sa s testosterónom a dihydrotestosterónom a difundovať androgény a estrogény k zárodočným bunkám [De Jong a i., 1973]. Sú schopné fagocytovať degenerované zárodočné bunky [Franchi a Mandl, 1964] a zbytky cytoplazmy spermatíd [Reddy a Svoboda, 1967]. Sertoliho bunky vytvárajú mechanickú podporu spermatogenických buniek [Flickinger, 1967] a zúčastňujú sa na procese spermiácie [Vitale — Calpe, 1967].

V tejto práci by sme sa chceli zaoberať morfológickým štúdiom vývoja a diferenciácie Sertoliho buniek počas prenatálneho a postnatálneho vývoja.

MATERIÁL A METÓDY

Vyšetrovali sme semenníky barančiek v 80. až 140. dni intrauterinného vývoja a v 1. až 40. dni po narodení v desaťdňových intervaloch, ako aj semenníky pohlavne dospelých baranov. Celkove sme vyšetrili 23 barančiek a 9 baranov. Pokusné zvieratá boli klinicky zdravé. Plody umele inseminovaných oviec plemena



1. Prekurzory Sertoliho buniek. Elektronogram zhotovený zo semenníka barančeka v 120. dni intrauterinného vývoja — Precursors of Sertoli cells. Electronogram from the testis of a ram on the 120th day of intrauterine development

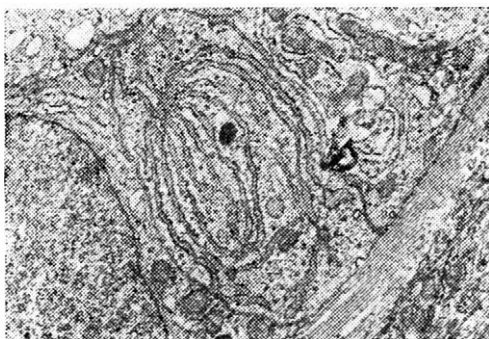
slovenské merino sme získavali laparotómiou, semenníky jahniat a baranov kastráciou. Materiál sme spracovali pre elektrónovú a svetelnú mikroskopiu.

Pre elektrónovomikroskopické vyšetrenie sme odobraté vzorky tkaniva imerzne fixovali v 2,5 až 3% glutaraldehyde a postfixovali v 1% kyslíčniku osmičelom (obidva v 0,15 mol/l fosfátovom pufri pri pH 7,4—7,6). Doba fixácie v každom roztoku bola dve hodiny. Po odvodnení v acetóne a propylénoxide sme vzorky zaliali do Durcupanu. Ultratenké rezy sme kontrastovali dvojfázovo uranylacetátom a citrátom olova (Reynolds, 1963) a pozorovali elektrónovým mikroskopom Tesla BS 613.

VÝSLEDKY

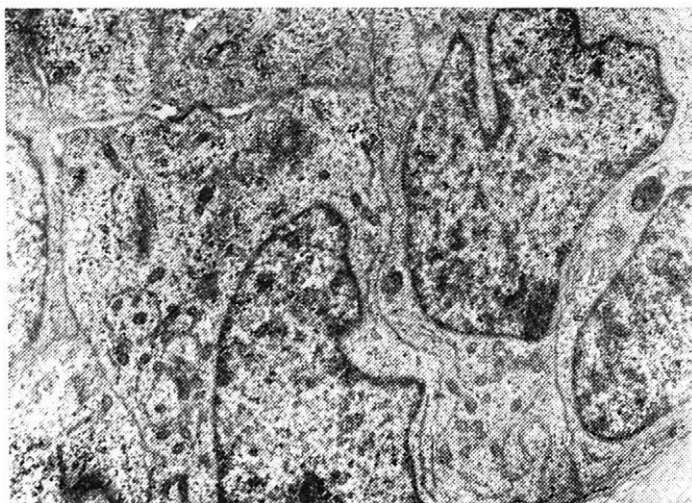
PREKURZORY SERTOLIHO BUNIEK

V 80. až 140. dni intrauterinného vývoja bol elektrónovomikroskopický obraz prekursorov Sertoliho buniek tento: (obr. 1): Bunky ležia na bazálnej membráne semenotvorných kanálikov. Majú pretiahly, hviezdicovitý alebo pyramidálny tvar. Jadro je oválne, uložené obyčajne na periférii s ojedinelými malými invagináciami na jadrovej membráne. Chromatín je pomerne rovnomerne rozptýlený, heterochromatínu je málo. Jadierko je retikulárneho typu. Cytoplazma obsahuje množstvo cysterien granulárneho endoplazmatického retikula. Cisterny sú mier-

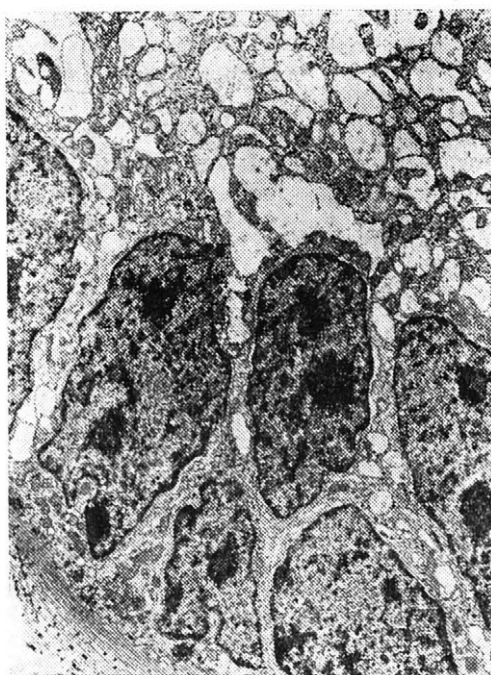


2. Časť cytoplazmy prekursora Sertoliho bunky s mierne dilatovanými koncentricky usporiadanými cisternami granulárneho endoplazmatického retikula a sekrečným granulom — Part of the cytoplasm of Sertoli cell precursor with slightly dilated concentrically arranged cisterns of granular endoplasmic reticulum and secretory granule

3. Prekurzory Sertoliho buniek. Elektronogram zhotovený zo semenníka barančeka v prvom dni po narodení — Sertoli cell precursors. Electronogram from the testis of a ram lamb on the first day from birth



ne rozšírené, obsahujú materiál strednej elektrónoptickej denzity. Často vytvárajú koncentricky usporiadané útvary (obr. 2). Mitochondrie majú pretiahly tvar s paralelnými kristami. V cytoplazme možno sledovať dobre vyvinutý Golgiho aparát, ribozómy, polyribosómy, zhluky glykogénu, mikrotubuly a sekreторické granuly s denzným materiálom ohraňčené membránou. Vezikuly agranulárneho endoplazmatického retikula sú ojedinelé. Cytoplazmatická membrána, najmä v tých častiach, kde bunka nasadá na bazálnu membránu, obsahuje pinocytárne váčky. Pozorovali sme aj prekuzory Sertoliho buniek v rôznych štádiách mitózy.



4. Degenerujúce prekuzory Sertoliho buniek. Elektronogram zhotovený zo semenníka barančeka v 20. dni po narodení — Degenerating Sertoli cell precursors. Electronogram from the testis of a ram lamb on the 20th day from birth



5. Časť Sertoliho buniek. Elektronogram zhotovený zo semenníka pohlavne dospelého barana v štádiu nástupu spermiogenézy — Part of Sertoli cells. Electronogram from the testis of a sexually mature ram at the stage of the onset of spermiogenesis

Po narodení prekonávajú prekursori Sertoliho buniek rapídne morfológické zmeny. Mení sa veľkosť a tvar buniek (obr. 3). Bunky sú vysoké, štíhle, na apikálnom konci tvoria prstencovité cytoplazmatické výbežky, ktorými obkolesujú zárodočné bunky. Jadro má nepravidelný tvar a na jadrovej membráne sa často vytvárajú hlboké záhyby. Pribúda množstvo heterochromatínu, ktorý vytvára zhluky pri jadrovej membráne. V cytoplazme stúpa množstvo agranulárneho endoplazmatického retikula a voľných ribozómov. Prekursori Sertoliho buniek sa mitoticky delia a ich počet, najmä prvých 20 dní po narodení, vzrastá. Po ukončení mitózy niektoré bunky degenerovali (obr. 4). Degenerujúce bunky sa vyznačovali zmenami na jadre i cytoplazme, najmä kondenzáciou jadrového chromatinu, zvlnením jadrovej membrány, vakuolizáciou cytoplazmy a poškodením mitochondrií.

SERTOLIHO BUNKY

Počas pohlavnej dospelosti sa prekursori menia na Sertoliho bunky. Bunky sú vysoké, štíhle a majú cylindrický tvar (obr. 5). V štádiu nastupujúcej spermiogenézy vytvára jadro početné invaginácie a pri jadrovej membráne sú zhluky heterochromatínu. Jadierko je multivezikulárneho typu. Výrazne stúpa množstvo cisterien hladkého endoplazmatického retikula a voľných ribozómov v cytoplazme týchto buniek. Cytoplazma obsahuje aj Golgiho aparát, hojnosť mitochondrií, mikrotubuly, kým cisterny granulárneho endoplazmatického retikula sú menej početné. Mitózu v pohlavne dospelých Sertoliho bunkách sme nepozorovali.

DISKUSIA

Prekursori Sertoliho buniek sú vlastne somatické bunky, ktoré sú derivátmi coelomových buniek pohlavného povrazca. Zohrávajú dôležitú úlohu v raných štádiách počas sexuálnej diferenciácie gonád. Syntetizujú látku, ktorá inhibuje vývoj Müllerovho kanálíka, tzv. anti-Müllerian hormone — AMH (Josso, 1972; Blanchard a Josso, 1974; Donahoe a i., 1976; Tran a i., 1977; Picard a i., 1978). Krátko po sexuálnej diferenciácii sú organizované do trámčov a obkolesené bazálnou membránou (Bustos—Obregón a i., 1975). Počas prenatalného i postnatalného vývoja je medzi prekuzormi Sertoliho buniek a zárodočnými bunkami úzky vzťah. Podľa Frencha a Ritze-

na (1973) produkujú bielkovinu, tzv. androgen binding protein — ABP. Táto látka je schopná viazať testosterón a difundovať ho k zárodočným bunkám, bez ktorého by ich ďalší vývoj a diferenciácia nemohli prebiehať. Elektronovomikroskopický obraz prekursorov Sertoliho buniek v našich pozorovaniach potvrdzujú proteosyntetickú aktivitu týchto buniek. Svedčí o tom výskyt polyribozómov a drsného endoplazmatického retikula. Cisterny drsného endoplazmatického retikula sú často usporiadané paralelne alebo koncentricky, ich steny sú mierne rozšírené a obsahujú materiál strednej elektrónoptickej denzity. Takto zohrávajú prekursorsy Sertoliho buniek, ako aj Sertoliho bunky, dôležitú úlohu v transporte a udržiavaní vysokej koncentrácie androgénov v semenotvorných kanálikoch. O prenose látok z interstícia do semenotvorných kanálikov a opačne svedčí aj hojný výskyt pinocytárnych váčikov najmä v tých častiach, kde bunky nasadajú na bazálnu membránu. Podľa Dorringtona a i. (1975) sú prekursorsy Sertoliho buniek *in vitro* schopné za prítomnosti FSH transformovať testosterón na 17 B-estradiol. Estrogény v semenníkoch zabezpečujú vzájomnú interakciu (feed-back) medzi Sertoliho bunkami a intersticiálnymi bunkami (De Jong a i., 1973; Tcholakín a Steinberger, 1978). Ďalšia dôležitá úloha prekursorov Sertoliho buniek spočíva v migrácii zárodočných buniek. V cytoplazme prekursorov Sertoliho buniek sme pozorovali hojný výskyt mikrotubúl a mikrofilamentov. Tieto obsahujú aktínu podobný meromysin, ktorý tvorí kontraktilný aparát (Toyama a i., 1979), vďaka ktorému si možno lepšie vysvetliť cyklické zmeny v pozícii zárodočných buniek z lumenú kanálika k bazálnej membráne a opačne (Hatier a Grignon, 1980; Almond a Singh, 1980). Sertoliho bunky teda možno charakterizovať ako vysoko pleiomorfné bunky, schopné aktívneho pohybu. Sú schopné fagocytovať injikované partikuly a degenerované zárodočné bunky (Franchi a Mandl, 1964; Flickinger, 1967; Black, 1971; Schulzová, 1974) a eliminovať zvyšky cytoplazmy spermatíd (Reddy a Svoboda, 1967). Predstavujú mechanickú podporu spermatogenetických buniek (Flickinger, 1967), zúčastňujú sa na procese spermiácie, t.j. na uvoľňovaní zreých spermií (Burgos a Vitale-Calpe, 1967; Vitale-Calpe, 1970; Ross, 1976). Vo vývoji Sertoliho buniek je pozoruhodné to, že kým prekursorsy Sertoliho buniek vykazujú čulú mitotickú aktivitu, mitóza Sertoliho buniek pohlavne dospelých zvierat nebola pozorovaná (Sapsford, 1962; Mancini a i., 1960). Po ukončení mitózy počas puberty sa prekursorsy Sertoliho buniek menia na dospelé Sertoliho bunky. Mitotickú aktivitu sme pozorovali vo všetkých sledovaných prenatálnych štádiách, ako aj krátko po narodení. Vrchol dosahovala prvých 20 dní po narodení. Často bola doprevádzaná degeneratívnymi zmenami na prekursoroch Sertoliho buniek, ktoré pozorovali aj Novi a Saba (1968) a Ramos a Dym (1977).

