

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5

ROČNÍK 30 (LVIII)
PRAHA
KVĚTEN 1985
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0590-5214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Vědecký časopis

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada:

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Otto Jaroslav Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

© Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1985

■

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, Слезка 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.

■

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben aus dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben von der Tschechoslowakischen landwirtschaftlichen Akademie — Institut für wissenschaftlich-technische Information der Landwirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion 120 56 Prag 2, Slezská 7.

KORELÁCIA MEDZI TYROXÍNOM, 17-beta-ESTRADIOLOM, LUTEINIZAČNÝM HORMÓNOM V SYSTÉMOVOM OBEHU A REKTÁLNOU I VAGINÁLNOU TEPLOTOU JALOVÍC A KRÁV PO PODANÍ CLOPROSTENOLU

J. Elečko, E. Bekeová, I. Maraček, J. Choma, M. Krajničáková

Venované k 60. narodeninám prof. MVDr. Pavla G a m ě i k a, DrSc.

ELEČKO, J. — BEKEOVÁ, E. — MARAČEK, I. — CHOMA, J. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Korelácia medzi tyroxínom, 17beta-estradiolom, luteinizačným hormónom v systémovom obehu a rektálnou i vaginálnou teplotou jalovic a kráv po podaní cloprostenolu*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 257-266.

Sledovali sme zmeny koncentrácie 17beta-estradiolu (E₂), luteinizačného hormónu (LH), rektálnej (RT) i vaginálnej (VT) teploty súbežne so zmenami koncentrácie tyroxínu (T₄) u troch kráv a troch jalovic v luteálnej fáze cyklu, i. m. ošetrovaných 2 ml Oestrophanu (cloprostenol). Výpočtom koeficientu korelácie a jeho štatistickej významnosti sme určili mieru tesnosti závislosti medzi T₄ a ostatnými sledovanými parametrami. Predaplikačné koncentrácie T₄, ako aj jeho koncentrácie v priebehu aplikácie cloprostenolu, boli v porovnaní s hladinami po ošetroaní vysoké. Koncentrácie E₂ v čase podávania prípravku boli v porovnaní s predaplikačnými koncentraciami výrazne vyššie. Po ošetroaní poklesla koncentrácia T₄ i E₂. Bezprostredne po prvom vrchole E₂ zistenom v 44. hodine, nasledoval výrazný pokles E₂ i T₄ s najnižšími hodnotami oboch v 52. a 56. hodine. Druhý vrchol E₂ v 60. hodine bol vystriedaný trvalým pozvoľným poklesom. Vzostup koncentrácie T₄ po 56 hodinách bol pozvoľnejší, najvyššie koncentrácie dosiahol v 74. hodine; po čiastočnom poklese neboli v dynamike jeho koncentrácií ďalšie výraznejšie zmeny zistené. Koncentrácie LH po predchádzajúcom miernom stúpaní vrcholili v 64. hodine. Po prudkom poklese dosiahli predvrcholové hodnoty v 70. hodine. Najnižšia RT i VT bola zaznamenaná v 54. a 94. hodine. Z dynamiky sledovaných hormónov a z ich korelačného hodnotenia možno predpokladať účasť tyroidálnych hormónov na stimulácii syntézy ovariálnych estrogénov, ktoré po svojej syntéze majú tendenciu odbúrať z obehu T₄ i svoje vlastné hladiny, a tým spätne vplyvať na stimuláciu syntézy T₄ svoju vlastnú syntézu i LH.

tyroxín; 17beta-estradiol; luteinizačný hormón; rektálna teplota; vaginálna teplota; Oestrophan; kravy; jalovice

Početné práce z oblasti humánnej i veterinárnej medicíny sú v súčasnosti zamerané na štúdium porúch pohlavného cyklu v etiologickej súvislosti so zmenami funkcie štítnej žľazy (Wilson, 1975; Leatham, 1972; Wang a i., 1980; Potter, 1980; Soffietti a i., 1981; Guarda a i., 1981/1982; Tanaka a i., 1981; Bohnet a i., 1981; Riddlesberger a i., 1981 a ďalší). Mechanizmy interferencie

funkčných zmien štítnej žľazy s gonadálnou funkciou však nie sú zatiaľ dostatočne objasnené. V našej práci sme sa zamerali na súbežné sledovanie fyziologických zmien v dynamike tyroxínu, 17beta-estradiolu a luteinizačného hormónu so súčasným sledovaním priebehu teplotnej krivky u kráv a jalovíc po ich ošetrení prostaglandínom skupiny F₂alfa v luteálnej fáze cyklu. Vzájomnú závislosť dynamických zmien jednotlivých hormónov sme určili výpočtom korelačného koeficientu (r) s určením jeho štatistickej významnosti.

MATERIÁL A METÓDY

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Do experimentálneho sledovania sme zaradili tri kravy a tri jalovice s priemernou hmotnosťou 510 a 330 kg, plemena slovenské strakaté. Opakovaným rektálnym vyšetrením a stanovením hladín progesterónu sme u týchto zvierat potvrdili luteálnu fázu pohlavného cyklu.

POUŽITÝ PRÍPRAVOK

Zvieratám sme podali Oestrophan (Spofa) v jednorazovej i. m. dávke 2 ml na zviera. Prípravok obsahoval v 1 ml roztoku 0,25 mg cloprostenolu vo forme sodnej soli (PG) ako syntetický analóg prostaglandínu F₂alfa.

ODBER VZORIEK KRVÍ

Krv sme odoberali z v. *jugularis* v dvojhodinových až 24-hodinových intervaloch v priebehu siedmich dní. Prvé dva dni sme krv odoberali punkciou v. *jugularis*. Pred podaním Oestrophanu sme všetkým zvieratám založili i. v. permanentné kanyly. Pred založením kanýl sme zvieratám i. m. aplikovali Rompun v množstve 1,8 až 2,0 ml na zviera. Kanyly boli po každom odbere ošetrené fyziologickým roztokom s heparínom (100 m. j. 1 ml). Krvné séra sme uskladnili pri teplote -20°C až do rádioimunologického stanovenia hormónov. Pri každom odbere vzorky krvi sme bežným lekárskej teplomerom všetkým zvieratám merali rektálnu (RT) i vaginálnu (VT) teplotu. Pre každé zviera bol zvlášť určený vlastný rektálny i vaginálny teplomer.

STANOVENIE HORMÓNOV

Koncentráciu tyroxínu (T₄) sme stanovili RIA súpravou RIA-test-T₄, dodanou ÚRVJT v Košiciach. 17beta-estradiol sme stanovili podľa Hotchkiss a i. (1971). Do stanovenia sme použili ³H estradiol (Amersham, England) v množstve 3500 impulzov za minútu v 0,1 ml pufru. Na zhotovenie kalibračnej krivky sme použili štandard estradiolu (Koch-Light, England) v množstve 6,25 až 800 pg. ml⁻¹. Pracovné riedenie antiséra (Píchová, VÚŽV Uhřetěves) bolo 1 : 1700. Na separáciu voľného a viazaného hormónu sme použili 0,3% roztok aktívneho uhlia (Norit A-Serva, Germany) bez dextranu. Aktivitu 0,5 ml supernatantu pridaného do 5 ml scintilačného roztoku sme merali na automatickom počítači PRIAS, model PL/PLD (Packard, USA) a hodnoty 17beta-estradiolu v krvnom sére sme odčítali z kalibračnej krivky. Luteinizačný hormón sme stanovili rádioimunologickou metódou dvojitého protitátok s použitím ingrediencií a postupom podľa Píchovej a Dvořáka (1975). Značenie LH so ¹²⁵I sme robili Greenwoodovou chloraminovou T metódou modifikovanou Stupnickým a Madejom (1976). Aktivitu sedimentu sme merali na automatickom počítači PRIAS-PGD (Packard, USA).

STATISTICKÉ METÓDY

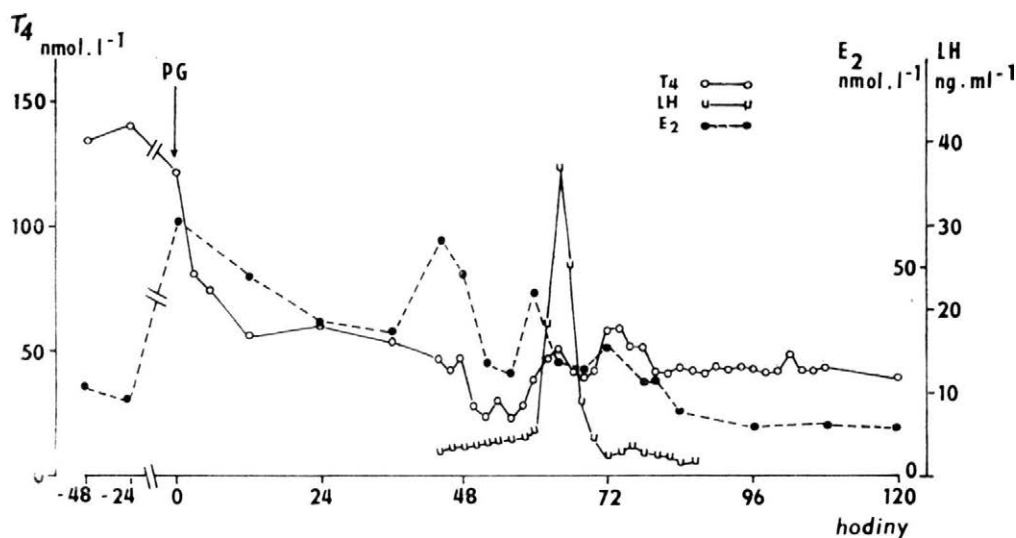
Strednú chybu aritmetického priemeru (m_x) sledovaných parametrov sme urobili t -testom ako udáva Červenka (1975). Významnosť zmien v koncentracii

jednotlivých hormónov v sledovanom období sme testovali Studentovým *t*-testom. Mieru tesnosti závislosti medzi jednotlivými hormónmi a telesnou teplotou (rektálnou i vaginálnou) sme určili výpočtom korelačného koeficientu (*r*) a štatistickej významnosti korelácie (Červenka, 1975).

VÝSLEDKY

Koncentrácia T_4 (obr. 1, tab. 1) sa v dobe aplikácie cloprostenolu pohybovala na hladine $122,11 \pm 23,41 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra. Po ošetrení jeho koncentrácie klesali a výrazne nízke koncentrácie sme u všetkých zvierat zaznamenali v časovom rozpätí 50 až 58 hodín s najnižšími hodnotami $24,20 \pm 9,26 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra v 52. hodine a $24,12 \pm 6,58 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra v 56. hodine. Signifikantnosť poklesu v 50. až 58. hodine oproti hladinám v 24. až 48. hodine je vyjadrená vzťahom $P < 0,001$. Po 58. hodine mali koncentrácie T_4 vzostupnú tendenciu a najvyššie hodnoty $59,12 \pm 13,20 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$ dosiahli v 74. hodine. Vzostup v 60. až 78. hodine oproti koncentráciám v 50. až 58. hodine je signifikantný na úrovni $P < 0,001$. Pokles koncentrácie T_4 k hodnotám $40,95 \pm 8,37 \text{ nmol} \cdot \text{l}^{-1}$, na ktorých sa udržiaval bez výraznejších zmien až do konca sledovaného obdobia, sme zaznamenali v 80. hodine.

Predaplikačné koncentrácie E_2 sa pohybovali na hladine $21,52 \pm 2,76$ a $18,04 \pm 6,86 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra. V dobe podávania Oestrophanu sme zvlášť u troch zvierat zaznamenali prudký vzostup a priemerné koncentrácie dosiahli hodnoty $61,28 \pm 17,00 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra. Pokles v ďalšom období je vystriedaný v 44. hodine prvým vrcholom s hodnotami $57,49 \pm 25,41 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ séra. Druhé zvýšenie $43,11 \pm 5,45 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ sme po prechodnom výraznom poklese k hodnotám $24,12 \pm 2,74 \text{ pmol} \cdot \text{l}^{-1}$ v 56. hodine zaznamenali v 60. hodine. V ďalšom období kon-



1. Koncentrácia tyroxínu (T_4), 17beta-estradiolu (E_2) a luteinizačného hormónu u kráv a jalovic po podaní Oestrophanu (PG) — The concentrations of thyroxine (T_4), 17beta-oestradiol (E_2) and luteinizing hormone in cows and heifers given Oestrophan (PG)

I. Koncentrácia tyroxínu (T₄), 17 beta-estradiolu, luteinizačného hormónu, rektálna a vaginálna teplota u kráv a jalovic po podaní oestrophanu — Concentrations of thyroxine (T₄), 17beta-oestradiol, luteinizing hormone, the rectal and vaginal temperatures in cows and heifers after oestrophan administration

Hodina odberu	Koncentrácia			Teplota	
	tyroxín nmol.l ⁻¹ ± mx	17beta-estradiol pmol.l ⁻¹ ± mx	LH ng.ml ⁻¹ ± mx	rektálna °C ±	vaginálna °C ±
-48	133,83 ± 8,63	21,52 ± 2,76	—	38,5 ± 0,1500	38,2 ± 0,1950
-24	140,17 ± 11,33	18,04 ± 6,86	—	38,8 ± 0,0500	38,5 ± 0,1914
0	122,11 ± 9,50	61,28 ± 17,00	—	39,1 ± 0,2986	38,7 ± 0,3543
12	56,11 ± 3,92	48,62 ± 14,63	—	39,2 ± 0,1258	38,9 ± 0,1290
24	61,15 ± 2,48	36,08 ± 5,72	—	39,2 ± 0,1213	39,1 ± 0,1674
36	53,87 ± 3,84	34,86 ± 19,90	—	39,3 ± 0,3077	39,1 ± 0,3366
44	47,96 ± 2,59	57,49 ± 25,41	3,02 ± 3,98	38,6 ± 0,1863	38,3 ± 0,2034
48	46,95 ± 5,12	48,44 ± 7,92	3,41 ± 0,50	38,4 ± 0,1940	38,4 ± 0,2409
52	24,20 ± 3,79	26,91 ± 13,08	3,85 ± 0,65	38,4 ± 0,1500	38,1 ± 0,2748
56	24,12 ± 2,74	23,85 ± 10,16	4,42 ± 0,50	38,8 ± 0,2217	38,7 ± 0,2034
60	39,77 ± 7,77	43,11 ± 5,45	5,40 ± 1,00	39,9 ± 0,1699	38,7 ± 0,2708
64	51,80 ± 4,95	27,98 ± 2,74	37,51 ± 2,47	39,0 ± 0,2211	38,6 ± 0,2054
68	39,66 ± 7,02	25,68 ± 10,54	8,85 ± 0,90	38,9 ± 0,4219	38,7 ± 0,4810
72	58,47 ± 6,44	31,19 ± 3,93	2,35 ± 0,46	38,7 ± 0,3131	38,5 ± 0,3484
78	52,99 ± 5,57	21,71 ± 1,69	2,80 ± 0,68	38,8 ± 0,5343	38,8 ± 0,5520
80	41,96 ± 4,25	22,93 ± 7,83	2,69 ± 0,49	39,1 ± 0,5715	38,9 ± 0,5249
84	43,53 ± 3,92	15,29 ± 1,41	1,59 ± 0,22	38,8 ± 0,3091	38,6 ± 0,3804
96	43,51 ± 5,13	11,62 ± 2,23	—	38,4 ± 0,3144	38,3 ± 0,3299
108	43,53 ± 4,34	12,84 ± 3,96	—	39,2 ± 0,3915	38,9 ± 0,3214
120	99,83 ± 3,18	11,31 ± 2,46	—	38,8 ± 0,6751	38,6 ± 0,7203

mx = SEM

centrácie E₂ pozvoľne klesali ku konečným hodnotám 11,31 ± 2,46 pmol.l⁻¹ séra v 120. hodine.

Koncentrácie LH v dobe od 44. do 60. hodiny dosahovali hodnoty 3,02 ± 0,52 až 5,40 ± 1,00 ng.ml⁻¹ séra. Vrchol LH 37,51 ± 2,47 ng.ml⁻¹ séra sme zaznamenali v 64. hodine. V 72. až 86. hodine koncentrácie LH kolísali v rozpätí hodnôt 1,59 ± 0,22 až 4,09 ± 0,70 ng.ml⁻¹ séra.

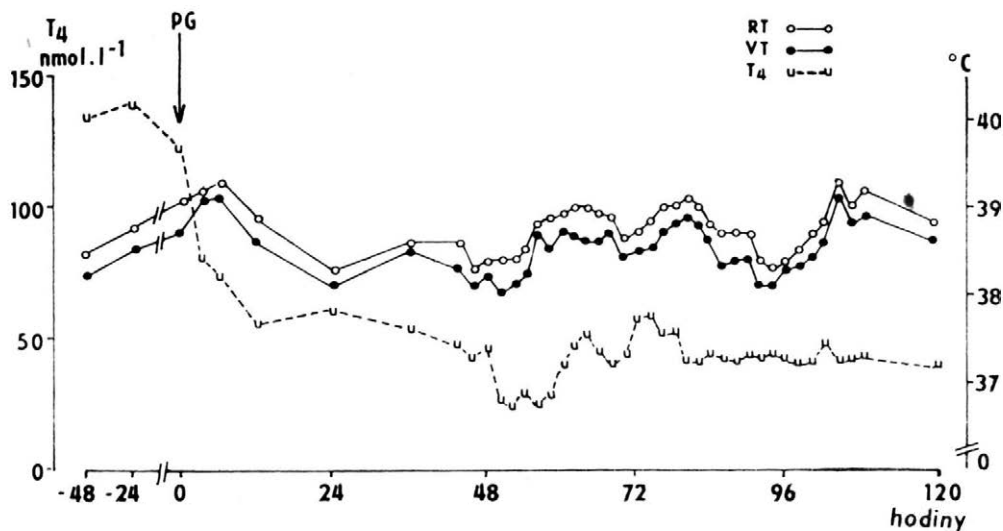
Rektálna a vaginálna teplota v čase aplikácie Oestrophanu bola 39,1 °C a 38,7 °C. Po ošetrení obe teploty klesali; najnižšie teploty, pohybujúce sa v rozpätí 38,3 ± 0,21 °C až 38,5 ± 0,19 °C a 38,1 ± 0,22 °C až 38,2 ± 0,17 °C, sme zaznamenali v dobe od 46. do 54. hodiny. Signifikantnosť poklesu teplôt oproti hodnotám teplôt v nulte až 44. hodine bola na hranici významnosti $P < 0,05$. Po 54. hodine mala rektálna i vaginálna teplota vzostupný charakter až do 80. hodiny. Pokles v čase od 82. do 94. hodiny, s najnižšími teplotami 38,3 ± 0,37 °C v 94. hodine a 38,1 ± 0,47 °C v 92. a 94. hodine, bol opäť vystriedaný vzostupom k hod-

II. Korelačné hodnotenie sledovaných parametrov, vyjadrené korelačným koeficientom (r), a jeho štatistická významnosť — Evaluation of the correlations of the studied parameters, expressed by the correlation coefficient (r), and their statistical significance

Hodiny odberu	Korelačný koeficient (r)					
	tyroxín — 17beta- -estradiol	tyroxín — LH	tyroxín — rektálna teplota	tyroxín — vaginálna teplota	17beta- -estradiol — rektálna teplota	17beta- -estradiol — vaginálna teplota
-48	-0,2658	—	0,3349	0,1607	0,1566	-0,3638
-24	-0,8328 ⁺⁺⁺	—	-0,1787	-0,3308	0,1335	0,4700
0	0,5876 ⁺	—	-0,1030	0,3182	-0,4276	-0,2387
12	-0,5962 ⁺	—	0,0906	-0,0740	0,5066	0,8257 ⁺⁺⁺
24	0,0379	—	0,3521	-0,0827	-0,2828	-0,3618
36	-0,1896	—	0,1280	-0,0584	0,0299	0,0501
44	-0,5997 ⁺	-0,3622	0,2598	0,3935	0,3314	0,3823
48	0,3038	0,4949	0,1203	0,1675	-0,1927	0,2901
52	0,0476	0,5462	0,4704	0,4465	-0,5023	-0,2122
56	-0,2960	0,5066	0,2150	-0,2417	-0,0135	0,0443
60	-0,9698 ⁺⁺⁺	0,1256	0,3137	0,2849	0,4326	0,2799
64	0,5736	0,4572	-0,0880	-0,0880	0,1145	0,1224
68	0,1363	-0,66034 ⁺	0,2714	-0,2714	0,0343	0,2714
72	-0,2942	-0,5923 ⁺	0,1149	-0,0379	0,8348 ⁺⁺⁺	0,8509 ⁺⁺⁺
78	0,4599	0,4104	-0,6969 ⁺	-0,5418	-0,19712	-0,1487
80	0,6604 ⁺	-0,6685 ⁺	-0,8496 ⁺⁺⁺	-0,8734 ⁺⁺⁺	-0,4435	-0,4606
84	-0,6065 ⁺	-0,8875 ⁺⁺⁺	-0,9068 ⁺⁺⁺	-0,8409 ⁺⁺⁺	0,2764	0,2478
96	-0,1645	—	0,1861	0,0896	-0,7703 ⁺⁺	-0,4518
108	-0,0861	—	-0,9242 ⁺⁺⁺	-0,8515 ⁺⁺⁺	0,7093 ⁺⁺	0,8880 ⁺⁺⁺
120	-0,0252	—	-0,9704 ⁺⁺⁺	-0,9222 ⁺⁺⁺	0,2478	0,2522

Štatistická významnosť korelácie: ⁺ $P < 0,05$; ⁺⁺ $P < 0,01$; ⁺⁺⁺ $P < 0,001$

notám $39,3 \pm 0,26^\circ\text{C}$ a $39,1 \pm 0,24^\circ\text{C}$ v 104. hodine. Po 104. hodine teploty opäť mierne poklesli k hodnotám $38,8 \pm 0,62^\circ\text{C}$ a $38,6 \pm 0,66^\circ\text{C}$ v 120. hodine (obr. 2). Súbežné korelačné hodnotenie T_4 a E_2 ako aj E_2 s telesnými teplotami je uvedené v tab. II. Korelácia koncentrácie E_2 v 44. hodine s koncentraciami T_4 v 52. a 56. hodine bola významná na hladine $P < 0,05$ ($r = 0,56$) a $P < 0,01$ ($r = 0,78$). Významnosť korelácie T_4 s LH bola okrem údajov uvedených v tab. II zaznamenaná aj v 46., 54. a 82. hodine ($P < 0,001$). Korelácia koncentrácie T_4 a RT i VT bola do 44. hodiny nevýznamná. Významnosť korelácie koncentrácií T_4 a RT bola (okrem údajov udávaných v tab. II) zaznamenaná v 46., 76., 86., 90., 104. ($P < 0,05$), 88. ($P < 0,01$), 82., 100. a 106. hodine ($P < 0,001$), vo vzťahu T_4 — VT v 88., 90., 92. ($P < 0,05$), 82., 86. ($P < 0,01$) a v 106. hodine ($P < 0,001$).



2. Koncentrácia tyroxínu (T_4), rektálna (RT) a vaginálna (VT) teplota u kráv a jalovic po podaní Oestrophanu (PG) — The concentration of thyroxine (T_4) and the rectal (RT) and vaginal (VT) temperatures in cows and heifers after the administration of Oestrophan (PG)

DISKUSIA

Z dynamiky sledovaných hormónov, ich vzájomného korelačného hodnotenia v jednotlivých časových intervaloch ako aj z početných literárnych údajov vyplýva, že medzi hormónmi štítnej žľazy a ovariálnymi estrogénmi vzniká v priebehu pohlavného cyklu celý komplex zložitých interakčných procesov, ktoré možno čiastočne charakterizovať ako stimuláciu produkcie vaječníkových hormónov hormónmi štítnej žľazy, odbúravanie hormónov štítnej žľazy i vaječníkových hormónov z obehu pôsobením estrogénov a ovplyvňovanie metabolizmu estrogénov hormónmi štítnej žľazy.

Význam hormónov štítnej žľazy v produkcii estrogénov je dokumentovaný experimentálnymi prácami autorov Leatham (1972), Southren a i. (1974), Akande (1975) a ďalších. Z ich prác vyplýva, že stimuláciou syntézy androstendiónu, zvyšovaním periférnej konverzie testosterónu a androstendiónu na plazmatický estrón a estradiol, ako aj stimuláciou aktivity 17beta-hydroxysteroid dehydrogenázy sa hormóny štítnej žľazy vo veľkej miere podieľajú na zvyšovaní cirkulujúcich hladín estrogénov. Podobne v klinických pozorovaniach autorov Wilson (1975), Potter (1980), Riddlesberger a i. (1981), Bohnet a i. (1981), Evers a Rolland (1981) a ďalších sa cystická degenerácia ovárií, infertilita a iné poruchy reprodukčného procesu dávajú do súvisu s hypotyreoidizmom, a teda so zníženou produkciou ovariálnych hormónov.

V zhode s údajmi citovaných autorov predpokladáme, že zvýšenie hladiny 17beta-estradiolu, ktoré sme zaznamenali v nulte hodine, súvisí so zvýšením hladín tyroxínu v uvedenom čase, čo by bolo v súlade tak s výsledkami uvedených autorov, ako aj s nálezmi, ktoré popisujú

Stoebel a Moberg (1982). Stoebel a Moberg (1982) udávajú, že akútny stres zvyšuje ACTH, kortikosteroidy i nadobličkový progesterón (Wagner a i., 1972). Predpokladáme, že aj v týchto prípadoch bude primárnou príčinou zvýšená produkcia tyroxínu (Benelli a i., 1982) s následným zvýšením nielen nadobličkových, ale aj ovariálnych hormónov. So stimulačným pôsobením tyroidálnych hormónov na ovariálnu produkciu súvisí pravdepodobne aj negatívna, štatisticky významná korelácia vo väčšine prípadov nášho hodnotenia. Vysvetlenie uvedenej hypotézy vidíme vo vlastnosti estrogénov, ktoré sa cestou určitých mechanizmov snažia odbúrať cirkulujúci tyroxín. Jedným z týchto mechanizmov je podľa Chena a Walfisha (1978) stimulácia konverzie tyroxínu cestou jeho monodejodácie na viacúčinný trijódtyronín. Dalším mechanizmom pôsobiacim pravdepodobne v tomto smere je zvyšovanie bielkovinovej frakcie plazmy, tzv. globulínu viažúceho tyroxín — TBG (Harper a Grodsky, 1977). Z uvedeného teda vyplýva, že paralelne so zvyšovaním hladín estrogénov dochádza k poklesu koncentrácie tyroxínu, a teda k negatívnemu korelačnému vzťahu. Pôsobením uvedených mechanizmov si vysvetľujeme aj maximálny pokles tyroxínu, ktorý nasledoval bezprostredne po vzostupe koncentrácie 17beta-estradiolu v 44. hodine, ako aj štatisticky významnú koreláciu medzi najnižšími hladinami tyroxínu a prvým vrcholom 17beta-estradiolu. Z našich výsledkov ako aj zo zistení viacerých autorov však vyplýva, že podobne ako na cirkulujúci tyroxín pôsobia estrogény aj na svoje vlastné koncentrácie. Southren a i. (1974) popisujú stimulačné pôsobenie estrogénov na väzobný globulín plazmy, tzv. globulín viažúci sexuálne hormóny — SHGB. Tento globulín viaže okrem estradiolu aj testosterón, androstenolón a iné androgény slúžiace ako východiskové substráty pri syntéze estrogénov (Hemsel a i., 1974; Southren a i., 1974; Schreiber, 1979). Akande a Andersen (1975 — cit. Schreiber, 1979) dávajú zvýšené hladiny SHGB u žien pri hypertyreóze do súvislosti so zvýšenou produkciou estrogénov. Podľa Katza a Armstronga (1976) ovplyvňujú estrogény za určitých podmienok svoje vlastné hladiny aj cestou inhibície syntézy svojich prekursorov. Autori zistili pokles syntézy androgénov a estrogénov po štvorhodinovom až šesťhodinovom pôsobení LH. Vychádzajúc z uvedených zistení predpokladajú, že estrogény, keď sú prítomné vo vysokých koncentráciách, inhibujú produkciu androgénov stimulovanú pôsobením LH. K podobným výsledkom dospeli Butcher a i. (1974) a Ekholm a Hillensjo (1982). Udávajú, že estrogény pôsobením na lyázový enzymatický systém regulujúci štiepenie väzby medzi C 17 a C 20 zasahujú do syntézy dehydroepiandrosterónu, a teda aj do syntézy androstendiónu, ktorý je pôsobením LH syntetizovaný v thekálnych bunkách a ponúkaný bunkám granulózy vaječníka na syntézu estrogénov (Katz, 1981).

Z uvedených nálezov ako aj z našich výsledkov predpokladáme, že estrogény, ktorých syntéza je stimulovaná pôsobením tyroidálnych hormónov, po dosiahnutí určitých hladín vedú spätne k zníženiu svojich vlastných koncentrácií i koncentrácií tyroxínu, ktorý je podľa Chena a Walfisha (1978) stimulačným hormónom tyreotropných buniek adenohipofýzy. Význam týchto mechanizmov v procese ovulácie zatiaľ nie je známy. Zdá sa byť oprávnená domnienka, že je to jedna z ciest stimulácie produkcie tyroxínu ako východiskovej látky pre vznik viac-

účinného trijódtyronínu a tiež LH (Gray a i., 1982), čomu by čiastočne zodpovedala aj štatisticky vysoko významná korelácia tyroxínu a LH v 46. a 54. hodine.