Výrazné zmeny počas vývoja a diferenciácie Sertoliho buniek sme zistili na jadre a jadierku. Pozorovali sme, že s pribúdajúcim vekom vytvára jadrová membrána početné invaginácie. U dospelých Sertoliho buniek sa často tvorili útvary bizarného tvaru (Nagano, 1966). Cameron a i., (1975) pozorovali, že v dôsledku vplyvu FSH na prekursorsy Sertoliho buniek u potkanov vznikajú na jadrovej membráne početné invaginácie. Jadierko u prekursorov Sertoliho buniek je retikulárneho typu. Predstavuje obvyklý typ jadierka prítomného u väčšiny

buniek syntetizujúcich ribozomálnu RNK. U dospelých baranov sme v súvislosti s nástupom spermiogenézy pozorovali jadierko multivezikulárneho typu. Toto jadierko predstavuje zvláštny typ nukleolárneho systému s mebranóznymi komponentmi tubulárnej alebo vezikulárnej povahy a je charakteristické pre dospelé prežúvavce (u barana opisujú jadierko Courot, 1970, a Vrzgulová, 1977, u býka, capa a srnca Zibrín, 1976, 1977). Neobvyklý nukleolárny aparát Sertoliho buniek prežúvavcov môže predstavovať medzičlánok mechanizmu, pomocou ktorého sa uplatňuje na Sertoliho bunkách účinok FSH a prostredníctvom nich ovplyvňuje celú spermiogenézu (Zibrín, 1977).

Pri štúdiu tkaniva semenníkov sme sústredili pozornosť na sledovanie morfológických zmien, ktoré súvisia s funkčnou aktivitou týchto zložiek.

Literatúra

- ALMOND, D. G. — SINGH, R. P.: Development of the Sertoli cell in the fetal mouse. *Acta anat.*, 106, 1980, s. 270-276.
- BLACK, V. H.: Gonocytes in fetal guinea pig testis: phagocytosis of degenerating gonocytes by Sertoli cells. *Amer. J. Anat.*, 131, 1971, s. 415-425.
- BLANCHARD, M. G. — JOSSO, N.: Source of the anti-müllerian hormone synthesised by the fetal testis: müllerian inhibiting activity of fetal bovine Sertoli cells in tissue culture. *Pediat. Res.*, 8, 1974, s. 968-971.
- BURGOS, M. H. — VITALE-CALPE, R.: The mechanism of spermatogenesis in the toad. *Amer. J. anat.*, 120, 1967, s. 227-252.
- BUSTOS-OBREGÓN, E. — COUROT, M. — FLECHON, J. E. — HOCHEREAU-de REVIERS, M. T. — HOLSTEIN, A. F.: Morphological appraisal of gametogenesis. Spermatogenetic process in mammals with particular reference to man. *Andrologia*, 7, 1975, č. 2, s. 141-163.
- CAMERON, D. F. — MARKWALD, R. R.: Histochemical and ultrastructural observations on normal and FSH-injected prepubertal rat Sertoli cells. In: FRENCH, F. — HANSSON, V. — RITZEN, E. — NAYFEH, S.: Hormonal regulation of spermatogenesis. New York, Plenum Press 1975.
- COUROT, M.: Effect of gonadotropins on the seminiferous tubules of the immature testis. In: ROSENBERGER, E. — PAULSEN, C. A.: The human testis. New York, London, Plenum Press 1970, s. 355-367.
- DONAHOE, P. K. — ITO, J. — MARFATIA, S. — HENDREN, W. H.: The production of müllerian inhibiting substance by the fetal neonatal and adult rat. *Biol. Reprod.*, 15, 1976, s. 329-333.
- DORRINGTON, J. — ROLLER, N. — FRITZ, I. B.: Effects of follicle-stimulating hormone on cultures of Sertoli cell preparations. *Molec. cell. Endocrin.*, 3, 1975, s. 57-70.
- FLICKINGER, CH. J.: The postnatal development of the Sertoli cells of the mouse. *Z. Zellforsch.*, 78, 1967, s. 92-113.
- FRANCHI, L. L. — MANDL, A. M.: The ultrastructure of germ cells in fetal and neonatal male rats. *J. Embryol., exp. Morphol.*, 12, 1964, s. 289-308.
- FRENCH, F. S. — RITZEN, E. M.: Androgen binding protein in efferent duct fluid of rat testis. *J. Reprod. Fert.*, 32, 1973, s. 479-483.
- HATIER, R. — GRIGNON, G.: Ultrastructural study of Sertoli cells in rat seminiferous tubules during intrauterine life and the postnatal period. *Anat. Embryol.*, 160, 1980, s. 11-27.
- JONG, F. H. de — HEY, A. H. — MOLEN, H. J. van der: Effect of gonadotropins on the secretion of estradiol-17 and testosterone by the rat testis. *J. Endocrinol.*, 57, 1973, s. 277-284.

JOSSO, N.: Permeability of membranes to the Müllerian-inhibiting substance synthesised by the human fetal testis *in vitro*: A clue to its biochemical nature. *J. clin. Endocr. Metab.*, 34, 1972, s. 265-270.

MANCINI, R. E. — NARBAITZ, R. — LAVIERI, J. C.: Origin and development of the germinative epithelium and Sertoli cells in the human testis: cytological, cytochemical and quantitative study. *Anat. Rec.*, 136, 1960, s. 477-489.

NAGANO, T.: Some observations on the fine structure of the Sertoli cell in the human testis. *Z. Zellforsch.*, 73, 1966, s. 89-106.

NOVI, A. M. — SABA, P.: An electron microscope study of the development of rat testis in the first ten postnatal days. *Z. Zellforsch. mikrosk. Anat.*, 86, 1968, s. 313-326.

PICARD, J. Y. — TRAN, D. — JOSSO, N.: Biosynthesis of labelled anti-müllerian hormone by fetal testes: evidence for the glycoprotein nature of the hormone and for its disulfide bond and structure. *Molec. cell. Endocrin.*, 12, 1978, s. 17-30.

RAMOS, A. S. — DYM, M.: Ultrastructural differentiation of rat Sertoli cells. *Biol. Reprod.*, 21, 1977, s. 909-922.

REDDY, K. J. — SVOBODA, D. J.: Lysosomal activity in Sertoli cells of normal and degenerating seminiferous epithelium of rat testis. An ultrastructural and biochemical study. *Amer. J. Pathol.*, 51, 1967, s. 1-17.

REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 1963, s. 208-212.

ROSS, M. N.: The Sertoli cell junctional specialization during spermiogenesis and at spermatum. *Anat. Rec.*, 186, 1976, s. 79-105.

SAPSFORD, C. S.: The development of the testis of the Merino ram, with special reference to the origin of the adult stem cells. *Austral. J. agric. Sci.*, 13, 1962, s. 487-502.

SCHULZE, C.: On the morphology of the human Sertoli cell. *Cell Tissue Res.*, 153, 1974, s. 339-356.

TCHOLAKIAN, R. K. — STEINBERGER, A.: Progesterone metabolism by cultured Sertoli cells. *Endocrinology*, 103, 1978, s. 1335-1343.

TOYAMA, Y. — OBINATA, T. — NOLTZER, N.: Crystalloids of actinlike filaments in the Sertoli cell of the swine testis. *Anat. Rec.*, 195, 1979, s. 47-62.

TRAN, D. — MEUSY-DESSOLLE, N. — JOSSO, N.: Anti-müllerian hormone is a functional marker of fetal Sertoli cells. *Nature*, 269, 1977, s. 411-412.

VITALE-CALPE, R.: Ultrastructural studies of spontaneous spermatum in the guinea pig. *Z. Zellforsch.*, 105, 1970, s. 222-233.

VRZGULOVA, M.: Regenerácia parenchýmu semenníkov baranov po experimentálnej ischémii v submikroskopickom obraze. [Habilitačná práca.] Košice, 1977. — Vysoká škola veterinárska.

ZIBRÍN, M.: Nukleolárny aparát Sertoliho buniek niektorých cicavcov. *Folia veter.*, 20, 1976, s. 69-79.

ZIBRÍN, M.: Ďalšie poznatky o ultraštruktúre normálnych a abnormálnych spermii niektorých cicavcov. [Habilitačná práca.] Košice, 1977. — Vysoká škola veterinárska.

Došlo dňa 1. 2. 1983

ЦИГАНКОВА, В. (Ветеринарный институт, Кошице): Дородовое и послеродовое развитие клеток Сертоли у баранов. *Veter. Med. (Praha)*, 28, 1983 (10) : 613-620.

Разработки были направлены на морфологическую картину клеток Сертоли в эволюционном аспекте. Изучали ткань семенников баранчиков в период от 80-го до 140-го дней внутриматочного развития, семенники ягнят в возрасте от 1-го до 40-го дней после окота и семенники половозрелых баранов. Определяли развитие и дифференциацию прекурсоров клеток Сертоли и их переход в зрелое состояние. Описана их электромикроскопическая картина с особым прицелом на те морфологические изменения, которые тесно связаны с их функциональной активностью в период развития семенников. Имеющиеся в данной области данные неполные и касаются преимущественно лабораторных животных и человека. Результаты разработок расширяют теоретические основы гистологии, эмбриологии, физиологии,

эндокринологии и андрологии. В то же время они могут служить исходным материалом в исследованиях регулирования сперматогенеза в экспериментальных условиях.

развитие и дифференциация клеток Сертоли; электронная микроскопия

CIGÁNKOVÁ, V. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Prenatal and Postnatal Development of Sertoli Cells in Rams*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 613-620.

The morphological picture of Sertoli cells was studied in view of development. The testicular tissue of rams was studied from the 80th to the 140th day of intrauterine development and the testes of ram-lambs were studied from the 1st to the 40th day from birth; further, the testes were studied in adult rams. The development and differentiation of Sertoli cell precursors were examined, including their change into differentiated mature Sertoli cells. The electron-microscopic picture of these cells was described with special emphasis on those morphological changes in cells which are closely related with their functional activity during the development of the testes. The findings obtained so far in this field are incomplete and concern mainly laboratory animals and man. The results of the study extend the theoretical knowledge in the fields of histology, embryology, physiology, endocrinology and andrology. At the same time, they may serve as starting material for the study of the control of spermatogenesis under experimental conditions.

development and differentiation of Sertoli cells; electron microscopy

Adresa autorky:

MVDr. Viera Cigánková, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

NEKROTICKÉ PROCESY ŽABERNÍ TKÁNĚ KAPRA, ZPŮSOBENÉ ZMĚNAMI VODNÍHO PROSTŘEDÍ

M. Hornich, J. Tománek

HORNICH, M. — TOMÁNEK, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Nekrotické procesy žaberní tkáně kapra, způsobené změnami vodního prostředí*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 621-632.