S poklesom koncentrácií tyroxínu a 17beta-estradiolu (Abrams a i., 1975; Killam a i., 1973) súvisí pravdepodobne aj štatisticky významný pokles rektálnej i vaginálnej teploty v 46. až 54. hodine oproti teplotám v nulte až 44. hodine. Napriek štatisticky významnému poklesu teplôt v danom časovom úseku sme štatisticky významnú koreláciu medzi tyroxínom a rektálnou teplotou zaznamenali iba v 46. hodine sledovania. Z toho usudzujeme, že telesná teplota po podaní Oestrophanu bude v prvých hodinách po aplikácii do určitej miery ovplyvňovaná aj pyrogénnym účinkom použitého prostaglandínu (Clayman, 1975). Priebeh kriviek telesných teplôt je v podstate zhodný s údajmi podľa Dlhoša (1977), Maya a i. (1981), ktorí v priebehu ovariálneho cyklu žien zistili najnižšie teploty vo folikulárnej fáze, vzostup teplôt dva až štyri dni pred očakávanou ovuláciou s výrazným poklesom v čase ovulácie. Podobne Pau a Wan (1975), Nieuwenhuizen a i. (1979) poukázali na zvýšenie telesnej teploty hovädzieho dobytku v čase ruje. Zartman a DeAlba (1981/1982) popisujú úspešnú insemináciu kráv, keď bola robená pri dosiahnutí najvyššej teploty. Napriek určitej zhode našich zistení s údajmi citovaných autorov nemôžeme pokles teploty zistený po 80. hodine dávať do vzťahu s ovuláciou, nakoľko sme presný čas ovulácie v našej experimentálnej práci nesledovali.

Z dynamiky zmien koncentrácií sledovaných hormónov a z ich vzájomného korelačného hodnotenia vidno, že hormóny štítnej žľazy majú významný podiel na stimulácii syntézy estrogénov, ktoré po svojej syntéze majú tendenciu odbúrať z obehu tyroxín i svoje vlastné hladiny, a tým spätne vplývať na stimuláciu syntézy tyroxínu, svoju vlastnú syntézu i LH. Táto pracovná hypotéza vyžaduje ďalšie overovanie.

Literatúra

- ABRAMS, R. M. — THATCHER, W. W. — CHENAULT, J. R. — WILCOX, C. J.: Bovine vaginal circulation, changes during estrous cycle. *J. Dairy Sci.*, 58, 1975, s. 1528-1530.
- AKANDE, E.: Plasma estrogens in euthyroid and thyrotoxic women. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 1975, s. 880-886.
- BENELLI, CH. — MICHEL, O. — MICHEL, R.: Effect of thyroidectomy on pregnenolone and progesterone biosynthesis in rat adrenal cortex. *J. steroid. Biochem.*, 16, 1982, s. 749-754.
- BOHNET, H. G. — FIEDLER, K. — LEIDENBERGER, F. A.: Subclinical hypothyroidism and infertility. *Lancet*, 5, 1981, s. 1278.
- BUTCHER, R. L. — COLLINS, W. E. — FUGO, N. W.: Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol 17beta throughout the 4-day estrous cycle of the rat. *Endocrinology*, 94, 1974, s. 1704-1708.
- CLAYMAN, C. B.: The prostaglandins. *J. Amer. med. Assoc.*, 233, 1975, s. 904-906.
- ČERVENKA, J.: Základy štatistiky. Ed.: GORDAN, J. Martin, Osveta 1975, s. 80-93.
- DLHOŠ, E.: Vyšetrovacie metódy v gynekologickej endokrinológii. In: *Gynekologická endokrinológia*. Martin, Osveta 1977, s. 127-193.
- EKHOLM, C. — HILLENSJO, T.: LH-induced inhibition of follicular androgen formation requires intact steroidogenesis. *Molec. cell. Endocrin.*, 27, 1982, s. 67-75.
- EVERS, J. L. H. — ROLLAND, R.: Primary hypothyroidism and ovarian activity evidence for an overlap in the synthesis of pituitary glycoproteins. *Brit. J. Obstet. Gynaec.*, 88, 1981, s. 195-202.
- GRAY, P. — POGIETER, G. M. — SLABBER, C. F. — VELDSMAN, J. J.: Evidence

- for the role of androgens in the feedback control of gonadotrophin secretion in the human female. *S. Afr. med. J.*, **61**, 1982, s. 837-838.
- GUARDA, F. — BIOLATTI, B. — NEBBIA, C. — SOFFIETTI, M.: Ricerche anatomo-patologiche su tiroidi di feti bovini abortiti provenienti da zone ad allevamento intensivo. *Annali Fac. Med. veter. Torino*, **XXVIII**, 1981/1982, s. 3-22.
- HARPER, H. A. — GRODSKY, M.: Chemie a funkce hormonů. In: *Přehled fyziologické chemie*. Praha, Avicenum, zdravot. nakl. 1977, s. 485-546.
- HEMSEL, D. L. — GRODIN, J. M. — BRENNER, P. F. — SIITERI, P. K. — MACDONALD, P. C.: Plasma precursors of estrogen. II. Correlation of the extent of conversion of plasma androstendione to estrogens with age. *J. clin. Endocrin. Metab.*, **38**, 1974, s. 476-479.
- HOTCHKISS, J. — ATKINSON, L. E. — KNOBIL, E.: Time course of serum estrogen and LH concentrations during the menstrual cycle of the rhesus monkey. *Endocrinology*, **89**, 1971, s. 177-183.
- CHEN, H. J. — WALFISH, P. G.: Effect of estradiol benzoate on thyroid-pituitary function in female rats. *Endocrinology*, **103**, 1978, s. 1023-1030.
- KATZ, M.: Polycystic ovaries. *Clin. Obstet. Gynec.*, **8**, 1981, s. 715-731.
- KATZ, Y. — ARMSTRONG, D.: Inhibition of ovarian estradiol-17 β secretion by luteinizing hormone in prepubertal, pregnant mare serum-treated rats. *Endocrinology*, **99**, 1976, s. 1442-1447.
- KILLAM, A. P. — ROSENFELD, C. R. — BATTAGLIA, F. C. — MAKOWSKI, E. L. — MESCHIA, G.: Effects of estrogens on the uterine blood flow of oophorectomized ewes. *Amer. J. Obstet. Gynec.*, **115**, 1973, s. 1045-1052.
- LEATHAM, J.: Role of the thyroid. In: *Reproductive biology*. Ed.: BALLIN, H. — GLASSER, S. *Excerpta Medica*, Amsterdam 1972, s. 857-876.
- MAY, J. A. — SMITH, R. E. — HANSON, F. W.: Temperature and heat flow variations during the menstrual cycle: breasts and extremities. *J. therm. Biol.*, **6**, 1981, s. 161-167.
- NIEUWENHUIZEN, L. — DEKKER, A. W. C. — TE BRAKE, J. H. — MAATJE, K. — ROSSING, W.: Het verloop van de lichaams temperatuur van melkkoeien tijdens de brons. *Tijdschr. Diergeneesk.*, **104**, 1979, s. 312-319.
- PAU, K. Y. F. — WAN, W. C. M.: The rectal temperature and serum luteinizing hormone concentration of heifers during estrus. *Bull. Inst. Zool., Acad. Sinica*, **14**, 1975, s. 55-59.
- PÍCHOVÁ, A. — DVOŘÁK, P.: Určování hypofyzárních hormonů u hospodářských zvířat radioizotopovými metodami. [Závěrečná zpráva.] Praha-Uhřetěves. Výzk. ústav živočišné výroby 1975. 40 s.
- POTTER, J. D.: Hypothyroidism and reproductive failure. *Sur. Gynec. Obstet.*, **150**, 1980, s. 251-255.
- RIDDLESBERGER, M. M. — KUHN, J. P. — MUNSCHAUER, R. W.: The association of juvenile hypothyroidism and cystic ovaries. *Radiology*, **139**, 1981, s. 77-80.
- SCHREIBER, V.: Ovaria. In: *Patofyziologie žláz s vnitřní sekrecí*. Praha, Avicenum, zdravot. nakl. 1979, s. 292-329.
- SOFFIETTI, M. — NEBBIA, C. — BIOLATTI, B. — ANGELETTI, E.: Determinazione di residui di tireostatici in tiroidi di feti bovini abortiti e rilievi anatomo-isopatologici. *Schweiz. Arch. Tierheilde*, **123**, 1981, s. 655-662.
- SOUTHCEN, A. L. — OLIVO, J. — GORDON, G. — VITTEK, J. — BRENER, J. — RAFIL, F.: The conversion of androgens to estrogens in hyperthyroidism. *J. clin. Endocrin. Metab.*, **38**, 1974, s. 207-214.
- STOEBEL, D. P. — MOBERG, G. P.: Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, **65**, 1982, s. 92-96.
- STUPNICKY, R. — MADEJ, A.: Radioimmunoassay of LH in blood plasma of farm animals. *Endocrinology*, **68**, 1976, s. 6-13.
- TANAKA, T. — TAMAI, H. — KUMA, K. — MATSUZUKA, F. — HIDAKA, H.: Gonadotropin response to luteinizing hormone releasing hormone in hyperthyroid patients with menstrual disturbances. *Metabolism*, **30**, 1981, s. 323-326.
- WAGNER, W. — STROHBEHN, R. E. — HARRIS, P. A.: ACTH corticosteroids and luteal function in heifers. *J. anim. Sci.*, **35**, 1972, s. 789-794.
- WANG, P. S. — LIU, T. C. — JACKSON, G. L.: Effects of thyroidectomy and hormone by rat anterior pituitary glands in vitro. *Biol. Reprod.*, **23**, 1980, s. 752-759.
- WILSON, J. G.: Hypothyroidism in ruminants with special reference to foetal goitre. *Veter. Rec.*, **97**, 1975, s. 161-164.
- ZARTMAN, D. L. — DE ALBA, E.: Remote temperature sensing of oestrus cycles in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **4**, 1981, s. 261-267.

ЭЛЕЧКО, Я. — БЕКЕОВА, Э. — МАРАЧЕК, И. — ХОМА, Я. — КРАЙНИЧАКОВА, М. (Институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице): Корреляция между тироксином, 17 бета-эстрадиолом, ЛГ в системном обращении, ректальной и вагинальной температурами нетелей и коров после подачи клопростенола. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985 (5) : 257-266.

Нами изучались изменения концентрации 17 бета-эстрадиола (Е2), лютеинизирующего гормона (ЛГ), ректальной (РТ) и вагинальной (ВТ) температур параллельно с изменениями концентрации тироксина (Т4) у трех коров и трех нетелей в лютеальной фазе цикла, внутримышечно обработанных 2 мл оэстрофана (клопростенол). По коэффициенту корреляции и его статистической значимости определялась степень тесноты зависимости между Т4 и другими изучаемыми параметрами. Концентрации Т4 до применения, как и концентрации во время применения клопростенола по сравнению с уровнями после обработки были высокими. Концентрация Е2 во время подачи препарата по сравнению с концентрацией до применения была значительно выше. После обработки препаратом концентрации Т4 и Е2 понизились. Непосредственно после первого максимума Е2, установленного в 44 ч, наступало резкое понижение Е2 и Т4 с минимальными значениями обеих концентраций на 52 и 56 ч. Второй максимум Е2 в 60 ч переходил в длительное постепенное понижение. Рост концентрации Т4 после 56 ч был постепенным, максимальной концентрации он достиг в 74 ч; после некоторого понижения не было установлено дальнейших резких изменений в динамике его концентрации. Концентрации ЛГ после предшествующего небольшого повышения достигали максимума на 64 ч. После резкого понижения они достигали в 70 ч значения, установленного перед максимумом. Самые низкие значения РТ и ВТ отмечались на 54 и 94 ч. По динамике изучаемых гормонов и их корреляции можно предполагать участие тироидальных гормонов в стимуляции синтеза овариальных эстрогенов, которые по своему синтезу способны исключать из обращения Т4 и свои собственные уровни и тем самым отрицательно действовать на стимуляцию синтеза Т4, свой собственный синтез и ЛГ. тироксин; 17 бета-эстрадиол; лютеинизирующий гормон; ректальная температура; вагинальная температура; оэстрофан; коровы; нетели

ELEČKO, J. — BEKEOVÁ, E. — MARAČEK, I. — CHOMA, J. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Correlations between Thyroxine, 17beta-oestradiol, LH in the System Circulation and the Rectal and Vaginal Temperature of Heifers and Cows after Cloprostenol Administration*. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985 (5) : 257-266.

Changes in the concentration of 17beta-oestradiol (Е2) and luteinizing hormone (LH) and in the rectal and vaginal temperatures (RT and VT) were studied along with the changes in thyroxine concentration (Т4) in three cows and three heifers in the luteal stage of the cycle; the animals had been intramuscularly treated with 2 ml Oestrophan (cloprostenol). The closeness of the correlation between Т4 and the remaining parameters under study was determined by the calculation of the correlation coefficient and statistical significance. The concentrations of Т4 before and during cloprostenol administration were high in comparison with the post-treatment levels. Е2 concentrations at cloprostenol administration time were much higher than those recorded before administration. After treatment the concentrations of Т4 and Е2 sank. The first Е2 peak, recorded in the 44th hour, was immediately followed by a marked drop of Е2 as well as Т4, the lowest values of both being recorded in the 52nd and 56th hour. The second peak of Е2 in the 60th hour was followed by a slow but steady decrease. The rise of the concentration of Т4 after the 56th hour was slow and reached the peak in the 74th hour; after a partial decrease no further marked changes in concentrations were recorded. LH concentrations rose at a slow rate to reach the peak in the 64th hour. After a rapid decline they reached the pre-peak value in the 70th hour. The lowest RT and VT levels were recorded in the 54th and 94th hour. It can be assumed on the basis of the behaviour of the hormones and the evaluation of their correlations that thyroidal hormones are involved in the stimulation of the synthesis of ovarian oestrogens which tend, after their synthesis, to eliminate from circulation the Т4 as well as their own levels and thereby to influence (as feedback) the stimulation of Т4 synthesis, their own synthesis, and LH.

thyroxine; 17beta-oestradiol; luteinizing hormone; rectal temperature; vaginal temperature; Oestrophan; cows; heifers

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Eva Bekeová, CSc., MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Ján Choma, CSc., MVDr. Mária Krajničáková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

TESTOVANIE VNÍMAVOSTI BUNKOVÝCH KULTÚR K INFEKCIÍ VÍRUSOM BOVINNEJ LEUKÓZY

M. Bobáková, F. Lešník, O. J. Vrtiak

BOBAKOVÁ, M. — LEŠNÍK, F. — VRTIAK, O. J. (Štátny veterinárny ústav, Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Testovanie vnímavosti bunkových kultúr k infekcii vírusom bovinnej leukózy*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 267-274.

Sledovali sme vnímavosť rôznych bunkových kultúr k infekcii bovinnej leukózy. K tomuto sledovaniu sme použili syncyriálny test. Ako zdroj vírusu slúžila bunková línia FLS BLV⁺. Ako vnímavé k tvorbe syncýrií sa ukázali bunkové línie BHK-21 a ZP-1/58. Okrem syncyriálnych útvarov sme v nich pozorovali výskyt obrovských buniek s jedným až tromi obrovskými jadrami a voľných jadier dosahujúcich veľkosť syncýria. Vírusovú špecifickosť syncýrií vznikajúcich v týchto dvoch bunkových liniách sme potvrdili imunofluorescenčným testom. V prípade imunoperoxidázového testu sme pozitívny výsledok získali iba pri bunkovej línii BHK-21. Aj v prípade, keď sme infikovali bunky BHK-21 lymfocytmi leukózných kráv, sme pozorovali výskyt syncýrií a obrovských jadier.

enzootická bovinná leukóza; infekcia vírusom bovinnej leukózy (BLV); bunky BHK-21; bunky ZP-1/58; syncyriálny test; imunoperoxidázový test

Vírus bovinnej leukózy (BLV) sa zaraďuje medzi exogénne vírusy z čeľade *Retroviridae* a podčeľade *Oncovirinae* (Melnick, 1982). Vo vnímavých bunkových kultúrach indukuje tvorbu syncýrií. Táto schopnosť ho odlišuje od všetkých onkovírusov typu C vyvolávajúcich leukémie (Diglio a Ferrer, 1976) a využíva sa na dôkaz infekcie BLV syncyriálnym testom (Ferrer a Diglio, 1976; Diglio a i., 1978). Tento test je špecifický pre priamu diagnostiku infekcie BLV, nakoľko u indikátorových buniek vyvoláva tvorbu syncýrií iba v prípade, keď sa ako inokulum použijú lymfocyty hovädzieho dobytku s enzootickou bovinnou leukózou (EBL) alebo ovce experimentálne infikovanej BLV. Lymfocyty dobytku s týmusovou alebo kožnou formou leukózy syncyriá netvorí (Honnma a i., 1980).

Indukcia vírusových antigénov vo vnímavých indikátorových bunkách poskytla základ aj pre imunoperoxidázový (IP) test (Ressang a i., 1976; Jerabek a i., 1978), v ktorom sa využíva vnútorný antigén viriónu (p25) a imunoperoxidázová technika (Nexo, 1977).

BLV sa najlepšie pomnožuje v bunkách pľúc netopiera (bunkové línie BLV-bat₁ a BLV-bat₂; Graves a i., 1975) a v embryonálnych jahňacích bunkách sleziny a obličiek (bukové línie FLS a FLK; van der Maaten a Miller, 1976; Deshayes a i., 1977; Devare a Stephenson, 1977).

Cieľom našej práce bolo otestovať bunkové kultúry používané v našich laboratóriách na vnímavosť k infekcii BLV syncyziálnym a IP testom.

MATERIÁL A METÓDY

VÍRUS BOVINNEJ LEUKÓZY

Ako zdroj vírusu nám slúžilo kultivačné médium z bunkovej línie fetálnej jahňacej sleziny (FLS).

LYMFOCYTY

Lymfocyty boli získané z heparinizovanej krvi troch kráv hematologicky, sérologicky a patologicko-morfologicky pozitívnych na EBL.

SÉRA

Použili sme tieto séra:

- a) konské sérum pre TK (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané);
- b) inaktivované teľacie sérum (Bioveta, n. p., Ivanovice na Hané);
- c) inaktivované teľacie sérum (ÚSOL, n. p., Praha);
- d) sérum séropozitívnej kravy (č. 64958);
- e) referenčné pozitívne sérum proti BLV Agebion (Bioveta, n. p., Nitra);
- f) referenčné pozitívne sérum proti BLV (Behringwerke, NSR).

BUNKOVÉ KULTÚRY

V rámci testovania bunkových kultúr sme používali tieto bunky: BHK-21, ZP-1/58, VERO, GMK, PK-K, HeLa (stabilizované bunkové línie; Leško a i., 1975), FBTR (stabilizovaná bunková línia derivovaná z fetálnej bovinnej trachey), FTOB a FTL (fetálne teľacie obličkové bunky) a RK-13 (stabilizovaná bunková línia králičích obličiek).

KULTIVÁCIA A PASÁŽOVANIE BUNKOVÝCH KULTÚR

Pri kultivácii a pasážovaní bunkových kultúr sme postupovali bežnou metódou (Leško a i., 1975). Všetky bunkové kultúry sme kultivovali v MEM-Eaglom média doplnenom 10 % konského séra pre TK (Konopková, 1983; Danihel a i., 1984) a antibiotikami. Ako udržiavacie médium sme používali MEM-GAPY alebo MEM-Eagle s obsahom séra redukovaným na 1 až 2 %. Ako kultivačné médium pre lymfocyty bolo použité RPMI-1640, doplnené 5 % fetálneho teľacieho séra, 5 % inaktivovaného teľacieho séra a glutamínom. Do média sme pridávali konkalavín A v množstve $1.5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ na stimuláciu lymfocytov (Weiland a i., 1974).

SYNCYZIÁLNY TEST

Bunky sme inokulovali na 60mm sklenené Petriho misky v množstve 1–1,5 · 10⁶. Kultivácia prebiehala pri teplote 37 °C v 5% atmosfére CO₂. Infikovanie jednotlivých bunkových kultúr bezbunkovým preparátom BLV ako aj lymfocytmi sme robili podľa Diglia a Ferrera (1976), farbili metódou May-Grünwald-Giemsu-Romanowskeho a vyhodnocovali svetelným mikroskopom na základe posúdenia celkového charakteru rastu infikovaných a kontrolných buniek, ako aj vyhľadávania syncýcií. Za syncýciá sme považovali bunky s piatimi a viac jadrami (Diglio a Ferrer, 1976). Veľkosť mikroskopických objektov sme merali bežnou metódou (Jurčina a i., 1982).

IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST

Ako indikátorové bunky sme použili bunkové línie BHK-21 a ZP-1/58. Bunky sme naložili na 100mm sklenené Petriho misky s krycímí sklíčkami v množstve $2,5 \cdot 10^6$. Po 24 hodinách sme tieto bunkové línie infikovali bezbunkovým preparátom BLV ako v prípade syncyriálneho testu. Po siedmich dňoch kultivácie sme bunky fixovali acetónom a usušili. IP test sme robili podľa modifikovanej metódy Ressainga a i. (1976) a Nexa (1977). Najskôr sme na krycie sklíčka naniesli pozitívne sérum proti BLV (Bioveta, n. p., Nitra alebo Behringwerke, NSR) alebo sérum č. 64958, ktoré sme pred použitím riedili 0,1 mol Tris-HCl nárazníkovým roztokom (pH 7,6). Tento roztok sme používali pri všetkých ďalších riedeniach, ako aj pri premývaní preparátov. Po 45 minútach sme na preparáty naniesli chrenovou peroxidázou značené protilátky proti hovädziemu imunoglobulínu, ktoré nám poskytl dr. E. Bircková z Phylaxia Budapešť. Preparát sme pred použitím riedili v pomere 1 : 10. Antiglobulín sme nechali pôsobiť tri hodiny pri laboratórnej teplote a potom sme preparáty opäť premyli. Ako „vyvolávacie“ činidlo sme použili Grahamové a Karnovského médium, ktoré sme nechali pôsobiť 15 minút. Po premytí a vysušení krycích sklíčok sme ich montovali na podložné sklíčka do pufrovaného glycerínu riedeného v pomere 1 : 2. Ako kontroly sme použili infikované bunky, na ktoré sme naniesli buď MEM-Eaglovo médium alebo konské sérum pre TK a neinfikované bunky preinkubované so serami pozitívnymi na BLV protilátky.

METÓDA NEPRIAMEJ IMUNOFLUORESCENCIE

Bunky sme kultivovali na krycích sklíčkach v sklenených Petriho miskách (Declève a i., 1974). Veľkosť inokula a spôsob kultivácie a infikovania boli rovnaké ako v prípade IP testu. Králičí globulín proti hovädziemu gamaglobulínu značený FITC sme obdržali z Biovety, n. p., Ivanovice na Hané.

VÝSLEDKY

SYNCYRIÁLNY TEST

Na základe tvorby syncýrií indukovanej bezbunkovým preparátom BLV sa ako vnímavé ukázali bunkové línie BHK-21 a ZP-1/58. Najčastejšie sa vyskytovali syncýriá s piatimi až šiestimi jadrami (obr. 1) a ojedinele syncýriá s ôsmimi až dvanástimi jadrami. V prípade bunkovej línie BHK-21 sme pozorovali výskyt väčších syncýrií častejšie, niekedy s 15 až 17 jadrami (obr. 2). Jednotlivé bunkové jadrá v syncýriách mali

1. Syncýrium v bunkovej línii ZP-1/58 po infekcii bezbunkovým preparátom BLV (farbenie podľa May-Grünwald-Giemsa-Romanowskeho; zväčš.: obj. 40X proj. 12,5) — Syncytium in the ZP-1 58 cell line after infection with cell-free BLV preparation (stained after May-Grünwald-Giemsa-Romanowsky; magnif.: obj. 40X, proj. 12,5X)



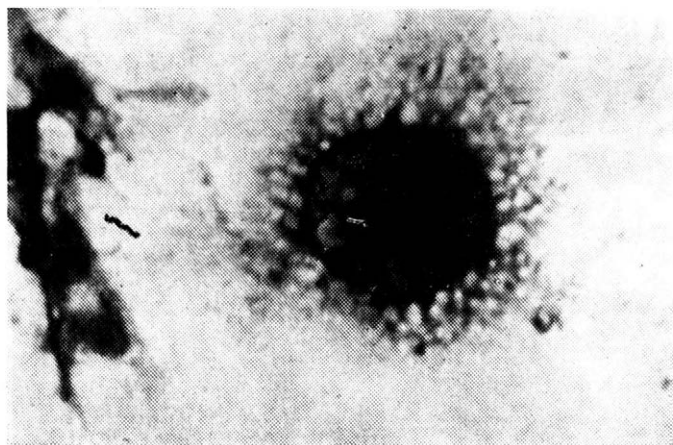


2. Veľké syncýciá v bunkovej línii BHK-21 po infekcii bezbunkovým preparátom BLV (farbenie podľa May-Grünwalda-Giemsu-Romanowskeho; zväčš.: obj. 40X proj. 12,5) — Large syncytia in the BHK-21 cell line after infection with cell-free BLV preparation (stained after May-Grünwald-Giemsa-Romanowsky; magnif.: obj. 40X, proj. 12.5X)

priemer okolo $9,5\ \mu\text{m}$ pri bunkovej línii BHK-21 a $14,25\ \mu\text{m}$ pri ZP-1/58 bunkách. Tvar syncýcií bol veľmi rozmanitý — od strapcovitých nepravidelných útvarov cez guľovité alebo oválne usporiadanie jadier. V niektorých prípadoch sa nedal počet jadier v syncýciu presne stanoviť, pretože sa navzájom prekrývali, a to hlavne u väčších syncýcií. Veľkosť syncýcií sa pohybovala okolo $50\ \mu\text{m}$ a u najväčších až $100\ \mu\text{m}$. Okrem syncýciálnych útvarov sme pozorovali oproti kontrolným neinfikovaným bunkám výskyt obrovských voľných jadier (obr. 3) dosahujúcich veľkosť syncýciálnej bunky.

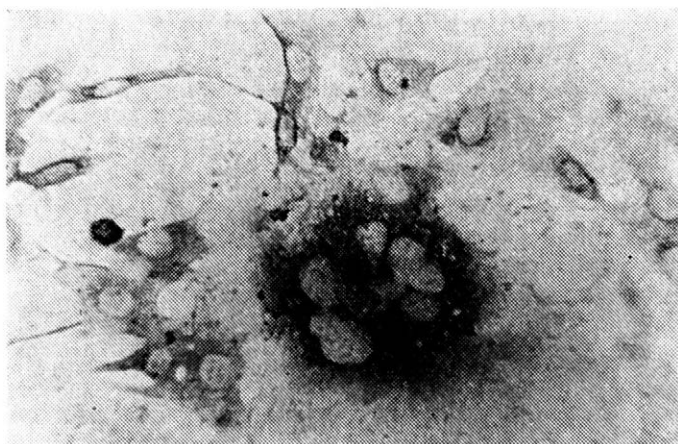
IMUNOPEROXIDÁZOVÝ TEST

U infikovaných buniek BHK-21, ktoré boli preinkubované s referenčnými sérami pozitívnymi na BLV protilátky a so sérom č. 64958, sme v preparátoch pozorovali výskyt tmavohnedo sa farbiacich buniek, ktoré sa zreteľne odlišovali od svetlohnedého ofarbenia ostatnej bunkovej jednovrstvy. Išlo o vizualizáciu komplexu antigény BLV — sérové protilátky — chrenovou peroxidázou značené protilátky proti hovädzie mu imunoglobulínu. Tieto komplexy sa viazali hlavne na syncýciálne a obrovské bunky. Lokalizovali sa v základnej cytoplazme. Hnedé za-



3. Obrovské voľné jadro v bunkovej línii ZP-1/58 po infekcii bezbunkovým preparátom BLV (farbenie podľa May-Grünwalda-Giemsu-Romanowskeho; zväčš.: obj. 40X proj. 12,5) — A large free nucleus in the ZP-1/58 cell line after infection with cell-free BLV preparation (stained after May-Grünwald-Giemsa-Romanowsky; magnif.: obj. 40X, proj. 12.5X)

4. Imunoperoxidázový test; bunková línia BHK-21 infikovaná bezbunkovým preparátom BLV; imunoperoxidázové značenie viažuce sa na syncýcium (farbenie podľa Grahama a Karnovského, zväčš.: obj. 20X proj. 12,5) — Immunoperoxidase test; BHK-21 cell line infected with cell-free BLV preparation; immunoperoxidase marking bound to syncytium (stained after Graham and Karnovsky; magnif.: obj. 20X, proj. 12.5X)



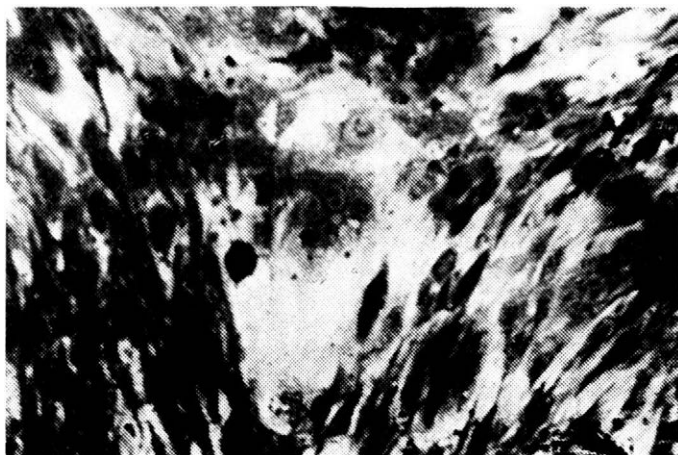
farbenie bolo najintenzívnejšie v perinukleárnej zóne. Bunkové jadrá ani cytoplazmatické vakuoly sa nezafarbili (obr. 4). V kontrolných neinfikovaných bunkách BHK-21 sme hnedé zafarbenie po ich preinkubácii so sérami pozitívnymi na BLV protilátky a so sérom č. 64958 nepozorovali. Negatívny výsledok sme zaznamenali aj u druhej kontroly — infikovaných buniek BHK-21 preinkubovaných MEM-Eaglovým médiom alebo konským sérom pre TK.