Histologické nálezy ukazují, že pod klinickým zjištěním branchionekrózy jsou skryty různé patogenetické procesy. Změny na žábřích vznikající při toxické branchionekróze mají povahu nekrobiotického procesu, který se u žaberních lamel projevuje zduřením respiračního epitelu a dilatací lamelárních sinů, u vrstevnatého epitelu žaberního hřebene a listů hypertrofií a hyperplazií epitelálních buněk. V pokročilých případech jsou zduřelým epitelem ložiskově vyplněny i interlamelární prostory. Jako toxickou branchionekrózu označujeme onemocnění, u kterého jsou chorobné procesy podmíněny intoxikací a auto-intoxikací amoniakem, přičemž základní roli hraje pH. Při experimentální intoxikaci amoniakem jsou změny na žábřích v zásadě stejné jako u toxické branchionekrózy, jejich stupeň však není tak silně vyjádřen. Změny při sférosporóze jsou charakterizovány silnými nekrotickými procesy jak v respiračním epitelu, tak i ve vrstevnatém epitelu žaber a dále výskytem různých vývojových stadií sférospór v epitelu. Sférospóry jsou dobře prokazatelné barvením alcianovou modří při pH 2,5. Změny na žábřích kaprů přirozeně invadovaných sférospórami, kteří byli dodatečně intoxikováni amoniakem, odpovídají nálezům při toxické branchionekróze, tj. degeneraci vrstevnatého a respiračního epitelu žaber, kombinovaných s nekrotickými změnami vyvolanými vývojovými stadii sférospór. Při silném okysličení vody chlórovým vápnem se hlavně ve vrstevnatém epitelu žaber silně pomnožují velké buňky s eozinofilními granuly, kterýžto proces považujeme za zánětlivou reakci. Při parazitární invazi trichodinou a chilodonelou se jedná o lokální zánětlivé reakce se zduřením respiračního epitelu.

toxická branchionekróza; intoxikace amoniakem; žaberní sférosporóza; nekrobióza; zánět

Podle statistických údajů Státního rybářství byla branchionekróza (nekróza žaber) kaprů co do výše ztrát zařazena v letech 1976 až 1980 na jedno z předních míst. Pod pojem branchionekrózy jsou však zahrnována různá žaberní onemocnění kaprů. Dále je nutné rozlišovat branchionekrózu jako patologicko-anatomický stav žaber od branchionekrózy jako onemocnění. Branchionekrózou jako onemocněním a vztahem onemocnění a její příčinou, etiologií, se zabývalo mnoho autorů. Jako příčina branchionekrózy byly uváděny bakteriální a virové vlivy (M i a c z y n s k i, 1965; L o p u c h i n a, 1968), nedostatek vitamínů, zvláště kyseliny pantothenové (W o l f, 1945; R u c k e r a j., 1952) a v neposlední době vliv čpavku a pH (S c h r e c k e n b a c h a j., 1975). Nekrózou žaber jako patologicko-anatomickým stavem a vývojem změn

na žábřích, patogenezi, se zabývala pouze Kovácsné-Gayerová (1977), a to hlavně vzhledem k onemocnění popsanému Schreckenbachem aj. (1975) a označenému Luckým (1981) jako toxická branchionekróza kapří.

V naší práci jsme se snažili u vzorků odebraných v terénu sledovat rozdílnou patogenezi změn na žábřích, které byly na základě klinického a morfologického vyšetření označeny jako branchionekróza. K doplnění nálezů jsme vyšetřili také žábry ryb intoxikovaných amoniakem v laboratorních pokusech.

MATERIÁL A METODA

Na patologicko-anatomické a histologické vyšetření byli odebíráni kapři z různých lokalit. Ve všech případech se jednalo o K₁ (kapří plůdek) a K₂ (kapří násada), protože starší kapři nejsou z fyziologických ani z technických důvodů na takové vyšetření vhodné. Podle anamnézy, patologicko-anatomických změn na žábřích a klinického nálezu jsme kapry rozdělili do šesti skupin.

1. Do první skupiny byli zařazeni kapři, u nichž bylo na základě klinického vyšetření stanoveno podezření na toxickou branchionekrózu. Kapří plůdek K₁ č. 101/82 až 105/82 pocházel z rybníka K., celková délka se pohybovala od 9,5 do 14 cm. Asi deset dnů před odlovem začal plůdek hynout. V době odlovu byla u některých kusů makroskopicky zjištěna združení žaberních listů a krváceniny na žábřích.

2. Do druhé skupiny byli zařazeni kapři s nálezem žaberní sférospórozy. Jednalo se jednak o kapří plůdek č. 25/81, 43/81, 44/81, 56/81 až 59/81, 32/82 až 35/82 o celkové délce 9,5 až 10,5 cm a průměrné hmotnosti 14,1 g, který byl označen jako klinicky zdravý a který pocházel z rybníků B. a H., jednak o kapří násadu č. 106/82 a 107/82 o celkové délce 25 až 28 cm, která pocházela z rybníka N., v němž se v letních měsících vyskytovalo průběžné hynutí, označované jako branchionekróza.

3. Do třetí skupiny byl zařazen klinicky zdravý kapří plůdek, který byl za laboratorních podmínek intoxikován amoniakem.

Kapří plůdek č. 11/83, 13/83, 24/83, 25/83 o celkové délce 12,7 až 14,5 cm byl před pokusem chován tři až čtyři týdny bez krmení. K simulaci intoxikace amoniakem byl použit chlorid amonný, ryby byly drženy tři až osm dnů v nádrži při teplotě $21 \pm 0,5^\circ\text{C}$, pH 7,9 až 8,2 a obsahu amoniaku 0,768 až 2,14 mg/l. Pak bylo pH vody povolna upravováno louhem sodným (0,1 mol/l) po dobu 330 minut z pH 8,2 na 9,5, resp. po dobu 180 minut z pH 8,2 na 9,0. Ryby byly těsně před uhytnutím za příznaků otravy amoniakem usmrceny a žábry fixovány. Výsledné hodnoty amoniaku činily 11,5, resp. 7,14 ml/l.

4. Do čtvrté skupiny byl zařazen kapří plůdek přirozeně invadovaný žaberními sférospórami, který byl v laboratorních podmínkách intoxikován amoniakem.

V prvním pokuse této skupiny jsme sledovali vliv akutní intoxikace amoniakem na sférospórami invadované kapry při náhlém zvýšení pH. Kapří plůdek č. 26/81 až 33/81 o celkové délce 9,0 až 10,5 cm a průměrné hmotnosti 13,4 g byl chován v nádržích při teplotě $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$; k vyvolání intoxikace amoniakem byl použit chlorid amonný; pH vody bylo upraveno jednorázově louhem sodným (0,1 mol/l) ze 7,0 na 7,85 až 8,6; výsledné hodnoty amoniaku činily 0,6 až 1,914 ml/l. Ryby byly usmrcovány těsně před uhytnutím.

V druhém pokuse této skupiny jsme sledovali vliv akutní intoxikace na sférospórami invadované kapry při pomalém zvyšování pH. Kapří plůdek č. 45/81 až 69/81 o celkové délce 10,0 až 12,5 cm a průměrné hmotnosti 15,2 g byl chován v nádržích při teplotě $22 \pm 0,5^\circ\text{C}$; k vyvolání intoxikace amoniakem byl použit chlorid amonný; pH vody bylo povolna upravováno po dobu 45 minut louhem sodným (0,1 mol/l) ze 7,2 na 7,9 až 8,2. Výsledné hodnoty amoniaku činily 0,592 až 2,244 ml/l.

Ve třetím pokuse této skupiny byl sledován vliv chronické intoxikace amoniakem na sférospórami zamořené kapry. Kapří plůdek č. 8/82 až 13/82 o celkové délce 11,0 až 14,5 cm a průměrné hmotnosti 16,3 g byl chován v nádržích při teplotě $20 \pm 0,8^\circ\text{C}$; k intoxikaci byl použit chlorid amonný, který byl přidáván dlouhodobě po dobu 24 dnů; pH vody bylo upravováno louhem sodným (0,1 mol/l) vždy v 8.00 hodin ráno po nočním poklesu. Výsledné koncentrace amoniaku se pohybovaly od počátečních 0,30 mg/l do konečných 1,909 mg/l.

5. Do páté skupiny byli zařazeni kapři s nálezem parazitární invaze *Chilodonella* sp. a *Trichodina* sp. Kapří násada č. 41/82 a 43/82 pocházela z rybníka J., kde bylo 14 dnů před tím zjištěno pH vody 9,0; amoniak vykazoval hodnoty 0,53 až 0,66 mg/l. Podle anamnézy se vyskytovalo v rybníku hynutí za příznaků dušení. Parazitologickým vyšetřením žaber byla prokázána *Chilodonella cyprini* ++ až +++ a *Trichodina* sp. ++. U kapří násady č. 44/82 až 49/82, která pocházela z rybníka Ja., se neprojevovaly klinické příznaky onemocnění. Parazitologickým vyšetřením byla zjištěna *Trichodina* sp. ++.

6. Do šesté skupiny byli zařazeni kapři K₁ č. 89/82 až 93/82 z rybníka C., ve kterém byly zjištěny klinické příznaky počínající toxické branchionekrózy kaprů. V tomto rybníku byla provedena léčba rozprášením chlórového vápna v dávce 30 kg/ha.

Vzorky žaber byly odebrány ze zabitých ryb, a to ihned po usmrcení stříhem za hlavou. Žábry byly fixovány 10% formalinem, zality do parafinu, řezány na sílu 5 µm a barveny hematoxylin-eozinem. K lepšímu rozlišení některých tkání a buněk byly dále použity tyto chemické reakce:

1. Schiffova reakce na průkaz aldehydů (Culling, 1975),
2. Kyselina jodistá — Schiffova reakce (PAS) na průkaz 1:2 glykolových skupin (vicinálních diolů) (Culling, 1975),
3. diastáza — PAS blokovácí reakce na glykogen (Culling, 1975),
4. alcianová modř při pH 1,0 na průkaz sulfátových skupin (Culling, 1975),
5. alcianová modř při pH 2,5 na průkaz kyselých mukopolysacharidů (Culling, 1975),
6. ninhydrin-Schiffova reakce na průkaz alfa-aminoskupin (Culling, 1975),
7. Farkas-Malloryho barvení na průkaz pojivových tkání a sféropór (Kisze-ly a Posalaky, 1964).

Žábry jsme řezali ve třech rovinách ve smyslu uložení orgánu v těle kapra: a) transverzální — A, b) sagitální — B, c) horizontální — C.

VÝSLEDKY

Nejvýraznější histologické změny bylo možné pozorovat na vrstevnatém epitelu žaberního hřebene, vrstevnatém epitelu žaberních listů a na respiračním epitelu žaberních lamel. Proto také budeme převážně popisovat změny na těchto částech žaber. Protože vrstevnatý epitel žaberního hřebene a vrstevnatý epitel žaberních listů má obdobnou stavbu a také změny byly v zásadě shodné, uvádíme tyto nálezy společně. Zdůrazněny budou případné rozdíly. Dále je nutné podotknout, že změny na zábrách se nevyvíjejí v celém orgánu současně, takže nacházíme vedle míst se silně vyvinutými procesy i místa jen velmi slabě postižená.

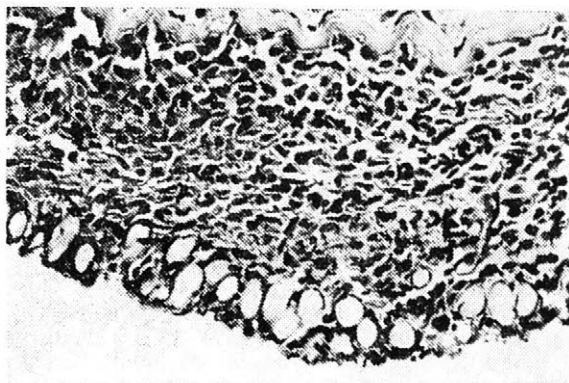
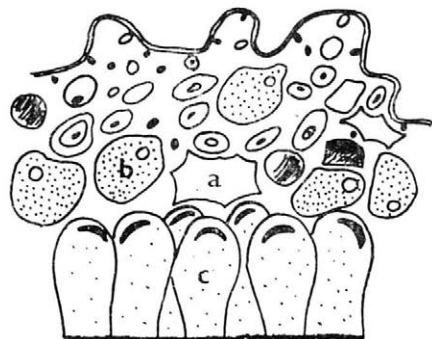
1. SKUPINA KAPRŮ, U NICHŽ BYLO NA ZÁKLADĚ KLINICKÉHO VYŠETŘENÍ STANOVENO PODEZŘENÍ NA TOXICKOU BRANCHIONEKRÓZU

Patologicko-anatomický náález

Žábry kaprů měly tmavě červené zabarvení a byly zduřelé, na svém povrchu byly pokryty vrstvou průhledného až zkaleného hlenu, morfologická stavba byla zachována.