Keď sme ako indikátorové bunky vyhodnocovali bunkovú líniu ZP-1/58, nezaznamenali sme tmavohnedé zafarbenie napriek tomu, že tie isté bunky boli predtým v syncyciálnom teste pozitívne.

METÓDA NEPRIAMEJ IMUNOFLUORESCENCIE

Prítomnosť vírusu v bunkových líniiach BHK-21 a ZP-1/58 po inokulácii s bezbunkovým preparátom BLV sme potvrdili aj testom nepriamej imunofluorescencie.

5. Syncýcium v bunkovej línii BHK-21 po jej infikovaní lymfocytmi leukózných kráv (farbenie podľa May-Grünwalda-Giemsa-Románovského; zväčš.: obj. 10X proj. 12,5) — Syncytium in the BHK-21 cell line after infection with the lymphocytes of leucotic cows (stained after May-Grünwald-Giemsa-Romanowsky; magnif.: obj. 10X, proj. 12.5X)



V poslednej časti pokusov sme bunkovú líniu BHK-21, ktorá sa ukázala ako vhodný indikátorový systém pre detekciu BLV infekcie v syncy-ciálnom, imunofluorescenčnom a IP teste s bezbunkovým preparátom BLV, použili na dôkaz BLV v lymfocytoch leukózných kráv.

V infikovaných bunkách sme oproti kontrolným neinfikovaným pozorovali výskyt syncýcií i obrovských jadier, resp. dosiahli sme rovnaký efekt ako v prípade infikovania tejto bunkovej línie bezbunkovým preparátom BLV (obr. 5).

DISKUSIA

Z našich pokusov vyplynulo, že ako vnímavé k tvorbe syncýcií bezbunkovým preparátom BLV sa javia bunkové línie BHK-21 a ZP-1/58. V jednom prípade, keď sme bunky BHK-21 získali z iného zdroja, sme pozorovali výskyt syncy-ciálnych útvarov aj v kontrolných neinfikovaných bunkách. To poukazuje na možnosť kontaminácie bunkových línií agensmi, spôsobujúcimi syncýciá podobné syncýciám indukovaným BLV. Medzi takéto vírusy patrí napr. aj bovinný syncy-ciálny respiračný vírus, ktorý je v populácii hovädzieho dobytku značne rozšírený.

V IP teste sme pozitívny výsledok zaznamenali iba u bunkovej línie BHK-21. Túto skutočnosť si vysvetľujeme tak, že bunková línia stratila vnímavosť k tvorbe syncýcií indukovanej BLV, čo pravdepodobne ovplyvnil veľký počet pasáží, ktorými doteraz prešla. Z literatúry je známych viac prípadov, ktoré opisujú pokles vnímavosti bunkových línií k induk-cii syncýcií vo vzťahu k stúpajúcemu počtu pasáží (Ferrer a Cabradilla, 1978; Honma a i., 1980; Ferrer a i., 1981).

Pri porovnávaní veľkosti syncýcií s veľkosťou obrovských jadier sme namerali približne rovnaké hodnoty. Z toho sa dá usudzovať, že genéza vzniku syncýcií má viac etáp. V prvej fáze pravdepodobne vynikajú mnohojadrové útvary. V druhej fáze dochádza k fúzii samotných jadier za vzniku obrovského bunkového útvaru. Predpokladáme, že v našom prípade došlo ku vzniku obrovských jadier u syncýcií, kde počet jadier bol vysoký, jadrá vytvárali strapcovité útvary a často sa vzájomne prekrývali. Za takýchto okolností mohlo dochádzať k veľmi úzkemu kontaktu medzi jadrovými membránami jednotlivých jadier a k ich fúzii. Podobné obrovské útvary pozorovali aj Pilwat a i. (1981), ktorí fúziu buniek vyvolávali dielektroforézou.

Nakoľko indikátorové BHK-21 bunky prejavujú rovnakú citlivosť aj pri použití infikovaných lymfocytov, otvára sa tak jedna z ciest spoľahlivej virologickej diagnostiky infekcie BLV v našich podmienkach cestou infikovania vnímavej bunkovej línie lymfocytmi vyšetrovaného hovädzieho dobytku.

Literatúra

DANIHEL, M. — LEŠNÍK, F. — KUMIČÁKOVÁ, E. — BOBÁKOVÁ, M. — VRTIAK, O. J.: Nová metóda prípravy antigénov vírusu bovinnej leukózy s možnosťou testovania výťažnosti vírusu. I. veterinárske onkologické dni, Košice 1984.
DECLEVE, A. — NIWA, O. — HILGERS, J. — KAPLAN, H. S.: An improved murine leukemia virus immunofluorescence assay. *Virology*, 57, 1974, s. 491-502.

- DESHAYES, L. — LEVY, D. — PARODI, A. L. — LEVY, J. P.: Proteins of bovine leukemia virus. I. Characterization and reactions with natural antibodies. *J. Virol.*, 21, 1977, s. 1056-1060.
- DEVARE, S. G. — STEPHENSON, J. R.: Biochemical and immunological characterization of the major envelope glycoprotein of bovine leukemia virus. *J. Virol.*, 23, 1977, s. 443-447.
- DIGLIO, C. — FERRER, J. F.: Induction of syncytia by the bovine C-type leukemia virus. *Canc. Res.*, 36, 1976, s. 1056-1067.
- DIGLIO, C. — PIPER, C. E. — FERRER, J. F.: An improved syncytia infectivity assay for the bovine leukemia virus. *In Vitro*, 14, 1978, s. 502-505.
- FERRER, J. F. — DIGLIO, C. A.: Development of *in vitro* infectivity assay for the C-type bovine leukemia virus. *Canc. Res.*, 36, 1976, s. 1068-1073.
- FERRER, J. F. — CABRADILLA, C. D.: The phenomenon of polycaryocytosis induced by BLV in mixed cultures: Specificity, mechanisms and applications to the diagnosis of BLV infection in cattle. *Ann. Vétér.*, 9, 1978, s. 721-728.
- FERRER, J. F. — CABRADILLA, C. — GUPTA, P.: Use of a feline cell line in the syncytia infectivity assay for the detection of bovine leukemia virus infection in cattle. *Amer. J. veter. Res.*, 42, 1981, s. 9-14.
- GRAVES, D. C. — PIPER, C. E. — FERRER, J. F.: Preliminary biochemical and biophysical characterization of the bovine C-type virus (BLV). In: A. Meet. Amer. Soc. Microbiol., 1975, s. 261.
- HONMA, T. — ONUMA, M. — MIKAMI, T. — IZAWA, H.: Evaluation of syncytium assay for bovine leukemia virus. *Jap. J. veter. Sci.*, 42, 1980, s. 1-4.
- JERABEK, L. — GUPTA, P. — FERRER, J. F.: An infectivity assay for the bovine leukemia virus based on the induction of the major internal antigen in susceptible cell cultures. *Ann. Rech. vétér.*, 9, 1978, s. 729-734.
- JURČINA, A. a kol.: Praktikum zo všeobecnej biológie. Bratislava, Príroda 1982.
- KONOPKOVÁ, M.: Dôkaz boviného leukotického vírusu v bunkových kultúrach. [Kandidátska dizertačná práca.] Košice 1983. — Vysoká škola veterinárska.
- LEŠKO, J. — VEBER, P. — HAHA, L.: Práce s tkaninovými kultúrami. Laboratórna príručka. Bratislava, Veda 1975.
- MAATEN, M. J. VAN DER — MILLER, J. M.: Replication of bovine leukemia virus in monolayer cell cultures. *Bibliogr. Haemat.*, 43, 1976, s. 360-362.
- MELNICK, J. L.: Taxonomy and nomenclature of viruses. *Progr. med. Virol.*, 28, 1982, s. 208-221.
- NEXO, B. A.: A plaque assay for murine leukemia virus using enzyme-coupled antibodies. *Virology*, 77, 1977, s. 849-852.
- PILWAT, G. — RICHTER, H. P. — ZIMMERMANN, U.: Giant culture cells by electric field-induced fusion. *FEBS Letters*, 133, 1981, s. 169-174.
- RESSANG, A. A. — ELLENS, D. J. — MASTENBROEK, N. — QUAK, J. — MILLER, J. M.: Studies on bovine leukemia. II. Haematological, serological, virological and electron microscopical diagnosis. *Zbl. Veter.-Med.*, R. B, 23, 1976, s. 566-579.
- WEILAND, F. — UEBERSCHAR, S. — STRAUB, O. C.: C-type particles in cultured lymphocytes from highly leukemic cattle. *Interviol.*, 4, 1974, s. 140-149.

Došlo dňa 11. 7. 1984

БОБАКОВА, М. — ЛЕШНИК, Ф. — ВРТИАК, О. Я. (Государственный ветеринарный институт, Кошице; Ветеринарный институт, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице): Проверка восприимчивости тканевых культур к инфекции вирусом бычьего лейкоза. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985 (5): 267-274.

Нами изучалась восприимчивость разных тканевых культур к инфекции бычьим лейкозом. При этом мы пользовались синцитиальным методом. В качестве источника вируса бралась тканевая линия FLS/BLV⁺. Восприимчивыми к образованию синцитиев оказались линии ВНК-21 и ZP-1/58. Кроме синцитиальных образований в них еще мы наблюдали появление крупных клеток с одним—тремя крупными ядрами и свободных ядер, достигающих размера синцитиев. Вирусная специфичность синцитиев, появляющихся в этих двух клеточных линиях, была нами подтверждена иммунофлуоресцентным тестом. При иммунопероксидазном методе положительный результат был получен только при клеточной (тканевой) линии ВНК-21. Появление синцитиев и крупных ядер имело место и в том случае, когда мы заражали ВНК-21 клетки лимфоцитами лейкозных коров.

энзоотический бычий лейкоз; инфекция вирусом бычьего лейкоза; клетки ВНК-21; клетки ZP-1/58; синцитиальный тест; иммунопероксидазный тест

BOBÁKOVÁ, M. — LEŠNÍK, F. — VRTIAK, O. J. (State Veterinary Institute, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Testing Cell Culture Susceptibility to Infection with Bovine Leucosis Virus*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 267-274.

Different cell cultures were studied for their susceptibility to bovine leucosis virus infection. Syncytial assay was used for this study. The FLS/BLV⁺ cell line served as virus source. Cell lines BHK-21 and ZP-1/58 were found to be susceptible to syncytium formation. Large cells with one to three large nuclei, and loose nuclei reaching the size of syncytium were observed to occur in the BHK-21 and ZP-1/58 cell lines, apart from the syncytial formations. The virus specificity of the syncytia arising in these two cell lines was confirmed by the immunofluorescence assay. In the case of the immunoperoxidase assay, a positive result was obtained only in the BHK-21 cell line. The occurrence of syncytia and large nuclei was observed even in the cases when the BHK-21 cells were infected with the lymphocytes of leucotic cows.

enzootic bovine leucosis; bovine leucosis virus infection; BHK-21 cells; ZP-1/58 cells; syncytial assay; immunoperoxidase assay

BOBÁKOVÁ, M. — LEŠNÍK, F. — VRTIAK, O. J. (Staatliches Veterinärinstitut, Košice; Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Institut für experimentale Veterinärmedizin, Košice): *Testen der Empfindlichkeit der Zellenkulturen gegen Infektion durch den Virus der Rinderleukose*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 267-274.

Wir untersuchten die Empfindlichkeit verschiedener Zellenkulturen gegen Infektion durch den Rinderleukosevirus. Dazu benutzten wir den Synzytialtest. Als Virusquelle diente die Zellenlinie FLS/BLV. Als empfindlich gegen die Bildung von Synzytien zeigten sich die Zellenlinien BHK-21 und ZP-1/58. Neben den Synzytialgebilden untersuchten wir in ihnen das Auftreten von riesigen Zellen mit einem oder mit mehreren Kernen als auch das Auftreten von freien Kernen, die die Größe des Synzytiums erzielten. Die Virusspezifität der in diesen zwei Zellenlinien entstehenden Synzytien konnte anhand des Immunofluoreszenztests nachgewiesen werden. Im Falle des Immunoperoxidasetests erzielten wir ein positives Ergebnis nur mit der Zellenlinie BHK-21. Auch im Falle der Infizierung der BHK-21-Zellen mit Lymphozyten der an Leukose leidenden Kühe konnten wir das Auftreten von Synzytien mit Riesen-Kernen beobachten.

enzootische Rinderleukose; Infektion mit dem Rinderleukosevirus (BLV); BHK-21-Zellen; ZP-1/58-Zellen; Synzytialtest; Immunoperoxidasetest

Adresy autorov:

MVDr. Milena Bobáková, Štátny veterinárny ústav, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

Doc. MVDr. František Lešník, CSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Akademik Otto Jaroslav Vrtiak, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 3, 040 01 Košice

SEZÓNÍ ZMĚNY KONCENTRACE CELKOVÉ BÍLKOVINY KREVÍ PLAZMY KRAV V RŮZNÝCH FÁZÍCH MEZIDOBÍ

M. Lebeda, A. Buš

LEBEDA, M. — BUŠ, A. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Sezónní změny koncentrace celkové bílkoviny krevní plazmy krav v různých fázích mezidobí*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 275-288.

Ve čtyřech jednorokních etapách (A, B, C, D) byla v letních (L) a v zimních (Z) krmných obdobích zjišťována celková bílkovina (CB) krevní plazmy 3207 krav tří skupin: I — v první fázi laktace, II — ve druhé fázi laktace a III — v 8. až 9.5. měsíci březosti. Při Z krmných dávkách bylo vyšetřeno 1948 zvířat a při L krmných dávkách 1259 zvířat. Současně bylo vypočteno krytí potřeby stravitelných dusíkatých látek (SNL) a energie (SJ) v krmných dávkách jednotlivých skupin krav. Vysokobřeží krávy (III) měly za všechny čtyři roky i v jednotlivých krmných obdobích nižší CB než skupiny laktujících krav. Rozdíl byl signifikantní devětkrát z deseti případů vůči skupině I a osmkrát vůči skupině II. Tento jev je zákonitý a nezávislý na L nebo Z typu krmných dávek i na sezónních klimatických vlivech jednotlivých roků. Tendence k poklesu CB s délkou laktace je již méně jednoznačná (signifikantní ve čtyřech z deseti případů), nicméně zřejmá, neboť ani jeden ze tří případů opačného směru nebyl signifikantní. Rozdíly v koncentraci CB mezi krávy různých skupin jsou absolutní a musí mít endogenní původ, neboť je nelze vysvětlit úrovní krytí potřeby živin. V etapách C a D byl zaznamenán vzestup CB v obou krmných obdobích u všech skupin krav. Nárůst procenta hyperproteinémie je vysvětlován zvýšenou proteosyntézou při lepším využití dodávaných SNL. Relativní koncentrační hyperproteinémie byla vyloučena. Vliv L a Z typu krmných dávek na koncentraci CB byl za celé čtyřleté sledování nevýznamný, v jednotlivých etapách byly zjištěny signifikantně vyšší hodnoty CB v L období než v Z období třikrát a naopak nižší jedenkrát.

první a druhá fáze laktace; vysoká březost; krmné dávky letní a zimní; stravitelné dusíkaté látky; energie

Normální koncentrace celkové bílkoviny krevní plazmy u krav se při použití biuretové metody uvádí v rozmezí 60 až 80 g.l⁻¹ (DVG, 1977) a 65 až 85 g.l⁻¹ (Jagoš a Bouda, 1981). Nejjednodušší metodou stanovení bílkoviny plazmy je refraktometrie podle Godbergera (Schalm, 1965). Plazma však nesmí být hemolytická a lipemická. Mezi výsledky získanými refraktometricky a biuretovou chemickou cestou je dobrá shoda (Schalm, 1965 — cit. Medway aj., 1969).

Při nedostatku esenciálních aminokyselin dochází k poruchám syntézy bílkovin s negativní dusíkovou bilancí, zvířata hubnou, u mladých rostoucích zvířat se zpomaluje růst, regenerační procesy jsou pomalé a nedokonalé, rány se špatně hojí. V játrech je omezena obnova bílkovin plazmy, což se projeví hypoproteinémií, zvláště pak hypoalbuminémií. Snižuje se tvorba hemoglobinu a vzniká anémie z nedostatku bílkovin. Snížená proteosyntéza v pankreatu a v jiných žlázách trávicího ústrojí způsobuje pokles sekrece trávicích fermentů. Snížená produkce gama-glo-

bulinů v retikuloendoteliálním systému snižuje odolnost k infekci. Rovněž tvorba proteohormonů a peptidických hormonů je omezena a narušena je i syntéza steroidních hormonů, což snižuje přizpůsobivost kůry nadledvin k zvýšené zátěži. U laktujících zvířat klesá produkce mléka (Kolb, 1967).

Názory na následky překrmování bílkovinami se různí. Podle Kolba (1967) nemá toto překrmování při kryté potřebě esenciálních aminokyselin negativní důsledek. Nadbytečné aminokyseliny jsou většinou převedeny v játrech oxidační desaminací na ketokyseliny a oxidovány. Čpavek je zde detoxikován syntézou citrulinu. „Otrava bílkovinou“ způsobená příjmem většího množství bílkoviny, jak byla dříve chápána, nebyla rozsáhlými krmnými pokusy na skotu, prasatech a slepicích potvrzena (Kolb, 1967).

Hewett (1974) zjistil signifikantní vztah hrubé stravitelné bílkoviny k dusíku močoviny v séru a k jednomu nebo více sérovým proteinům. To ukazuje, že bílkovina diety může do určité míry ovlivňovat sérové bílkoviny. Eggum (1974) uvádí, že albumin nebyl příliš citlivým indikátorem adekvátnosti bílkoviny, měření hladin močoviny v krvi však může být jejím dobrým ukazatelem. Podobné výsledky získali Hewett (1974) u močoviny v krvi a Kroupová a Klein (1974), Lebeda a Příkrylová (1978) u močoviny v krvi a v moči. Muir aj. (1972) zjistili u ovcí vysokou korelaci mezi dusíkem diety a dusíkem močoviny v plazmě. Nomaní a Evans (1972) prokázali u býků, že dusík močoviny, albumin a celková bílkovina v séru stoupají s přísnem dusíku v dietě. Russel (1974 — cit. Hewett, 1974) získal podobné výsledky u dojníc. Čolák aj. (1982) prokázali vyšší proteinemii u jalovic při letních krmných dávkách s přebytkem SNL.

Hewett (1974) ve své práci ukázal, že v krmných dávkách krav v provozních podmínkách může značně kolísat množství energie, bílkovin i obsah minerálů podle jednotlivých farem, podle sezóny a podle fáze laktace. Kolísání krmných dávek signifikantně ovlivňuje různé krevní složky. Nebylo však vždy snadné vysvětlit mechanismus tohoto působení, což bylo zčásti způsobeno povahou materiálu a zčásti tím, že biochemické fenomény zahrnuté v Hewettově práci musí být ještě ověřeny. Nicméně jsou získané výsledky relativně shodné, což ukazuje, že zřetelný nedostatek nebo přebytek krmení může podstatně ovlivnit metabolismus dojníc (Hewett, 1974).

Z citované práce dále vyplynulo, že vysoký obsah celkové bílkoviny plazmy i vysoký obsah dusíku močoviny, spojené se sníženou plodností, se vyskytují společně, protože obě tyto krevní složky byly ovlivněny úrovní bílkoviny v dietě. Význam těchto pozorování vyniká ve světle práce, kterou uveřejnili Girou a Brochart (1970). Autoři v ní dospěli k závěru, že francouzská norma pro zkrmování stravitelné hrubé bílkoviny by neměla být překračována o více než 200 až 300 g za den, má-li být udržena normální plodnost. Francouzská norma předepisuje pro dojnici s denní dojivostí 25 kg mléka 1775 g stravitelné hrubé bílkoviny na den, švédská norma 1900 g, naše stará norma 2021 g a nová norma 1896 g (ČSN 46 7070). Hewett (1974) prokázal negativní korelaci mezi příjmem bílkoviny a plodností. Příjem jaderného krmiva *ad libitum* signifikantně prodlužoval mezidobí u krav (Morrow aj., 1972). Při krmení krav červeného dánského plemene 79 g stravitelné hrubé bílkoviny na 1 kg 4% FCM měly krávy delší servis periodu, interval i vyšší inseminační index než krávy krmné 44 až 70 g (Stendal Hansen a Andersen, 1973). Podle těchto autorů však není třeba dělat závěry z účinku množství bílkoviny v krmné dávce na plodnost krav, neboť skupina s vyšším příjmem bílkovin produkovala podstatně více mléka. Lotthammer aj. (1974) zdůraznili nebezpečí nadbytečného krmení bílkovinou důkazem vysokého výskytu poporodních endometritid a anestrů u takto krmných krav. Zjistili také, že tyto symptomy mohou mít vztah k poškození jater, neboť ve stádech, v nichž byly krávy krmny nadbytečně bílkovinou, byly i hladiny GOT v séru vyšší než u krav v jiných stádech. To souhlasí s údaji podle Wettkeho a Jahna (1971), kteří zjistili ve 34 stádech, v nichž byly problémy s plodností, 56% krav s abnormálně vysokou hladinou GOT a bilirubinu, což je příznačné pro jaterní poruchy. Tyto poruchy byly připsány nízkému krytí potřeby energie nebo nadbytku bílkoviny v dietě. Rovněž Franzos (1970) vyvodil ze svých prací závěr, že překrmování stád v druhé polovině březosti bylo spojeno s vyšším výskytem metritid a zpomalené involuce dělohy. Nadbytek bílkoviny však neuvádí jako specifickou příčinu.

Při výživě odpovídající potřebě má stadium laktace menší vliv na celkovou bílkovinu krve (i na hemoglobin a hematokrit) než při neadekvátní výživě. Stadium laktace signifikantně ovlivňuje celkovou bílkovinu plazmy (také hemoglobin,

hematokrit, sodík a dusík močoviny). Celková bílkovina stoupá v prvních dvou měsících, pak klesá až do osmého měsíce po porodu. Celková bílkovina plazmy signifikantně stoupá s počtem laktací, není však ovlivněna množstvím produkovaného mléka. To podle Hewetta (1974) svědčí o tom, že její vzestup v počátečních fázích laktace je způsoben exogenními činiteli, např. zvýšenými dávkami bílkovinných koncentrátů. Podobné nálezy uvádějí i Wiesner (1957), Rako aj. (1963 — cit. Čollák aj., 1982), Gancarz aj. (1969), Naopak Florescu aj. (1965), Legošin a Obuchovová (1970) zjistili přímou závislost proteinémie a úrovně laktace ($R_{x,y} = 0,41$). Bondarenko aj. (1976 — cit. Čollák aj., 1982) uvádějí ve všech věkových kategoriích signifikantní závislost mezi proteinémií a nádojem v první laktaci. Stejně výsledky získal i Kolesnik (1970). Také Čollák aj. (1982) uvádějí vyšší frekvence maximálních hodnot proteinémie ve skupině dojnic s relativně nejvyšším nádojem. Mezi letními a zimními hodnotami nebyly významné rozdíly. Tito autoři také zjistili, že pro prognózu budoucí užitkovosti jsou nejvhodnější ukazatele bílkovinného metabolismu jalovic.

V této práci jsme sledovali celkovou bílkovinu krevní plazmy jako možného ukazatele jejich výživy a zdravotního stavu s cílem zjistit vliv fází laktace a reprodukčního cyklu na úroveň proteinémie.

MATERIÁL A METODY

Po dobu čtyř sezón se zelenými krmivy a čtyř sezón se zimními krmnými dávkami jsme zjišťovali koncentraci celkové bílkoviny krevní plazmy u 3207 krav (1948 zvířat bylo vyšetřeno v zimním období a 1259 v letním období). Krev byla odebrána z v. *jugularis* vždy mezi 9.00 až 11.00 hodinou na heparin. Celková bílkovina byla stanovena refraktometricky (Hořejší aj., 1957) za použití nesslerizace s pracovní chybou 3,2 % zjišťovaných hodnot.

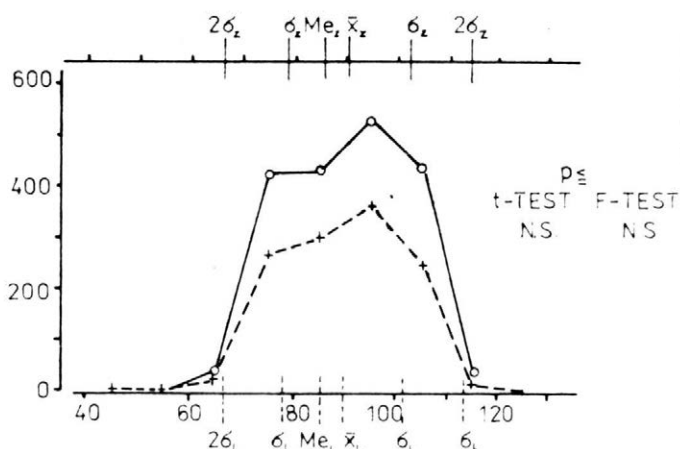
Vyšetřená zvířata pocházela převážně z Jihomoravského kraje. V jednotlivých zemědělských závodech byly zpravidla vyšetřovány osmnáctičlenné soubory zvířat bez klinických projevů nemoci. Soubory byly obvykle rozděleny na tři skupiny po šesti kusech: I — krávy v první fázi laktace, dva týdny až dva (maximálně tři) měsíce po porodu, II — krávy ve druhé fázi laktace, dva až šest měsíců po porodu, III — krávy osm až devět a půl měsíce březí, zpravidla stojící nasucho.

Výsledky byly hodnoceny statisticky *t*-testem a *F*-testem z hlediska rozdílů mezi hodnotami při zeleném a při zimním krmení, dále z hlediska rozdílů mezi jednotlivými ročními etapami u téhož typu krmných dávek a mezi oběma typy krmných dávek a konečně mezi jednotlivými skupinami krav v tomtéž období.

Byla zjištěna krmná dávka krav, používaná v době odběru vzorků krve. Bylo vypočteno krytí potřeby živin s obsahem energie, tj. SNL a ŠJ, podle ČSN 46 7070. U základních krmných dávek bylo připočteno 10 % potřeby na ztráty při krmení. K výpočtu obsahu živin v krmných dávkách byly použity laboratorní rozbor krmiv, u laboratorně nevyšetřených krmiv byla brána v úvahu průměrná hodnota živin, známá z rozborů v příslušné oblasti (hlavně u zelených krmiv a úsůšků), nebo tabulkové hodnoty ČSN 46 7007, např. u zrnin, slámy a průmyslových krmiv. U některých krmiv jsme k výpočtu použili pokynů z pozdějších publikací (Kacarovský aj., 1975; Nehring aj., 1972). Rozdíly v dotaci stravitelných dusíkatých látek a energie byly statisticky hodnoceny *t*-testem a *F*-testem.

VÝSLEDKY

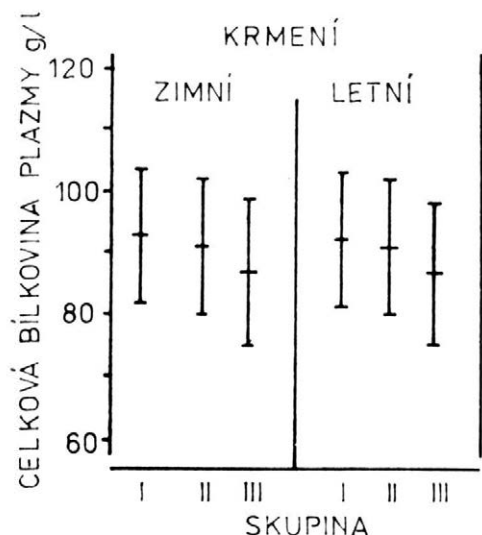
Distribuční křivky letních a zimních hodnot celkové bílkoviny krevní plazmy jsou téměř shodné (obr. 1), hodnoty celých populací se signifikantně neliší. Pro úroveň celkové bílkoviny jednotlivých skupin krav je charakteristický její signifikantní pokles s délkou laktace a gravidity (obr. 2). Ani u těchto skupin krav nejsou významné rozdíly mezi letními a zimními hodnotami za celé období čtyř let. To svědčí o tom, že v dlouhodobém průměru je koncentrace celkové bílkoviny více závislá na fázi



1. Distribuční křivky letních a zimních hodnot celkové bílkoviny krevní plazmy (g/l) — Distribution curves for the summer and winter values of total blood plasma protein (g/l)

reprodukčního cyklu a laktace než na typu krmné dávky. Rovněž pro jednotlivá krmná období zimní a letní jsou typické nejnižší hodnoty celkové bílkoviny u krav vysokobřezích (skupina III). Při 100% výskytu tohoto jevu je rozdíl signifikantní vůči skupině I v sedmi z osmi případů (tab. I) a vůči skupině II v šesti případech z osmi. U laktujících skupin již není pokles koncentrace celkové bílkoviny s délkou laktace (a tím ani s poklesem dojivosti) tak výrazný a pravidelný. Skupina I má koncentrace vyšší než skupina II u pěti případů z osmi (z toho třikrát signifikantně), u tří případů je má nevýznamně nižší.