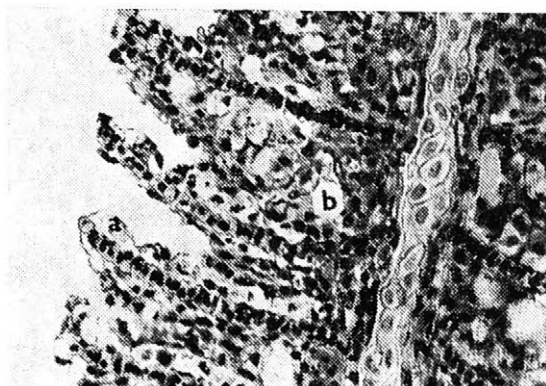
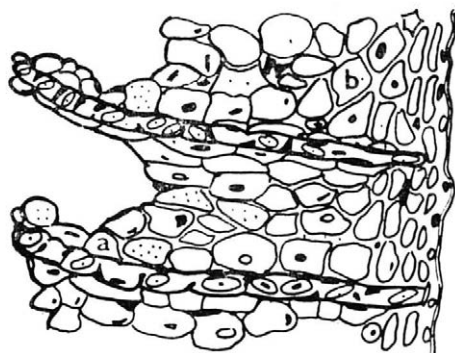
Histologický náález

Vrstevnatý epitel jak žaberního hřebene, tak i žaberních listů ztratil svou pravidelnou stavbu. Buňky *stratum germinativum* byly nepra-



1. Toxická branchiononekróza (druhá fáze, epitel žaberního oblouku) — Toxic branchiononecrosis (second phase, epithelium of gill arch)

a — volné prostory po vypadnutých epiteliálních buňkách, b — velké buňky s eozinofilními granuly, c — hypertrofie a hyperplazie hlenových buněk



2. Toxická branchiononekróza (třetí fáze) — Toxic branchiononecrosis (third phase)

a — hyperplazie respiračního epitelu lamely, b — hyperplazie vrstevnatého epitelu listu



3. Vyplnění mezilamelních prostorů zduřelým respiračním epitelem lamel a vrstevnatým epitelem listu při toxické branchiononekróze — The filling of interlamellar space with swollen respiratory epithelium of lamellae and stratified epithelium of fringe in fish suffering from toxic branchiononecrosis

videlné a v některých úsecích chyběly. Část epitelálních buněk měla generativní formy projevující se hyperplazií a hypertrofií, nepravidelností tvarů, karyolýzou nebo karyorhexí. Mezi těmito degenerovanými epitelálními buňkami se občas objevovaly volné prostory, vzniklé po vyplavených odumřelých buňkách. V počátečním stadiu choroby se v epitelu objevovaly velké buňky (13 μ m) s excentricky uloženým jádrem a drobnými eozinofilními granuly. Počet velkých buněk se v pokročilejších stadiích choroby snižoval, až docela vymizely. Tato granula dávala PAS pozitivní reakci; také po natrávení diastázou zůstávala reakce PAS pozitivní. Schiffovým činidlem, alciánovou modří pH 1,0 a pH 2,5 se granula nebarvila. Nedávala reakci ninhydrin-Schiff. Hlavní složku granul tvořily tedy neutrální polysacharidy. Hlenové buňky byly v počátcích změn silně zduřelé (obr. 1), s postupujícím procesem se vyprazdňovaly, v poslední fázi nebyly viditelné. Supranukleární zónu těchto buněk vyplňovala sekreční granula s „mucinogenem“. Tato zrna dávala PAS pozitivní reakci, která byla rezistentní k natrávení diastázou. Schiffovým barvením se nebarvila. Reakce byla tedy podmíněna vicinálními glykolovými skupinami mukopolysacharidů. Zrna se také barvila alciánovou modří pH 2,5, což znamená, že obsahovala kyselé mukopolysacharidy. Dále se barvila alciánovou modří pH 0,1, čímž bylo možné prokázat v „mucinogenu“ sulfátové skupiny. Negativní reakce ninhydrin-Schiff ukazovala na nepřítomnost alfa-amínoskupin.

Epitelální buňky respiračního epitelu lamel zduřely buď jen ložiskově, nebo na některých místech v celých úsecích. Pilířové buňky se prodlužovaly, a tím zároveň docházelo i k rozšíření a překrvení lamelárních sínů. Také u endotelálních buněk sínů u báze se projevovala silná aktivita. Zduření vrstevnatého epitelu listů a zduření jednovrstevného respiračního epitelu lamel docházelo do tak vysokého stupně, že jím byly ložiskově vyplněny mezilamelární prostory (obr. 2, 3).

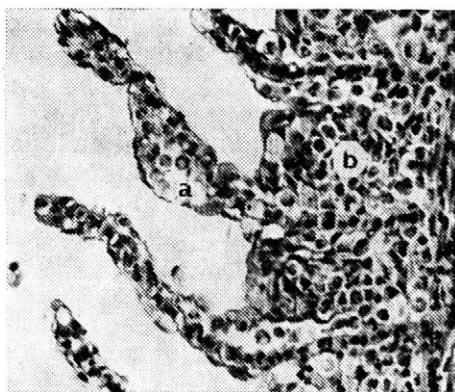
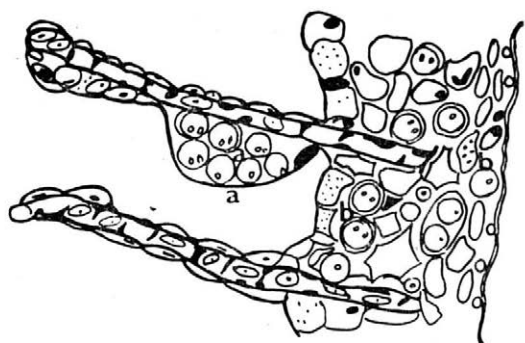
2. SKUPINA KAPRŮ S NÁLEZEM INVAZE *SPHAEROSPORA* SP.

Patologicko-anatomický nález

Žábry byly bleděružové, jejich povrch byl jemně granulovaný. Celková stavba žaber byla nepravidelná, u některých kaprů pronikaly mezi listy žlutošedé nekrotické masy.

Histologický nález

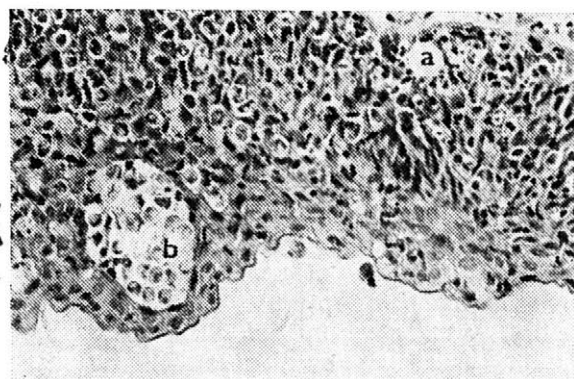
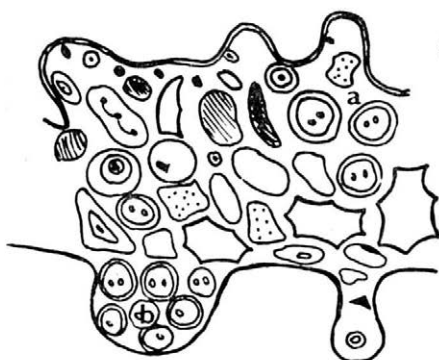
Změny se vyskytovaly pouze ve vrstevnatém epitelu hřebene a listů a na respiračním epitelu lamel a byly charakterizovány degenerativně nekrotickým procesem. Výrazným nálezem byl výskyt různých vývojových stádií sférospór ve vrstevnatém epitelu hřebene a listů a v respiračním epitelu lamel. V počátečních stadiích invaze se objevovaly mezi buňkami *stratum germinativum* pansporoblasty, v pokročilejších stadiích byla celá sliznice prostoupěna jak pansporoblasty v nejrůznějších vývojových stadiích, tak i spórami (obr. 4). Změny ve vrstevnatém epitelu hřebene i listů byly charakterizovány rozpadem epitelálních buněk a jejich vyplavováním. Dále docházelo v pokročilých případech invaze k úplnému vyprázdnění až ztrátě hlenových



4. Invaze sféropór v žaberní lamelle — Spherospore invasion in gill lamella
a — extruze sféropór pod respiračním epitelem, b — vývojová stadia pansporoblastů ve vrstevnatém epitelu listů

buněk a také velké buňky s nepravidelným jádrem a s eozinofilními granuly se objevovaly již jen výjimečně. Histochemické reakce tkání i buněk na žábrách při toxické branchionekróze se nelišily od reakcí na zdravých žábrách.

Také mezi respiračním epitelem a bazální membránou lamel jsme často nacházeli ložiska spór, čímž docházelo k odlupování respiračního epitelu a následně i k degeneraci až nekróze respiračních epiteliálních buněk. V některých úsecích došlo silným zduřením vrstevnatého epitelu listů a silným zduřením, popřípadě uvolněním epiteliálních buněk lamel, k vyplnění mezilamelárních prostorů. Jak na vrstevnatém epitelu, tak i na respiračním epitelu se vytvářely extruze, puchýřky vyplněné spórami, které byly zvláště výrazné u pokročilých procesů (obr. 5). Spóry byly kulaté, o velikosti červených krvinek. Mezi spórami a tkání byla volná zóna. Cytoplazma spór se barvila slabě bazofilně, dávala PAS pozitivní reakci, byla rezistentní k natrávení diastázou. Schiffovo barvení bylo negativní. Reakce byly tedy podmíněny viciální-



5. Invaze sféropór ve vrstevnatém epitelu žaberního hřebene — Spherospore invasion in stratified epithelium of gill comb
a — vývojová stadia pansporoblastů, b — extruze spór

mi glykolovými skupinami polysacharidů. Silné zabarvení cytoplazmy spór alciánovou modří při pH 2,5 a negativní zbarvení alciánovou modří při pH 1,0 ukázalo, že cytoplazma je tvořena převážně kyselými mukopolysacharidy, které neobsahují sulfonové skupiny. Slabá reakce ninhydrin-Schiff svědčí o slabé účasti bílkovin a alfa-aminoskupin.

Pólové váčky spór se nebarvily ani hematoxylin-eozinem ani alciánovou modří, nedávaly ani PAS ani ninhydrin-Schiffovu reakci. Vedle spór se převážně u bazální membrány objevovaly buňky s několika jádérky, které jsme považovali za panspóroblasty. Cytoplazma těchto buněk se barvila dobře bazofilně a jádra silně PAS pozitivně. Farkas-Malloryho barvením se u těchto buněk v modře zbarvené cytoplazmě buněk objevovala drobná červená granula.

3. SKUPINA ZDRAVÝCH KAPRŮ K₁, KTERÍ BYLI ZA LABORATORNÍCH PODMÍNEK INTOXIKOVÁNI AMONIAKEM

Patologicko-anatomický nález

V první fázi byly žábry světle růžové, měly pravidelnou stavbu, na povrchu byly pokryty slabou vrstvou průhledného hleny. V pokročilejších fázích byly žábry tmavě červené, zduřené a pokryté silnou vrstvou hleny.

Histologický nález

Obraz v zásadě odpovídal nálezům při přirozeně vzniklé toxické branchionekróze. Nálezy na žábrách byly charakterizovány výraznými degenerativními procesy. Ve vrstevnatém epitelu žaberního hřebene a listů se projevovaly silným zduřením i pomnožením jednotlivých buněk i celé epiteliální vrstvy. Také epiteliální buňky respiračního epitelu byly zduřelé. Ložiskově bylo zduření v takovém stupni, že epitelem byl vyplněn mezilamelární prostor. Dále docházelo ke zduření pilířových a endoteliálních buněk lamel, a tím i k hyperemii. Hlenové buňky byly v počátečních fázích zduřelé a pomnožené, v pokročilejších fázích chyběly.

4. KAPŘI PLŮDEK PŘIROZENĚ INVADOVANÝ ŽABERNÍMI SFÉROSPÓRAMI, KTERÝ BYL ZA LABORATORNÍCH PODMÍNEK INTOXIKOVÁN AMONIAKEM

Protože se nálezy při akutní i chronické experimentální intoxikaci projevovaly vývojově stejnými změnami, popisujeme je současně.

Patologicko-anatomický nález

Žábry byly silně zduřelé, tmavě červené s šedivými ložisky, povrch byl lesklý, krupičkovatý, pokrytý hlenem.

Histologický nález

Histologický obraz spojoval nálezy toxické branchionekrózy vyjádřené zduřením vrstevnatého epitelu i respiračního epitelu a vyplně-

ním mezilamelárního prostoru zduřenými i pomnoženými buňkami s nekrotickými změnami vyvolanými různými vývojovými stadii sférospór.