Zatímco v průměru čtyř let se rozdíly mezi letními a zimními hodnotami celkové bílkoviny vyrovnávaly, zjistili jsme značné, signifikantní rozdíly proteinémie mezi krmnými obdobími jednotlivých etap jak u celých populací, tak i u jednotlivých skupin (obr. 3—6). Při zimních krmných dávkách byly rozdíly koncentrace celkové bílkoviny signifi-



Signifikance rozdílů $P \leq$

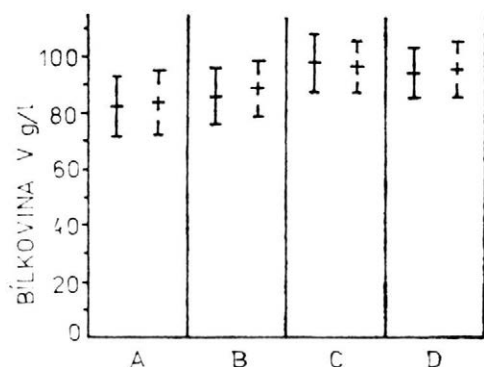
	t-test		F-test	
	L	Z	L	Z
I/II	N. S.	0,02	N. S.	N. S.
I/III	0,001	0,001	N. S.	0,05
II/III	0,001	0,001	N. S.	N. S.
I _L /I _Z	N. S.			N. S.
II _L /II _Z	N. S.			N. S.
III _L /III _Z	N. S.			N. S.

2. Celková bílkovina krevní plazmy jednotlivých skupin krav — Total blood plasma protein in the different groups of cows

I. Tabulka signifikance rozdílů hodnot celkové bílkoviny v krevní plazmě skupin dojníc (I, II, III) v jednotlivých letních (L) a zimních (Z) krmných obdobích v průběhu čtyř etap (etapa A, B, C, D) — The significance of differences in the values of total protein in the blood plasma of the cows of groups I, II, III in the summer (L) and winter (Z) feeding seasons over a four-year period (stages A, B, C, D)

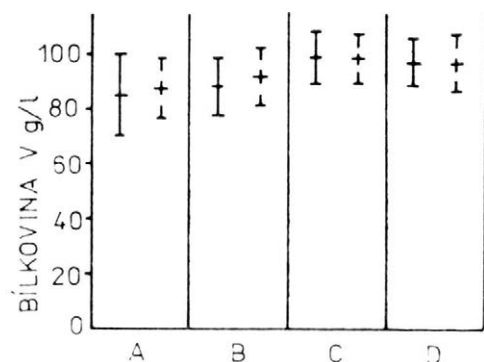
Etapa	Krmné období	Celková bílkovina krevní plazmy (v g.l ⁻¹)			Signifikance rozdílů $P \leq$					
		I	II	III	I/II		I/III		II/III	
					t-test	F-test	t-test	F-test	t-test	F-test
A	Z	82,94 ± 15,23	82,08 ± 10,85	79,11 ± 9,86	0,05	0,01	0,001	0,01	0,01	N. S.
	L	87,44 ± 10,75	84,59 ± 11,95	80,78 ± 10,72	0,05	N. S.	0,001	N. S.	0,01	N. S.
B	Z	88,51 ± 10,42	85,57 ± 12,97	83,54 ± 10,24	0,05	0,01	0,001	N. S.	N. S.	0,01
	L	91,87 ± 10,36	90,93 ± 9,90	86,47 ± 10,08	N. S.	N. S.	0,001	N. S.	0,001	N. S.
C	Z	98,82 ± 10,03	100,93 ± 9,24	94,93 ± 11,44	N. S.	N. S.	0,01	0,05	0,001	0,01
	L	98,25 ± 8,71	98,45 ± 7,99	93,47 ± 9,82	N. S.	N. S.	0,001	N. S.	0,001	0,05
D	Z	96,95 ± 8,48	95,22 ± 8,93	91,24 ± 9,41	N. S.	N. S.	0,001	N. S.	0,001	0,05
	L	96,55 ± 9,88	97,30 ± 7,83	94,00 ± 10,53	N. S.	0,05	N. S.	N. S.	N. S.	0,05

N. S. = není signifikantní



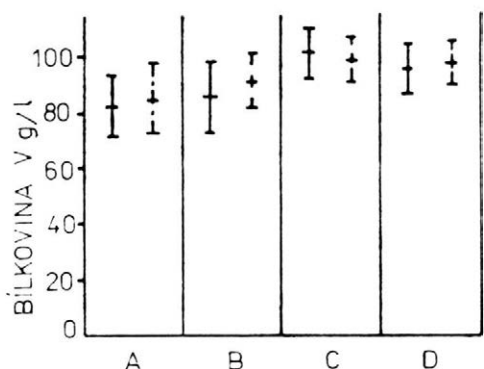
	Signifikance rozdílů $P \leq$			
	<i>t</i> -test		<i>F</i> -test	
	L	Z	L	Z
A/B	0,001	0,001	0,05	N. S.
B/C	0,001	0,001	0,05	N. S.
C/D	N. S.	0,001	N. S.	0,05
A/C	0,001	0,001	0,01	N. S.
A/D	0,001	0,001	0,01	0,01
B/D	0,001	0,001	N. S.	0,01
A_z/A_L	N. S.		N. S.	
B_z/B_L	0,001		N. S.	
C_z/C_L	N. S.		0,01	
D_z/D_L	0,05		N. S.	

3. Celková bílkovina krevní plazmy populací krav v jednotlivých letech – Total blood plasma protein in cow populations in different years



	Signifikance rozdílů $P \leq$			
	<i>t</i> -test		<i>F</i> -test	
	L	Z	L	Z
A/B	0,001	0,05	N. S.	0,01
B/C	0,001	0,001	0,05	N. S.
C/D	N. S.	0,001	N. S.	0,05
A/C	0,001	0,001	0,05	0,01
A/D	0,001	0,001	N. S.	0,01
B/D	0,01	0,001	N. S.	0,01
A_z/A_L	N. S.		0,01	
B_z/B_L	0,01		N. S.	
C_z/C_L	N. S.		N. S.	
D_z/D_L	N. S.		N. S.	

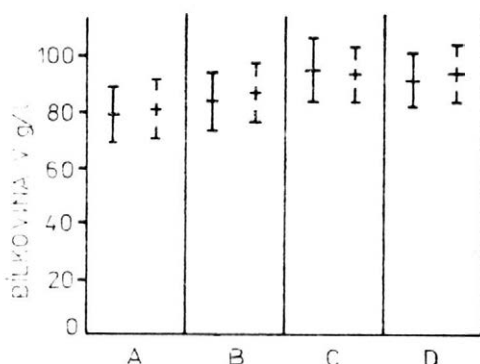
4. Celková bílkovina krevní plazmy krav skupiny I v jednotlivých letech – Total blood plasma protein in the cows of group I in different years



	Signifikance rozdílů $P \leq$			
	<i>t</i> -test		<i>F</i> -test	
	L	Z	L	Z
A/B	0,001	0,01	0,05	0,05
B/C	0,001	0,001	0,05	0,01
C/D	N. S.	0,001	N. S.	N. S.
A/C	0,001	0,001	0,01	0,05
A/D	0,001	0,001	0,01	0,01
B/D	0,001	0,001	0,05	0,01
A_z/A_L	N. S.		N. S.	
B_z/B_L	0,001		0,01	
C_z/C_L	0,05		N. S.	
D_z/D_L	N. S.		N. S.	

5. Celková bílkovina krevní plazmy krav skupiny II v jednotlivých letech – Total blood plasma protein in the cows of group II in different years

	Signifikance rozdílů P			
	t -test		F -test	
	L	Z	L	Z
A/B	0,001	0,001	N. S.	N. S.
B/C	0,001	0,001	N. S.	N. S.
C/D	N. S.	0,001	N. S.	0,01
A/C	0,001	0,001	N. S.	0,05
A/D	0,001	0,001	N. S.	N. S.
B/D	0,001	0,001	N. S.	N. S.
A_z/A_l	N. S.		N. S.	
B_z/B_l		0,05	N. S.	
C_z/C_l	N. S.		N. S.	
D_z/D_l	N. S.		N. S.	



6. Celková bílkovina krevní plazmy krav skupiny III v jednotlivých letech — Total blood plasma protein in the cows of group III in different years

kantní mezi všemi sousedními etapami, při zeleném krmení tomu bylo ve dvou ze tří možností; vzdálenější etapy byly signifikantně rozdílné bez výjimky. V posledních dvou etapách jsou hodnoty celkové bílkoviny zřetelně vyšší. Z toho lze soudit, že kvalita krmiv a skladba krmných dávek, obě ovlivňované povětrnostními podmínkami, mají vliv na koncentraci celkové bílkoviny krevní plazmy. U všech tří skupin krav byly rozdíly mezi letními a zimními hodnotami jednotlivých etap signifikantní ve čtyřech z 12 případů, dvakrát byly vyšší hodnoty letní, dvakrát naopak hodnoty zimní.

Z tab. II je zřejmá tendence ke zvyšování koncentrace celkové bílkoviny krevní plazmy v posledních dvou etapách (C a D), ve kterých zcela vymizely hodnoty snížené a značně kleslo i procento normálních hodnot, zejména pak u skupiny II. Tabulka také ukazuje, že nižší hodnoty u vysokobřezích krav byly v etapě A (a zčásti i B) způsobeny vyšší frekvencí subnormálních hodnot, v etapě B, C a D pak relativně vyšší frekvencí normálních hodnot než u skupin laktujících.

Konfrontace hodnot celkové bílkoviny krevní plazmy s krytím potřeby živin u populací a u skupin krav v jednotlivých krmných obdobích (tab. III) nedává vysvětlení ani nižších koncentrací celkové bílkoviny krevní plazmy u vysokobřezích krav, ani jejího vzestupu u všech skupin v posledních dvou etapách. Objasnění nelze nalézt ani v poměru živin, ani v přebytku či nedostatku stravitelných dusíkatých látek nebo energie. Např. skupina III má nižší celkovou bílkovinu plazmy jak v zimním období, kdy má celkový nedostatek SNL činící v průměru 3,9 % ČSN (zatímco laktující skupiny mají přebytek SNL), tak v letním období, kdy má celkový přebytek SNL na úrovni 25 % a kdy mají přebytek i laktující skupiny.

DISKUSE

Výsledky práce jednoznačně ukazují relativně nižší koncentraci celkové bílkoviny krevní plazmy u krav osm až devět a půl měsíce březích než u krav laktujících. Tento fakt se projevuje signifikantně jak v několikaletém časovém rozpětí, tak v jednotlivých obdobích krmení

II. Procentuální výskyt normálních, snížených a zvýšených hodnot celkové bílkoviny krevní plazmy v populacích (P) a skupinách dojníc (I, II, III) v jednotlivých zimních (Z) a letních (L) krmných obdobích v průběhu čtyř let (etapa A, B, C, D) — The occurrence (percentage) of normal, decreased and increased total protein values in blood plasma in the populations (P) and groups of cows (I, II, III) in the winter (Z) and summer (L) feeding seasons over a four-year period (stages A, B, C, D)

Etapa	Popu- lace sku- pina	Procento výskytu hodnot celkové bílkoviny (v g.l ⁻¹)											
		snížených				normálních		zvýšených					
		< 60		60 – 70		70 – 90		90 – 100		100 – 110		> 111	
		Z	L	Z	L	Z	L	Z	L	Z	L	Z	L
A	P	0,20	1,13	7,23	6,53	66,06	60,80	18,47	22,97	8,03	8,33	—	0,23
	I	—	—	1,80	3,05	59,88	51,91	25,15	32,82	13,17	12,21	—	—
	II	—	2,03	7,14	2,70	68,45	60,14	16,07	25,68	8,33	8,78	—	0,68
	III	0,61	1,36	12,88	10,20	69,94	68,71	14,11	14,29	2,45	5,44	—	—
B	P	—	—	2,05	—	62,19	52,06	25,06	29,17	10,48	17,19	0,23	0,78
	I	—	—	0,75	—	52,99	41,79	32,09	32,84	13,43	24,63	0,75	0,75
	II	—	—	0,72	—	61,87	49,59	25,18	31,71	12,23	17,07	—	1,63
	III	—	—	4,46	—	68,15	63,30	20,38	25,69	7,01	11,01	—	—
C	P	—	—	—	—	21,33	22,62	25,78	36,51	44,89	37,70	8,00	3,17
	I	—	—	—	—	20,39	16,87	25,00	36,14	46,05	42,17	8,55	4,82
	II	—	—	—	—	11,03	14,29	27,59	39,29	48,97	42,86	12,41	3,57
	III	—	—	—	—	32,03	36,47	24,84	34,12	39,87	28,24	3,27	1,18
D	P	—	—	—	—	30,66	26,82	39,57	35,75	28,16	33,52	1,60	3,91
	I	—	—	—	—	21,05	29,31	37,37	27,59	40,00	37,93	1,58	5,17
	II	—	—	—	—	25,70	16,39	44,13	44,26	27,37	37,71	2,79	1,64
	III	—	—	—	—	43,55	35,00	38,17	35,00	17,74	25,00	0,54	5,00

III. Přehled průměrného krytí potřeby SNL a ŠJ ($\bar{x}$) v procentech ČSN 46 7070 u populací krav a jednotlivých skupin při zimních (Z) a letních (L) krmných dávkách v jednotlivých etapách (A, B, C, D) s vyznačením směrodatné odchylky (s) rozdílů mezi skupinami krav v tomtéž zimním nebo letním období — A survey of the average supply of required digestible crude protein (SNL) and starch units (ŠJ) ($\bar{x}$) (percent in relation to Czechoslovak State Standard ČSN 46 7070) in cow populations and groups on winter (Z) and summer (L) feed rations at the different stages (A, B, C, D), with the indication of the standard deviation (s) of the differences between cow groups in the same winter or summer feeding season