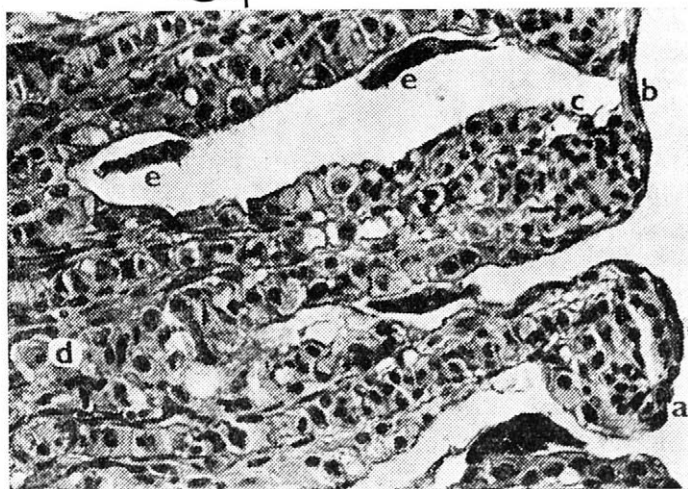
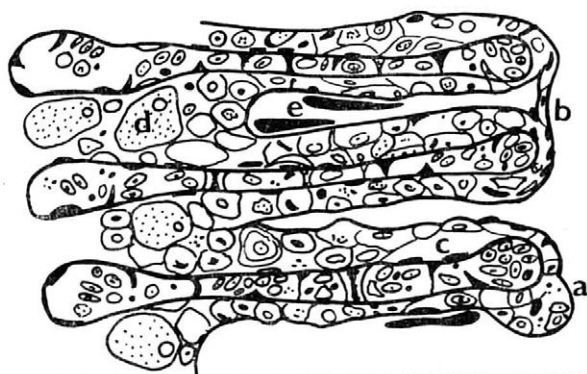
5. SKUPINA KAPRŮ S INVAZÍ EKTOPARAZITŮ *TRICHODINA* SP. A *CHILODONELLA* CYPRINI

Patologicko-anatomický náález

Žábry byly zduřelé, tmavě červené, zahleněné.

Histologický náález

Vrstevnatý epitel žaberních hřebenů a listů byl pravidelný, hlenové buňky byly zmnožené a byly v různých vývojových stadiích. Ložiskově se mezi listy objevovaly krevní výlevy. Mezi buňkami epitelia žaberních oblouků, listů a v koru byly velké buňky s eozinofilními granuly. Charakteristické histologické změny byly prokazovány v místech s parazitárním napadením, tj. na lamelách. Respirační epitel lamel byl ložiskově silně zduřelý, na některých místech bylo vidět několik vrstev respiračních epitelálních buněk. Ložiskově také docházelo k uvolňování epitelální vrstvy a ke slepování sousedních lamel. Na povrchu epitelu bylo možné pozorovat jednotlivé parazitární útvary. Silně dilatované pilární buňky, krví silně vyplněné siny, ložiskové krevní výlevy do mezilamelárního prostoru doplňovaly histologický obraz (obr. 6).



6. Parazitární invaze *Trichodinou* sp. — Parasitary invasion by *Trichodina* sp.

a — zduření a pomnožení respiračního epitelu lamel (vytváření několika vrstev), b — slepování sousedních lamel, c — odlupování respiračního epitelu od pilárních buněk, d — velké buňky s eozinofilními granuly, e — parazitární útvary

6. SKUPINA KAPRŮ S KLINICKÝMI PŘÍZNAKY POČÍNAJÍCÍ BRANCHIONEKRÓZOU PO LÉČENÍ CHLÓROVÝM VÁPNEM

Patologicko-anatomický náález

Žábry byly zduřelé, měly třešňově červenou barvu.

Histologický náález

Epitel žaberních hřebenů a listů byl značně nepravidelný. Degenerované i nekrotické buňky, volné prostory po vypadlých buňkách a velké zduření a pomnožení hlenových buněk charakterizovaly obraz. Změny byly obdobné jako u ryb onemocnělých toxickou branchionekrózou. Nápadným rozdílem bylo obrovské množství velkých buněk s excentricky uloženým jádrem a drobnými eozinofilními granuly. Tyto buňky jsme nacházeli ve velkém množství i v korigu žaberních hřebenů.

Také buňky respiračního epitelu lamel byly zduřelé, místy uvolněné od bazální membrány. Stejně jako u degenerativních změn způsobených branchionekrózou vyplňovaly tyto buňky mezilistové prostory. Zajímavý byl náález velkých buněk s eozinofilními granuly i mezi zduřenými respiračními epitelialními buňkami.

DISKUSE

Při posuzování patologických změn na žábrách musíme vycházet ze skutečnosti, že procesy neprobíhají v celém orgánu časově stejně intenzívně. Vedle silně změněných míst můžeme najít i místa ještě nezasazená.

Vývoj patologicko-anatomických a histologických změn na žábrách při onemocnění označovaném jako toxická branchionekróza a při experimentální intoxikaci amoniakem se v zásadních rysech neliší. Celý proces bylo možné shrnout do čtyř fází. Protože se zásadní změny odehrávaly ve vrstevnatém epitelu žaberního oblouku a listu a v respiračním epitelu lamel, zabývali jsme se převážně těmito změnami. Také Kovácsné-Gayerová [1975], která se zabývala histologickými změnami při toxické branchionekróze, rozdělila změny podle stupně vývoje do čtyř fází.

1. Na začátku onemocnění se neprojevovaly okem viditelné patologicko-anatomické změny na žábrách. Žábry byly bledě červené, lesklé, měly pravidelnou stavbu. V této fázi docházelo k slabé infiltraci epitelu žaberního oblouku a listů velkými buňkami s nepravidelným jádrem a drobnými eozinofilními granuly. Nejvýraznější nahromadění těchto buněk bylo na žaberním oblouku mezi bázemi tyčinek a kolem *arteria folii branchialis afferens*. Dále jsme se v této fázi setkávali s dilatací a větším prokrvením lamelárních sinů.

2. Ve druhé fázi byly již žábry tmavě červené, zduřelé a byly pokryty slabou vrstvou průhledného hlenu. Při histologickém vyšetření se objevovala nepravidelnost uspořádání vrstevnatého epitelu žaberního oblouku a listů. Epitelialní buňky vrstevnatého epitelu se stávaly nepravidelné, hypertrofické, počet hlenových buněk přibýval a docházelo k jejich zduření. Také počet velkých buněk s eozinofilními granuly se zvyšoval. Respirační epitelové buňky lamel se zduřovaly, ložiskově docházelo k překrvení a dilataci lamelárních sinů.

3. Ve třetí fázi byly žábry ložiskově tmavě červené, ložiskově šedé, silně zduřelé a pokryté hlenem, takže jejich struktura byla zastřená. Při histologickém vyšetření jsme na vrstevnaté sliznici žaberního oblouku a žaberních listů nacházeli zvláště výrazné nepravidelnosti její stavby. Buňky *stratum germinativum* se v celých úsecích ztrácely. U části epitelálních buněk jsme zjišťovali degenerativní formy projevující se nepravidelností tvarů, silným zduřením, silnou hypertrofií, karyolýzou nebo karyorhexí. Mezi těmito buňkami se objevovaly volné prostory po vypadnutých odumřelých buňkách. Dále docházelo k úplnému vyprázdňení hlenových buněk. Velké buňky s excentricky uloženým jádrem a eozinofilními granuly se v této fázi objevovaly jen velmi ojediněle. Také v respiračním epitelu lamel byly epitelální buňky zduřelé a odlupovaly se od bazální membrány. Těla pilířových buněk se prodlužovala, čímž zároveň docházelo i k rozšíření a překrvení lamelárních síní. U endotelálních buněk u báze lamel se rovněž projevovala silná aktivita. Silným zduřením a pomnožením epitelálních buněk listů a především epitelálních buněk lamel docházelo k vyplnění mezilamelárních prostorů.

4. Ve čtvrté fázi byly žábry šedočerveně mramorované, zduřené, silně pokryté hlenem, ložiskově rozpadlé. Nálezy na buněčných elementech byly v podstatě shodné jako ve třetí fázi, ale jako celek vykazovaly žábry vyšší stupeň nekrobiotických změn, tj. odlupování celých vrstev epitelu, úplný rozpad lamel, eozinofilie cytoplazmy buněk celých úseků tkání.

Vývoj toxické branchionekrózy lze považovat za nekrobiotický proces, který se po počátečních slabě zánětlivých reakcích projevuje degenerativními až nekrotickými změnami. Na základě našich vyšetření však nelze přímo určit, zda se jedná o přímý vliv amoniaku, neboť Lloyd (1961) a Reichenbach-Klinke (1966) uvádějí, že se stoupající koncentrací amoniaku ve tkáni zde dochází i k poklesu kyslíku. Nízká hladina kyslíku je pro vznik nekrózy stejně významná jako poškození amoniakem. Buňka, která má nedostatek kyslíku, je schopna amoniak snadněji a rychleji přijímat.

Změny na žábrách při sférosporóze mají nekrotický charakter. Na rozdíl od Molnára (1979) a ve shodě s Lomem aj. (1981) jsme nacházeli spóry i extruze spór i pod respiračním epitelem lamel. Lze tedy předpokládat, že invaze *Sphaerospora* sp. způsobuje komplikace při výměně látek na respiračním epitelu lamel a není pouze neškodným parazitem. Podle našich zjištění lze spóry v histologických preparátech snadno prokázat jednoduchým barvením alcianovou modří při pH 2,5.

V našich pokusech s intoxikací amoniakem snášel kapří plůdek bez invaze žaberních sférospór vyšší koncentrace než plůdek se středně silnou až silnou invazí sférospór.

Silné pomnožení velkých buněk s eozinofilními granuly, ke kterému dochází při silném okysličení vody chlórovým vápnem, považujeme za zánětlivý proces. Již Mitrovic aj. (1968) označují pomnožení jmenovaných buněk jako příznak zánětlivé reakce. Z praktického hlediska představuje ošetření vody — a tím ryb — chlórovým vápnem převedení degenerativních procesů na žábrách na akutní, zánětlivé, čímž umožňuje jejich vyléčení.

Diferenciálně diagnosticky jsme sledovali vliv parazitární invaze

trichodinou a chilodonelou na žábry ryb. Rybí organismus odpovídal na parazitární zamoření trichodinou a chilodonelou zduřením a pomnožením respiračního epitelu žaberních lamel v místě invaze. Obdobné změny zjišťovali také Hughes a Morganová (1973). Podle Hughese (1973) zduření snižuje přenos kyslíku přes respirační epitel. Jednalo se tedy o zánětlivé reakce v místě invaze parazitů, v našem případě na žaberních lamelách.

Histologické nálezy ukazují, že pod klinickým pojmem branchionekrózy jsou skryty různé morfologické procesy. Výsledky našeho šetření nejen že nechávají velkou část zásadních otázek bez odpovědi, ale otvírají i další otázky, jako jsou vliv nedostatku či přebytku kyslíku a vliv pH na žábry. Podle našich dosavadních zkušeností se zdají být tyto problémy zásadním faktorem ovlivňujícím změny na žábrách a je nutno jim věnovat další pozornost.

Literatura

- CULLING, C. F. A.: Handbook of histopathological and histochemical techniques. 3 ed. London, Butterworth 1975. 712 s.
- HUGHES, G. M.: Respiratory responses to hypoxia in fish. Amer. Zool., 13, 1973, s. 475-489.
- HUGHES, G. M. — MORGAN, M.: The structure of fish gills in relation to their respiratory function. Biol. Rev., 48, 1973, s. 419-475.
- KISZELY, G. — PÓBALAKY, Z.: Mikrotechnische und histochemische Untersuchungsmethoden. 1. ed. Budapest, Akadémiai Kiadó 1964. 724 s.
- KOVÁCSNÉ-GAYER, É.: A halak kopoltyújának vizsgálata. II. A ponty kopoltyú-necrosiának vizsgálata. Magy. állatorv. Lap., 32, 1977, s. 119-124.
- LLOYD, R.: Effect of dissolved oxygen concentrations on the toxicity of several poisons to rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). J. exp. Biol., 38, 1961, s. 447-455.
- LOM, J. — PAVLÁSKOVÁ, M. — DYKOVÁ, I.: Výskyt protozoárních parazitů u kaprů v rybnících Jihočeského kraje. [Výzkumná zpráva.] Praha, Parazitologický ústav ČSAV 1981. 42 s.
- LOPUCHINA, A. M.: O žabernovom zaboľevanii karpov. Veterinarija, 45, 1968, s. 56.
- LUCKÝ, Z.: Současné poznatky o branchionekróze ryb. In: Veterinární péče v chovech ryb, SVS — odd. vet. osvěty, 1981, s. 40-53.
- MIACZYNSKI, T. B.: Viral diseases and diseases of uncertain etiology in fish in Poland. Ann. N. Y. Acad. Sci., 126, 1965, s. 620-628.
- MITROVIC, V. V. — BROWN, V. M. — SHURBER, D. G. — BERRYMAN, M. H.: Some pathological effects of subacute and acute poisoning of rainbow trout by phenol in hard water. Wat. Res., 2, 1968, s. 249-254.
- MOLNÁR, K.: Gill sphaerosporosis in the common carps and grasscarps. Acta vet. hung., 27, 1979, s. 99-113.
- REICHENBACH-KLINKE, H. H.: Untersuchungen über die Einwirkung des Ammoniakgehalts auf den Fischorganismus. Arch. Fisch.-Wiss., 17, 1966, s. 122-132.
- RUCKER, R. R. — JOHNSON, H. E. — KAYDAS, G. M.: An internal report on gill disease. Progr. Fish Cult., 14, 1952, s. 10-14.
- SCHRECKENBACH, K. — SPANGENBERG, R. — KRUG, S.: Die Ursache der Kiemmennekrose. Z. Binnenfisch. DDR, 22, 1975, s. 257-288.
- WOLF, L. E.: Dietary gill disease of trout. N. Y. Cons. Dept. Fish Res. Bull., 7, 1945, s. 30.

Došlo dne 27. 5. 1983

ГОРНИХ, М. — ТОМАНЕК, Й. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Некротические процессы жаберной ткани карпа, вызванные изменениями водной среды. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 621-632.

Гистологические диагнозы показывают, что под клиническим определением бранхионекроза скрываются разные патогенетические процессы. Изменения на жабрах, возникающие в ходе

токсического бронхионекроза, носят характер некробиотического процесса, проявляющегося у жаберных ламелл опуханием респираторного эпителия и дилатацией ламеллярных син, а у слоистого эпителия жаберного гребешка и листьев — гипертрофией и гиперплазией эпителиальных клеток. В поздних случаях опухшим эпителием очагообразно заполняются и межламеллярные пространства. В качестве токсического бронхионекроза обозначается заболевание, где болезнетворные процессы обусловлены интоксикацией и аутоинтоксикацией аммиаком, а главную роль играет pH. При экспериментальной интоксикации изменения жабр в принципе такие же как и у токсического бронхионекроза, но не в столь сильной степени. Изменения при сфероспорозе характеризуются сильными некротическими процессами как в респираторном эпителии, так и в слоистом в жабрах, разными стадиями сфероспор эпителия, которые хорошо заметны, если их окрасить альциановой синей при pH 2,5. Изменения жабр у зараженных естественным способом карпов сфероспорами при добавочной интоксикации аммиаком отвечают диагнозам токсического бронхионекроза, т.е. дегенерации слоистого и респираторного эпителиев жабр в комбинации с некротическими изменениями, вызванными стадиями сфероспор. При сильном окислении воды хлорной известью в слоистом, главное, эпителии сильно размножаются крупные клетки с эозинофильными гранулами — этот процесс мы считаем воспалительной реакцией. При паразитарной инвазии триходином и хилодонелом вопрос касается местной воспалительной реакции с опуханием респираторного эпителия.

токсический бронхионекроз; интоксикация аммиаком; сфероспороз жабр; некробиоз; воспаление

HORNICH, M. — TOMÁNEK, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *Necrotic Processes in Carp Gill Tissue Caused by Changes in Aquatic Medium*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 621-632.

Histological findings show that various pathogenic processes are involved in the cases of clinically detected branchionecrosis. The changes in gills occurring at toxic branchionecrosis are a necrobiotic process in their nature; in gill lamellae this process manifests itself as a swelling of the respiratory epithelium and as dilation of lamellar sinuses, and in stratified epithelium of gill arch and filaments it takes on the form of the hypertrophy and hyperplasia of epithelial cells. In severe cases the swollen epithelium forms deposits filling up also the interlamellar space. Toxic branchionecrosis is a term referring to a disease when the pathological processes are caused by ammonia intoxication and autointoxication, the main role being played by pH value. At experimental ammonia intoxication the changes in gills are about the same as in toxic branchionecrosis but the symptoms are not so pronounced. Changes characteristic of sphaerosporosis involve severe necrotic processes in the respiratory epithelium as well as in the stratified epithelium of gills, and the epithelium harbours different developmental stages of sphaerospores. The sphaerospores are easily detected when stained with alcian blue at pH 2.5. The changes in the gills of carp naturally invaded by sphaerospores with additional ammonia intoxication correspond to findings characteristic of toxic branchionecrosis: degeneration of stratified and respiratory epithelium of gills combined with necrotic changes caused by the developmental stages of sphaerospores. When water is highly oxygenated with chlorinated lime, large cells with eosinophilic granules severely multiply mainly in the stratified epithelium of gills; this process is considered as an inflammatory process. Parasitic invasions by Trichodina and Chilodonella induce local inflammatory reactions with the swelling of the respiratory epithelium.

toxic branchionecrosis; ammonia intoxication; gill sphaerosporosis; necrobiosis; inflammation

Adresa autorů:

MVDr. Miloš Hornich, CSc., MVDr. Josef Tománek, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

VÝSKYT CIZORODÝCH LÁTEK V SYROVÉM A PASTEROVANÉM MLÉCE

M. Malíková, E. Urbanová, V. Gajdušková, J. Mašek, H. Dočekalová

MALÍKOVÁ, M. — URBANOVÁ, E. — GAJDUŠKOVÁ, V. — MAŠEK, J. — DOČEKALOVÁ, H. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Výskyt cizorodých látek v syrovém a pasterovaném mléce*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 633-640.

V letech 1980 až 1982 byl v nasávacích oblastech 19 mlékáren k. p. Lacrum Brno sledován výskyt inhibičních látek, herbicidů a znečišťujících chemických prvků v syrovém mléce z prvovýroby a pasterovaném mléce v různých fázích technologického zpracování. Mikrobiologickou difúzní diskovou metodou v tenké vrstvě s použitím testačního kmene *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* byla prokázána rezidua inhibičních látek jak v syrovém (9,1 % ze 143 vzorků), tak i pasterovaném (2,0 % ze 151 vzorků) mléce. Chromatografickou metodou (citlivost 0,01–0,05 mg · kg⁻¹ mléka) bylo vyšetřeno 135 vzorků syrového mléka na rezidua herbicidů na bázi diazinů a triazinů. Byl prokázán přechod herbicidů do mléka; rezidua byla zjištěna ve 45 vzorcích (33,3 %). Atomovou absorpční spektrofotometrií byly na obsah zinku, mědi, železa a manganu vyšetřeny 143 vzorky syrového mléka. Analyzované vzorky vyhovovaly obsahem zinku 100 %, obsahem železa vyhovovalo 99 % a obsahem mědi 89 % vzorků (Směrnice MZd č. 50, 1978). Množství manganu se u 60 % vyšetřovaných vzorků pohybovalo do 0,1 mg · kg⁻¹. Ze 135 vzorků mléka (101 vzorek syrového, 34 vzorky pasterovaného) vyšetřovaných na obsah olova nevyhovovaly nejvyššímu přípustnému množství čtyři vzorky (3 %).

inhibiční látky; antibiotika; herbicidy; diaziny; triaziny; chromatografie na tenké vrstvě (TLC); chemické prvky znečišťující; zinek; měď; železo; mangan; olovo

Z národohospodářského hlediska představuje mlékárenský průmysl, jehož sortiment zahrnuje v současné době na 290 druhů výrobků, jedno z nejdůležitějších odvětví výroby potravin [Gabriel, 1978]. Závažné škody mlékárenskému průmyslu způsobují kontaminace cizorodými látkami, jako jsou antibiotika a jiné antimikrobiální látky, pesticidy — herbicidy, mykotoxiny a chemické prvky, na které jsme se při svých šetřeních zaměřili.

V mlékárenském průmyslu se setkáváme s antibiotiky, která jsou buď produkty přirozené mikroflóry mléka, nebo je lze označit za nežádoucí cizorodé látky. Ty jsou představovány rezidui antibiotik používaných ve veterinární medicíně individuálně či hromadně prostřednictvím medikovaných krmných přípravků k prevenci nebo terapii nejrozličnějších chorob dojníc, především však mastitid masového charakteru, které mohou nepříznivě ovlivnit technologii mlékárenské výroby, a tím i kvalitu výrobků. Bylo prokázáno, že již 10 až 15 % přídavek

mléka dojníc s léčenou mastitidou znehodnocuje celý obsah cisterny (Hejzlar aj., 1980). Nelze však opomenout ani rizika zdravotní, jako jsou např. různé alergie, které může přítomnost reziduí těchto látek v mléce u konzumentů vyvolat.

Vysoká spotřeba herbicidů na bázi triazinů a diazinů při pěstování kukuřice, cukrovky a krmné řepy, stabilní rezidua v životním prostředí, možnost přechodu do mléka a poznatky o negativních účincích na zvířata (Gajdůšková, 1982, 1983) byly závažnými důvody pro kontrolu mléka na tyto intenzivně používané herbicidy.

Ze znečišťujících chemických prvků se naše pozornost zaměřila na sledování obsahu zinku, mědi, železa, manganu a olova. Hlavním zdrojem kontaminace mléka těmito prvky jsou průmyslové emise (Mašek, 1973), výfukové plyny motorových vozidel, průmyslová hnojiva, fungicidy (ferbam, maneb, mancozeb, metiram, zineb, oxin mědi a oxychlorid mědi) a minerální příměsi, které se dostávají s krmivem a napájecí vodou do organismu dojníc. Dále to mohou být chemické prvky uvolněné z kovových nádrží, potrubí, konví a kovových slitinových spojů. Dalšími zdroji mohou být mycí, popř. dezinfekční prostředky a oplachová voda.

Výsledky studia kontaminace syrového mléka aflatoxiny jsou shrnuty v samostatné práci (Bartoš a Matyáš, 1981).

MATERIÁL A METODY

V letech 1980 až 1982 byl v nasávacích oblastech 19 mlékáren k. p. Lacrum Brno sledován výskyt inhibičních látek, vybraných herbicidů a znečišťujících chemických prvků v syrovém mléce z prvovýroby a pasterovaném mléce v různých fázích technologického zpracování.

Na inhibiční látky byly vyšetřeny 143 vzorky syrového mléka, z toho 39 vzorků z jednotlivých zemědělských závodů ze spádové oblasti mlékáren Jihlava a Bystřice nad Pernštejnem, a 104 cisternové vzorky ze svozových linek 11 provozoven (Bystřice p. Hostýnem, Polná u Jihlavy, Otínoves, Bystřice n. Pernštejnem, Velké Opatovice, Jaroměřice n. Rokytou, Nedakonice, Brno-Bubeníčková, Brno-Masná, Hodonín a Břeclav). Dále bylo vyšetřeno 51 vzorků pasterovaného mléka odebíraného za chladičem pasteru v 11 mlékárnách k. p. Lacrum Brno (Jihlava, Telč, Znojmo, Rouchovany, Kroměříž, Gottwaldov, Vojkovice, Nedakonice, Mor. Budějovice, Brno-Bubeníčková, Brno-Masná) a 100 vzorků pasterovaného konzumního mléka dodávaného do maloobchodní sítě ve skleněných obalech (á 0,5 l) a polyetylenových sáčcích (á 1 l). Výběr lokalit a odběr vzorků syrového i pasterovaného mléka byl zajišťován pracovníky podnikové laboratoře k. p. Lacrum Brno.

Rezidua inhibičních látek v mléce byla zjišťována mikrobiologickou difúzní diskovou metodou v tenké vrstvě podle Horvatha a Szepese (1978) s použitím testačního kmene *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* (C 953). Výsledky byly odečítány po pěti hodinách a kontrolně po 20 až 24 hodinách. Jako pozitivní byly hodnoceny vzorky, které vykazaly inhibiční zónu (IZ) větší než 2 mm. Citlivost metody je udávána na obsah penicilinu 0,005 mj. ml⁻¹. Pro podrobnosti metodického postupu odkazujeme na práci Malíkové a Urbanové (1982).

Rezidua herbicidů na bázi triazinů (atrazin, simazin, prometryn, propazin) a diazinů (chloridazon, bentazon) byla sledována jednoduchou multidetekční chromatografickou metodou. Herbicidy se z mléka izolují po odstranění tuků a bílkovin chloroformem, rezidua se rozdělí chromatografií na tenkých vrstvách silikagelu a detekují o-tolidinem. Citlivost metody je 0,01 až 0,05 mg.kg⁻¹ mléka (Gajdůšková, 1982, 1983). V letech 1981 až 1982 bylo odebráno celkem 135 vzorků syrového mléka ze svozových linek nasávacích oblastí mlékáren Hodonín, Břeclav, Jihlava, Znojmo, Brno, Kroměříž a Rouchovany.

Chemické prvky byly stanovovány po kyselé mineralizaci vzorků směsí kyseliny sírové a dusičné na atomovém absorpčním spektrofotometru (Perkin-Elmer,

model 300). V letech 1980 až 1981 byly vyšetřeny 143 vzorky syrového mléka, které jsou totožné se vzorky testovanými na inhibiční látky.

V roce 1982 bylo vyšetřeno dalších 135 vzorků mléka na obsah olova, z toho 101 syrového, 14 bezprostředně po pasteraci a 20 vzorků kozumního mléka v sáčcích z obchodní sítě města Brna. Obsah olova ve vzorcích byl stanoven po jejich spálení s přídavkem dusičnanu hořečnatého v šamotové peci při teplotě do 500 °C a po rozpuštění popele v 3 N kyselině dusičné na atomovém absorpčním spektrofotometru. Výsledky všech analýz jsou uváděny v mg.kg⁻¹ čerstvého mléka.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Ze 143 vyšetřených vzorků syrového mléka byla prokázána rezidua inhibičních látek ve 13 vzorcích, tj. v 9,1 %. V šesti případech se jednalo o mléko vykupované z jednotlivých zemědělských závodů, v sedmi případech o směsné vzorky ze svozných linek. Velikost IZ se pohybovala od 2,5 do 8,0 mm, pH mléka v rozmezí 5,2 až 6,7.

Z 51 vzorků pasterovaného mléka odebíraných bezprostředně za chladičem pasteru byla prokázána rezidua inhibičních látek ve třech vzorcích z mlékárny ve Znojmě, tzn. v 5,9 % vzorků, zatímco u 100 dalších vzorků lahvového a sáčkového konzumního mléka z maloobchodní sítě nebyla kontaminace inhibičními látkami prokázána. Vezme-li pro hodnocení výsledků testace pasterovaného mléka v úvahu všech 151 vyšetřovaných vzorků, dostáváme konečná 2 % pozitivních vzorků.

Vysoký nález inhibičních látek, zejména v syrovém mléce, je zřejmé z velké části důsledkem skutečnosti, že nejsou dodržovány předepsané ochranné lhůty pro dodávání mléka lčených dojek do mlékáren a současně i důsledkem nedostatečné a nedůsledné kontroly mléka v prvovýrobě ať už pověřenými pracovníky jednotlivých zemědělských závodů či veterinární hygienické služby, z jejichž prověrek nejsou v případě pozitivních nálezů reziduí inhibičních látek vyvozovány patřičné závěry.

Jak dokládá celá řada prací (Glawisch, 1975; Hamann, 1980; Heeschen, 1982 a jiní), také v jiných mlékařsky vyspělých zemích představují rezidua antibiotik v mléce stálý problém i přes nejrušnější legislativní a profylaktická opatření. K podstatnému zlepšení této situace přispělo v některých zemích zavedení pravidelných kontrol mléka na rezidua antibiotik z jednotlivých farem a v případě pozitivních nálezů následný finanční postih jednak jako odškodnění mlékárně, jednak ve formě snížení výkupních cen za mléko (Tandy a King, 1980; Gibson a Hignett, 1981; Wright, 1981; Booth, 1982 a jiní). V některých státech platí dokonce zákaz výkupu mléka obsahujícího rezidua antibiotik, např. ve Francii od 23. 12. 1979 (Technique Laitiere, 1981). Za těchto zpřísněných podmínek výkupu vystupuje ještě více do popředí důležitosti ochranných lhůt a jejich dodržování. Tak např. v Norsku se po jejich zavedení u mléka krav i koz snížil výskyt reziduí antibiotik v mléce na 0,15 % (Gudding, 1981).

Na rezidua herbicidů byly vyšetřeny cisternové vzorky syrového mléka z nasávacích oblastí, odlišných typem pěstovaných zemědělských plodin (Břeclav, Hodonín, Znojmo, Rouchovany, Brno-venkov, Kroměříž, Jihlava). Byl prokázán přechod triazinů (atrazinu, simazinu, pro-

metrynu) a diazinu (chloridazonu) do mléka. Ze 135 vzorků syrového mléka bylo 45 vzorků (33,3 %) pozitivních na rezidua herbicidů, z toho pět vzorků (4,3 %) obsahovalo dvě účinné látky. Nejčastěji se v mléce vyskytoval atrazin a chloridazon.

Frekvence výskytu herbicidů v mléce ve sledovaných oblastech a zastoupení účinných látek odpovídá intenzitě používání triazinových a diazinových herbicidů. V průměru byla nalezena rezidua herbicidů u 33 % vzorků. V nasávacích oblastech jednotlivých mlékáren byl výskyt herbicidů ve vzorcích mléka (v procentech) tento: Hodonín — 50,0, Rouchovany — 45,5, Břeclav — 40,9, Znojmo — 33,3, Jihlava — 33,3, Kroměříž — 25,0, Brno — 5,0. Diaziny a triaziny v mléce byly sledovány v průběhu celého roku. Závislost mezi výskytem reziduí a roční dobou nebyla shledána.

Zjištěné obsahy herbicidů nepřekročily $0,06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ mléka. Koncentrace reziduí účinných látek herbicidů v mléce jsou na hranici citlivosti použité metody, která je plně srovnatelná svou citlivostí s metodou plynové chromatografie. I když hladiny reziduí v mléce nesignalizují porušení agrotechnických a bezpečnostních opatření, je nutné považovat pozitivní nálezy herbicidů v mléce za závažné. Potvrzují totiž skutečnost, že v současných podmínkách intenzivního používání herbicidů dochází k jejich přechodu do mléka, a proto je nutné soustavně kontrolovat i suroviny živočišného původu, zvláště mléko, na rezidua herbicidů.

Výsledky nelze srovnávat s údaji jiných autorů, protože sledování herbicidů v mléce není systematické. Pro rezidua diazinů a triazinů nejsou dosud navrženy ani u nás, ani v rámci FAO/WHO tolerované limity. Některé státy (NDR, SSSR) nepřipouštějí v surovinách živočišného původu žádná rezidua těchto herbicidů, není však jednoznačně určeno, při jaké maximální citlivosti použitých analytických metod.

Na základě hladin reziduí triazinů a diazinů zjištěných v syrovém mléce navrhuje pro posuzování jejich výskytu z hygienického hlediska dočasný praktický reziduální limit $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ mléka, tj. na hranici citlivosti použité metody. Doporučujeme revizi agrotechnických opatření při aplikaci triazinových a diazinových herbicidů při pěstování krmných plodin a rostlinných potravin.

Při hodnocení výsledků obsahu zkoušených chemických prvků v potravinách jsme vycházeli ze směrnice č. 50 (1978), v níž jsou pro mléko stanovena nejvyšší přípustná množství (NPM) zinku 5,0, mědi 0,4 a olova 0,1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Protože naše směrnice neuvádějí pro železo žádný údaj NPM v mléce, přihlíželi jsme při posuzování hladin k návrhu normy RVHP, ve kterém je jako NPM železa v mléce navrženo 3,0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Pro NPM manganu v mléce zatím nejsou uvedeny údaje ani ve směrnici č. 50 ani v návrhu normy RVHP, a proto jsme při hodnocení vycházeli z literárních údajů, které pro obsah manganu v mléce uvádějí horní mez variační šíře do $0,087 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Jaulmes a Hamelle, 1971 a jiní). Po zaokrouhlení přihlížíme k množství 0,1 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ale v žádném případě na ně nepohlížíme jako na NPM. Stanovení a hodnocení obsahu manganu v mléce má zatím průzkumný charakter a výsledků bude použito v normotvorné činnosti.

Je nutné si uvědomit, že i biologicky podstatné chemické prvky se mohou ve zvýšených množstvích stát nežádoucími; např. sloučeniny mědi

I. Průměrná množství chemických prvků ve vzorcích syrového mléka (v mg.kg⁻¹ čerstvého mléka) — The average contents of chemical elements in samples of raw milk (in mg.kg⁻¹ fresh milk)

Mlékárny	Datum odběru	Počet vzorků	Zinek	Měď	Železo	Mangan
Bystřice n. Pernštejnem	17. 3., 22. 4., 20. 5. 1980	25	2,4	0,17	0,30	0,07
Jihlava	28. 1. 1980	10	2,5	0,29	0,35	0,08
Polná u Jihlavy	25. 2. 1980	8	2,1	0,13	0,40	0,15
Bystřice p. Hostýnem	11. 2. 1980	10	2,3	0,11	0,47	0,12
Otinoves	17. 3. 1980	7	2,1	0,27	0,13	0,13
V. Opatovice	3. 6. 1980	6	2,8	0,20	0,15	0,05
Jaroměřice n. Rokytou	9. 6., 28. 10. 1980	22	2,8	0,22	0,32	0,10
Nedakonice	7. 7. 1980	11	3,2	0,11	0,34	0,10
Hodonín	26. 1. 1981	10	3,3	0,60	0,36	0,14
Brno — Bubeníčková	22. 9. 1980	10	2,8	0,34	0,35	0,16
Brno — Masná	4. 12. 1980	14	2,8	0,30	0,24	0,11
Břeclav	30. 3. 1981	10	3,4	0,25	0,39	0,13
Počet mlékáren: 12	leden 1980 — březen 1981	143	2,7 (celkové průměry)	0,25	0,32	0,11

negativně ovlivňují chuť a vůni mléka nebo sloučeniny železa chuť a vůni mléčného a máselného tuku.

Z výsledků vyplývá [tab. I], že průměrná množství zinku, železa a mědi [s výjimkou nasávací oblasti mlékárny Hodonín, kde průměrný obsah mědi byl 0,60 mg.kg⁻¹] vyhovují citovaným směrnici.

Hodnotíme-li jednotlivé analyzované vzorky syrového mléka, můžeme konstatovat, že všechny vyhovovaly obsahem zinku, 99 % vzorků vyhovovalo obsahem železa a 89 % vzorků i obsahem mědi; u 60 % vzorků se množství manganu pohybovalo do 0,1 mg.kg⁻¹. Nejvyšší množství chemických prvků ve vzorcích mléka byla zjištěna v lokalitách: mědi 0,95 mg.kg⁻¹ — Mikulčice, železa 5,33 mg.kg⁻¹ — Zvole a manganu 0,35 mg/kg — Bulhary.

Celková průměrná množství olova u všech skupin vzorků mléka analyzovaných v r. 1982 můžeme hodnotit jako vyhovující [tab. II].

II. Průměrná množství olova ve vzorcích mléka z Jihomoravského kraje v roce 1982 (v mg.kg⁻¹ čerstvého mléka) — The average contents of lead in milk samples from the South Moravian Region in 1982 (in mg.kg⁻¹ fresh milk)

Druh	Počet vzorků	Olovo
Syrové mléko — směsný vzorek	101	0,04
Mléko po pasterizaci	14	0,09
Mléko v obchodním balení (sáčky)	20	0,07
Celkový průměr	135	0,07

Z celého souboru jednotlivých vzorků nevyhovovaly obsahem olova pouze čtyři: 0,13 mg . kg⁻¹ (Dubňany), 0,17 mg . kg⁻¹ (Mašovice), 0,20 mg . kg⁻¹ (Lužice) a 0,90 mg . kg⁻¹ (Násedlovice, kde byl obsah olova 9 X vyšší než NPM). Této problematice bude vzhledem k její závažnosti věnováno samostatné sdělení.

Obsah chemických prvků v mléce kolísá v přímé závislosti na znečišťování životního prostředí dojníc, jak experimentálně prokázali např. Staněk (1969) a Pavelka (1975), kteří v mléce z oblastí exponovaných průmyslovými emisemi a postižených pevným průmyslovým spadem prokázali zvýšená množství chemických prvků, zejména olova, nad NPM, tj. nad 0,1 mg . kg⁻¹. Při podobném průzkumu v Kalifornii v USA bylo ve 350 vzorcích syrového mléka stanoveno průměrné množství olova 0,091 mg . kg⁻¹, z toho 27 % vzorků mělo obsah olova vyšší než 0,1 mg . kg⁻¹ (Bruhn a Franke, 1976). Vyšší obsah kadmia (0,01—0,076 mg . kg⁻¹), olova (0,11—0,266 mg . kg⁻¹) a zinku (4,81 až 10,01 mg . kg⁻¹) byl prokázán také ve vzorcích mléka z oblasti Dortmundu v NSR (Pfeilsticker a Markard, 1975) a zvýšený obsah zinku (3 až 6 mg . l⁻¹) ve vzorcích z Nového Zélandu (Joerin a Foster, 1976). Naproti tomu ve švédském tržním mléce byl zjištěn velmi nízký průměrný obsah olova — 0,002 mg . l⁻¹ (Jonsson, 1976), stejně jako v NSR, kde je v současnosti uváděn jeho průměrný obsah v obchodním mléce 0,02 mg . kg⁻¹ (Heeschen, 1982). V kondenzovaném mléce je však již průměrný obsah olova značně vyšší (0,18 mg . kg⁻¹ — Heeschen, 1982).

Za technickou spolupráci děkujeme s. J. Vyhnálkové, J. Vašíčkové, L. Čaderské a J. Novotné, za poskytnutí vzorků pracovníkům podnikové laboratoře k. p. Lacrum Brno.

Literatura

- BARTOŠ, J. — MATYÁŠ, Z.: Průzkum přítomnosti aflatoxinu M₁ v mléce z prvovýroby. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 419-423.
- BOOTH, J.: Antibiotic residues in milk. In Practice, 4, 1982, s. 100-109.
- BRUHN, J. C. — FRANKE, A. A.: Lead and cadmium in California raw milk. J. Dairy Sci., 59, 1976, s. 1711-1717.
- Control of antibiotics in farm milk. Meieriposten, 70, 1981, s. 823.
- GABRIEL, J.: Mlékárenský průmysl a opatření ke zvýšení kvality mléka. Veterinářství, 28, 1978, s. 385-386.
- GAJDÚSKOVÁ, V.: Kontrola potravinového řetězce na rezidua herbicidů. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1982. 45 s.
- GAJDÚSKOVÁ, V.: K problematice výskytu a stanovení reziduí herbicidů na bázi diazinů a triazinů v mléce. Čs. Hyg., 28, 1983, s. 6-10.
- GIBSON, T. E. — HIGNETT, P. G.: Antibiotic residues in milk. Veter. Rec., 109, 1981, s. 568.
- GLAWISCHNIG, E.: Antibiotikarückstände in der Milch. Wien. tierärztl. Mschr., 62, 1975, s. 105-107.
- GUDDING, R.: Use of therapeutic agents in treatment of diseases among cows and goats. Meieriposten, 70, 1981, s. 9-11.
- HAMANN, J.: Arzneimittelrückstände in der Milch. Dte tierärztl. Wschr., 87, 1980, s. 237-240.
- HEESCHEN, W.: Rückstände von Arzneimitteln, Pestiziden und Umweltchemikalien in der Milch — ein Überblick zur gegenwärtigen Situation. Tierärztl. Umsch., 37, 1982, s. 538-545.
- HEJZLAR, M. — HYLMAR, B. — TEPLÝ, M.: Antibiotika a jejich použití v potravinářství a zemědělství. Praha, SNTL 1980. 282 s.

HORVATH, I. — SZEPES, G.: Antibiotikum-maradványanyagok kimutatása tejből vékonyrétegben végzett agardiffúziós módszerrel. Magy. Állatorv. Lap., 33, 1978, s. 273-275.

Incidence of antibiotics in dairy products. Technique Laitiere, No. 950, 1981, s. 27-28.

JAULMES, P. — HAMELLE, G.: Présence et taux des oligo-éléments dans les aliments et les boissons de l'homme. Ann. Nutr. Aliment. (Paris), 25, 1971, s. B113-B203.

JOERIN, M. M. — FOSTER, E.: Zinc content of bulk bovine milk. N. Z. J. Dairy Sci. Technol., 11, 1976, s. 213-215.

JONSSON, H.: Determination of lead and cadmium in milk with modern analytical methods. Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 160, 1976, s. 1-10.

MALÍKOVÁ, M. — URBANOVÁ, E.: Rezidua inhibičních látek v syrovém a pasterovaném mléce ve vztahu k rezistenci a přenosné mikrobiální rezistenci na antibiotika. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1982. 28 s.

MAŠEK, J.: Problémy průmyslových exhalací v živočišné výrobě. Stud. Inform. ÚVTI, Živoč. Vyr., 1973, č. 4, 72 s.

PAVELKA, J.: Sledování výskytu olova v mléce ze sběrné oblasti mlékárny v Ostravě-Martinově. In: Zprávy ÚSVÚ, VII a VIII, 1975, s. 3-6.

PFEILSTICKER, K. — MARKARD, C.: Cadmium-, Blei- und Zinkgehalt pflanzlicher Lebensmittel aus Kleingärten eines Industriegebiets. Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 158, 1975, s. 129-135.

Směrnice o cizorodých látkách v poživatinách č. 50, sv. 43/1978, MZd ČSR Praha, 52 s.

STANEK, J.: Obsah stopových prvků v mléce v oblastech postižených pevným průmyslovým spadem. Českoslov. Hyg., 14, 1969, s. 310-314.

TANDY, J. — KING, J. O. L.: Antibiotic residues in milk. Veter. Rec., 107, 1980, s. 382.

WRIGHT, C. L.: Antibiotic residues in milk. Veter. Rec., 108, 1981, s. 20.

Došlo dne 22. 4. 1983

МАЛИКОВА, М. — УРБАНОВА, Е. — ГАЙДУШКОВА, В. — МАШЕК, Й. — ДОЧЕКАЛОВА, Г. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Наличие инородных веществ в сыром и пастеризованном молоке. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (8) : 633-640.

В 1980—1982 гг. в областях снабжения 19 молочных заводов концернового предприятия Лакрум Брно изучали наличие ингибирующих веществ, гербицидов и химических элементов, загрязняющих сырое молоко в первичном производстве и пастеризованное молоко в разных фазах технологической переработки. Микробиологическим диффузионным дисковым методом в тонком слое с использованием индикаторного штамма *B. stearothermophilus* var. *calidolactis* доказали наличие остатков ингибирующих веществ как в сыром (9,1 % из 143 проб), так и в пастеризованном (2,0 % из 151 пробы) молоке. Хроматографическим методом (чувствительность 0,01—0,05 мг/кг молока) обследовали 135 проб сырого молока на наличие остатков гербицидов на базе диазинов и триазинов. Доказан переход гербицидов в молоко; остатки были обнаружены в 45 пробах (33,3 %). Методом атомной спектрофотометрии на содержание цинка, меди, железа и марганца обследовали 143 пробы сырого молока. Анализированные пробы по содержанию цинка удовлетворяли на 100 %, по содержанию железа на 99 %, а по содержанию меди 89 % проб (Инструкция Министерства здравоохранения № 50, 1978 г.). Количество содержащегося марганца у 60 % обследованных проб колебалось в пределах до 0,1 мг/кг. Из 135 проб молока (101 проба сырого и 34 пробы пастеризованного), обследованных на содержание свинца, наивысшему допустимому содержанию, не удовлетворяли 4 пробы (3 %).

ингибирующие вещества антибиотики; гербициды; диазины; триазины; хроматография на тонком слое (TLC); химические вещества загрязняющие; цинк; медь; железо; марганец; свинец

MALÍKOVÁ, M. — URBANOVÁ, E. — GAJDŮŠKOVÁ, V. — MAŠEK, J. — DOČEKALOVÁ, H. (Veterinary Research Institute, Brno): The Occurrence of Foreign Substances in Raw and Pasteurized Milk. Veter. Med. (Praha), 28, 1983 (10) : 633-640.

In 1980 to 1982, the occurrence of inhibiting substances, herbicides and chemical

elements contaminating raw farm and bulk milk and pasteurized milk in different stages of technological processing was studied in the input regions of 19 dairies of the Lacrum Brno concern corporation. Residues of inhibiting substances were demonstrated by the thin-layer microbiological diffusion disk method using the testing strain of *B. stearothermophilus* var. *calidolactis*, to be present in raw milk (9.1 % out of 143 samples) as well as in pasteurized milk (2.0 % out of 151 samples). Chromatographic method (sensitivity 0.01—0.05 mg.kg⁻¹ milk) was used for examining 135 raw milk samples for the occurrence of herbicides based on diazines and triazines. Herbicides were demonstrated to get into milk; residues were found in 45 samples (33.3 %). Atomic absorption spectrophotometry was used for examining 143 raw milk samples for the contents of zinc, copper, iron and manganese. As to zinc content, 100 % of the samples met the standard, as to iron content 99 %, and as to the content of copper, 89 % (Ministry of Health Directives, No. 50, 1978). The content of manganese remained within the range up to 0.1 mg.kg⁻¹ milk in 60 % of the samples. Out of the 135 milk samples (101 raw, 34 pasteurized milk ones) examined for the content of lead, four samples (3 %) failed to meet the limit of the highest admissible level.

inhibiting substances; antibiotics; herbicides; diazines; triazines; thin-layer chromatography (TLC); chemical contaminants; zinc; copper; iron; manganese; lead

Adresa autorů:

MVDr. Milena Malíková, CSc., RNDr. Eva Urbanová, ing. Věra Gajdůšková, CSc., RNDr. Josef Mašek, CSc., RNDr. Hana Dočekalová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Urbanová J., Drybčák J., Věžník Z., Vojtišek B., Alexa P., Holčák V., Kaláb P., Pecka F.: Vliv světelného režimu na biochemické ukazatele krve, séra a moče jalovic v průběhu říjového cyklu . . .	577
Mráz O.: Virulence stájových kmenů <i>Klebsiella pneumoniae</i> pro bílou myš . . .	585
Gabriš J., Bajan L.: Vztahy mezi obsahem minerálních látek v krvi kráv, množstvím mléka a obsahem tuku v mléku . . .	591
Arendarčík J., Tokoš M., Praslička M., Balún J.: Vplyv stupňovaných dávok žiarenia na folikulárny aparát vaječníkov a na adenohipofýzu oviec . . .	597
Molnárová M., Arendarčík J., Tokoš M.: Dynamika zmien aktivít inhibujúcich trypsín (TIA) v cervikálnom hliene, krvi a histomorfologickej stavbe maternice oviec ožiarených X-lúčmi . . .	605
Cigánková V.: Prenatálny a postnatálny vývoj Sertoliho buniek u baranov . . .	613
Hornich M., Tománek J.: Nekrotické procesy žaberní tkáně kapra, způsobené změnami vodního prostředí . . .	621
Malíková M., Urbanová E., Gajdušková V., Mašek J., Dočekalová H.: Výskyt cizorodých látek v syrovém a pasterovaném mléce . . .	633

СОДЕРЖАНИЕ

Урбанова Я., Дрибчак Й., Вежник З., Войтишек Б., Алекса П., Гольчак В., Калаб П., Пецка Ф.: Влияние светового режима на биохимические показатели крови, сыворотки и мочи нетелей в ходе полового цикла . . .	577
Мраз О.: Вирулентность хлевских штаммов <i>Klebsiella pneumoniae</i> для белой мыши . . .	585
Габриш Ю., Баян Л.: Зависимости между содержанием минеральных веществ в крови коров, количеством молока и содержанием молочного жира . . .	591
Арендарчик Й., Токош М., Прасличка М., Балун Й.: Влияние дифференцированных доз облучения на фолликулярный аппарат яичников и на аденогипофиз овец . . .	597
Молнарова М., Арендарчик Й., Токош М.: Динамика изменений трипсин ингибирующих активностей (TIA) во влагалищной слизи, крови, и гистоморфологического строения матки овец, облученных лучами X . . .	605
Циганкова В.: Дородовое и послеродовое развитие клеток Сертоли у баранов . . .	613
Горних М., Томанек Й.: Некротические процессы жаберной ткани карпа, вызванные изменениями водной среды . . .	621
Маликова М., Урбанова Е., Гайдушкова В., Машек Й., Дочекалова Г.: Наличие инородных веществ в сыром и пастеризованном молоке . . .	633



Urbanová J., Drybčák J., Věžník Z., Vojtíšek B., Alexa P., Holčák V., Kaláb P., Pecka F.: The Effect of Light Regime on the Biochemical Parameters of Blood, Serum and Urine in Heifers during their Oestrous Cycle	577
Mráz O.: Virulence of Stable Strains of <i>Klebsiella pneumoniae</i> for White Mice	585
Gabriš J., Bajan L.: Relations between the Content of Minerals in the Blood of Cows, Milk Yield and Fat Content in Milk	591
Arendarčík J., Tokoš M., Praslička M., Balún J.: The Effect of Graded Radiation Doses upon the Follicular Apparatus of Ovaries and the Adenohypophysis of Ewes	597
Molnárová M., Arendarčík J., Tokoš M.: The Dynamics of Changes in the Trypsin-Inhibiting Activities (TIA) of Cervical Mucus and Blood and in the Histomorphological Composition of Uterus in X-Ray Irradiated Ewes	605
Cigánková V.: The Prenatal and Postnatal Development of Sertoli Cells in Rams	613
Hornich M., Tománek J.: Necrotic Processes in Carp Gill Tissue Caused by Changes in Aquatic Medium	621
Malíková M., Urbanová E., Gajdůšková V., Mašek J., Dočekalová H.: The Occurrence of Foreign Substances in Raw and Pasteurized Milk	633

Rukopisy odevzdány k tisku 7. 7. 1983 — Podepsáno k tisku 8. 9. 1983

Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá PNS - ústřední expedice tisku, administrace odborného tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Lze též objednat u každé pošty i poštovního doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice tisku, oddělení vývozu tisku, Jindřišská ulice 14, 110 00 Praha 1. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.