Etap	Období	Živina	Krytí potřeby v ‰ ČSN								Signifikance rozdílů $P \leq$					
			populace		skupina						t-test			F-test		
					I		II		III							
					$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s						
A	Z	SNL ŠJ	+ 3,55 - 0,32	25,15 16,57	+8,75 -7,08	20,81 13,18	+10,00 + 4,00	26,49 17,09	- 6,25 + 3,75	28,50 18,85	N. S. 0,02	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.
	L	SNL ŠJ	+15,78 + 3,82	32,30 22,86	+5,00 -3,82	21,51 13,64	+24,00 +11,40	35,58 26,91	+13,89 - 1,67	37,90 23,98	N. S. 0,01	N. S. N. S.	N. S. N. S.	0,05 0,01	0,05 0,05	N. S. N. S.
B	Z	SNL ŠJ	+ 3,17 - 4,33	21,35 17,16	+2,39 -6,74	16,85 13,02	+ 7,96 - 0,56	23,00 19,08	- 8,00 - 9,00	23,59 19,55	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. 0,05	N. S. N. S.	N. S. N. S.
	L	SNL ŠJ	+17,56 +10,38	32,34 17,90	+1,67 +1,67	23,76 12,83	+31,67 +17,78	33,61 19,94	+28,33 +21,67	35,12 11,55	0,01 0,01	N. S. 0,05	N. S. N. S.	N. S. 0,05	N. S. N. S.	N. S. N. S.
C	Z	SNL ŠJ	+ 0,75 - 4,86	18,78 20,98	-7,40 -5,40	14,51 13,38	+ 3,40 - 0,06	19,30 20,83	- 6,09 - 0,65	18,46 21,71	0,05 N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.	N. S. 0,05	N. S. 0,05	N. S. N. S.
	L	SNL ŠJ	+19,20 +10,00	24,25 20,59	+5,77 +3,46	14,05 16,25	+18,33 +10,33	19,52 18,85	+27,73 +13,64	27,98 25,69	N. S. N. S.	0,02 N. S.	N. S. N. S.	N. S. N. S.	0,05 0,05	N. S. N. S.
D	Z	SNL ŠJ	+ 1,55 + 6,14	20,30 13,37	-5,33 +2,00	11,29 7,49	+ 2,42 + 3,06	19,49 13,02	+ 4,81 + 6,92	23,56 15,97	N. S. N. S.	0,05 N. S.	N. S. N. S.	0,01 0,01	0,01 0,01	0,01 N. S.
	L	SNL ŠJ	+18,30 +14,71	33,89 20,07	-3,00 +5,00	15,49 18,26	+22,00 +16,00	28,30 15,95	+30,03 +20,33	40,48 22,32	0,05 N. S.	0,05 N. S.	N. S. N. S.	0,05 N. S.	0,01 N. S.	N. S. N. S.

N. S. = není signifikantní

zelenými nebo konzervovanými krmiv. Je to jev nezávislý na typu krmné dávky i na rozdílech krmných dávek v jednotlivých letech, které ovlivňovaly krytí potřeby živin a kvalitu krmiv. Tento jev můžeme označit za zákonitý. Naše nálezy jsou v souladu s údaji, které uveřejnil Hewett (1974) o nejvyšších hladinách celkové bílkoviny u krav v prvních dvou měsících po porodu a o jejich dalším poklesu až do osmého měsíce březosti. Otázku vývoje koncentrace celkové bílkoviny v období mezi osmým až devět a půlým měsícem březosti řešíme v další práci.

Naše nálezy potvrzují i údaje, které uvedl Hewett (1974) o poklesu celkové bílkoviny v druhé fázi laktace. V tomto úseku však již není tendence k poklesu jednoznačná ve všech letních nebo zimních krmných obdobích. Podle našeho názoru vysvětlují tyto skutečnosti i rozpory v literárních údajích, podle nichž někteří autoři uvádějí přímou závislost proteinémie na dojivosti (Florescu aj., 1965; Legošín a Obuchovová, 1970; Bondarenko aj., 1976 — cit. Čollák aj., 1982; Kolesník, 1970; Čollák aj., 1982), zatímco jiní připisují stadiu laktace v tomto směru menší vliv a popírají vliv množství nadojeného mléka na proteinémii. Podle těchto autorů jsou změny proteinémie s postupem laktace způsobeny exogenními činiteli, např. zvýšenými dávkami bílkovinných krmiv (Hewett, 1974; Wiesner, 1957; Rako aj., 1963 — cit. Čollák aj., 1982; Gancarz aj., 1969).

Příčiny rozdílů proteinémie zjištěných u jednotlivých skupin krav nelze vysvětlit rozdílným krytím potřeby SNL ani energie (ŠJ) ani poměrem živin. Např. skupina II s přebytkem SNL ve všech krmných obdobích, s nejvyšší dotací SNL ze všech skupin a většinou současně i s poněkud menším přebytkem energie (tj. se zúženým poměrem živin) má přesto ve třech obdobích proteinémii signifikantně nižší než skupina I a ve třech obdobích ji má nevýznamně nižší.

Rozdílnost proteinémie jednotlivých skupin krav má patrně endogenní původ. Nejpravděpodobnější příčinou bude asi změna tvorby plazmatických bílkovin v játrech, neboť skupina III má v šesti případech ze sedmi nejvyšší obsah čpavku v moči — pětikrát signifikantně proti skupině II i proti skupině I (Lebeda, 1984). Zvýšené koncentrace amoniaku v moči mohou být způsobeny nedostatkem bílkoviny nebo poškozením funkce jater (Váradý aj., 1970). První příčina se mohla uplatnit v zimním období, kdy tato skupina krav měla ve třech ze čtyř období nedostatek SNL a současně dvakrát i nedostatek ŠJ. V letních krmných obdobích byla naopak intenzívně překrmována oběma základními živinami při zúženém poměru živin, což mohlo vést k dystrofii jater, popisované za těchto okolností Lotthammerem aj. (1974). Primární příčinou však může být i změna metabolismu hormonálního, popřípadě i vitamínového původu. Těžko lze totiž předpokládat, že by dva protichůdné faktory (hladovění a překrmování) měly kvantitativně stejný efekt na proteinémii, která se v zimním a letním období významně neliší. V etapách C a D, které měly kratší vegetační období, byl zaznamenán signifikantní pokles beta-karoténu v krvi krav (Lebeda a Přikrylová, 1983).

Je pravděpodobné, že více než kvantita živin nabízených v krmných dávkách působila spíše kvalita krmiv, a tím i jejich využití a dietetické

účinky. V etapách C a D totiž současně významně klesla koncentrace močoviny v krvi i v moči krav (Lebeda a Buš, 1984), což svědčí o vyšším využití bílkovinného i nebílkovinného dusíku k produkčním účelům i k obnově tkání. V této době měla většina zvířat hyperproteinémii. Námí vyznačený rozsah normálního rozmezí celkové bílkoviny plazmy ($70-90 \text{ g.l}^{-1}$) je poněkud vyšší než rozsah, který uvádějí např. Schmidl (1978) nebo Jagoš a Bouda (1981). Refraktometrické měření totiž dává hodnoty asi o 5 g.l^{-1} vyšší než fotometrické měření založené na reakci bílkovin a peptidů s měďnatými ionty.

Tendenci k hyperproteinémii, zřejmě jak z tab. II, tak z distribučních křivek v obr. 1, je možné vysvětlovat zvýšenou produkcí bílkoviny (absolutní forma hyperproteinémie) nebo ztrátou tekutiny (relativní forma) — (Schmidl, 1978). Relativní hyperproteinémii můžeme vyloučit jako příčinu hyperproteinémie u laktujících krav, neboť jejich hematokrit byl v letním i v zimním období nižší než u krav vysokobřezích (u skupiny I signifikantně) a hemoglobin se signifikantně nelišil (Lebeda a Buš, dosud nepublikované údaje). Ani u jedné skupiny nebyl hematokrit v etapách C a D vyšší než v etapě B při obou typech krmných dávek. Naopak v etapě D byl v obou krmných obdobích u všech skupin nejnižší (Lebeda a Buš, 1984). V posledních dvou etapách se tedy jednalo o absolutní hyperproteinémii za zvýšené tvorby bílkovin. Frakce bílkovin nebyly zjišťovány, a proto nemůžeme říci, která z nich se na zvýšení podílela nejvíce.

Průměrný variační koeficient proteinémie byl u všech skupin krav při zeleném krmném nižší (I 10,66 %, II 10,30 %, III 11,66 %, P 11,24 %) než při zimních krmných dávkách (I 12,15 %, II 11,55 %, III 11,77 %, P 11,78 %). Nejnižší variační koeficient měla skupina II.

Literatura

- ČOLLÁK, D. a kol.: Determinace metabolické kapacity vysokoprodukčních dojnic. [Výzkumná zpráva.] České Budějovice, provozně ekonomická fakulta Vysoké školy zemědělské v Praze 1982. 112 s.
- ČSN 46 7007. Výživná hodnota krmiv. 1966.
- ČSN 46 7070. Potřeba živin hospodářských zvířat. 1966.
- DVG — Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft: Arbeitswerte in der Laboratoriumsdiagnostik. Kalender für die tierärztliche Praxis, 1977, s. 83-102.
- EGGUM, B.: Indirect measures of protein adequacy. Proc. I. Int. Symp. on Protein Metabolism and Nutrition, EAAP, Nottingham 1974.
- FLORESCU, S. a kol.: Dinamika unor indici sanguini si fiziologici in raport cu production, alimentaria si starea fiziologica la vaci de rasa Bruna. Lucr. sciint. (Inst. Cerc. zooteh.), 22, 1965, s. 245.
- FRANCOZ, G.: Observations on relationship between overfeeding and the incidence of metritis in cows after normal parturition. Refuah veter., 27, 1970, s. 148-155.
- GANCARZ, B. a kol.: Zachowanie sie stezenia bialka calkowitego w surowicy krwi u krow rosy ncb. Med. weter., 25, 1969, s. 622-624.
- GIROU, R. — BROCHART, M.: Niveau energetique, proteique, et fecondite des vaches latieres. Influence d'une supplementation alimentaire post-oestrale. Ann. Zootechn., 19, 1970, s. 67-73.
- HEWETT, C. D.: On the causes and effects of variations in the blood profile of Swedish dairy cattle. Acta veter. Scand., Suppl. 50, AVSPA 50, 1974. 152 s.
- HOREJŠÍ, J. — KANDRÁČ, M. — MICHALEC, C. — SLAVÍK, K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha 1957. 532 s.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J.: Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. SVS — oddělení veterinární osvěty. Pardubice 1981. 29 s.

- KACEROVSKÝ, O. a kol.: Nové směry ve výživě hospodářských zvířat. Praha 1975. 408 s.
- KOLB, E.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Jena 1967. 989 s.
- KOLESNIK, N. N.: K metodice izučenija postnatalnoj ontogenetiki moločnogo skota. Genetika i novyje metody selekcii moločnych porod skota. Moskva 1970, s. 315-323.
- KROUPOVÁ — KLEIN: Die biochemische Veränderungen im Blut und Harn des bei Fütterung mit N-Stoffen überlasteten Rind. Symposium Dusíkový metabolismus hospodářských zvířat. Vysoké Tatry 8.—11. 10. 1974.
- LEBEDA, M.: Koncentrace amoniaku v moči dojníc při zeleném a zimním krmení. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, č. 7, s. 387-400.
- LEBEDA, M. — BUŠ, A.: Sezónní koncentrace močovin v krevní plazmě a v moči krav v různých fázích laktace. Veterinářství, 1985, č. 2, s. 55-61.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J.: Beta-Karotinämie der Milchkühe. In: Beiträge der 1. Konferenz der Internat. Gesellschaft ACB (Animal Clinical Biochemistry), Schwäbisch Hall (BRD), 1983, s. 435-440.
- LEGOSIN, G. — OBUCHOVA, L.: Belkovyj sostav krovi v svyazi s umerennym inbridinom, urovnem udoja i stadije laktacii. Sel'-choz. Biol., 1970, s. 511-515.
- LOTTHAMMER, K. H. — MEYER, H. — AHLWEDE, L. — HORSTMANN, G.: Einfluss überhöhter Kaliumgaben auf die Geschlechtsfunktion bei Färsen. Zuchthygiene, 9, 1974, s. 83.
- MEDWAY, W. — PRIER, J. E. — WILKINSON, J. S.: A textbook of veterinary clinical pathology. London 1969. 522 s.
- MORROW, D. A. — TYRRELL, H. F. — TRIMBERGER, G. W.: Effects of liberal concentrate feeding on reproduction in dairy cattle. J. Amer. veter. Assoc., 155, 1972 s. 1946-1954.
- MUIR, L. A. — DUQUETTE, P. F. — SMITH, G. E.: Varying urea levels in NPN purified diet for sheep. J. anim. Sci., 34, 1972, s. 271-272.
- NEHRING, K. — BEYER, M. — HOFFMANN, B.: Futtermitteltabellenwerk. 2. Aufl. Berlin 1972. 452 s.
- NOMANI, M. Z. A. — EVANS, J. L.: Variations in blood plasma components by diet nitrogen source and level. J. anim. Sci., 35, 1972, s. 286-287.
- SCHMIDL, O. W.: Laboruntersuchungen für die Diagnose und Verlaufskontrolle. Boehringer, Mannheim GmbH, 1978, s. 50-51.
- STENDAL HANSEN, M. — ANDERSEN, P. E.: Different protein levels during the first 12 weeks after calving. Landøkonomisk forsøgslaboratoriums efterårsmøde, Copenhagen, 1973, s. 335-340.
- VÁRADY, J. — BODA, K. — FEJES, J. — BAJÓ, M.: Dynamics of blood urea and ruminal ammonia in fasting sheep. Physiol. bohemoslov., 19, 1970, s. 519-522.
- WETTKE, K. — JAHN, J.: Zur Untersuchung und Behandlung der Herdensterilität in Rindbeständen. Dtsch. tierärztl. Wschr., 78, 1971, s. 437-441.
- WIESNER, E.: Beziehung zwischen Menge und Zusammensetzung des Serum-eiweisses und Leistung und Körperformen bei Kühen der schwarzbunten Niederungsrindes. [Disertation.] Berlin 1957. 76 s. — Veter. Med. Fakultät.

Došlo dne 24. 9. 1984

ЛЕБЕДА, М. — БУШ, А. (Ветеринарный институт, Брно): Сезонные изменения концентрации общего белка плазмы крови у коров в разных фазах промежуточного периода. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 275-288.

В четырех однолетних этапах (А, В, С, Д) в летних (Л) и зимних (З) кормовых периодах изучался общий белок (ОБ) плазмы крови 3207 коров в трех группах: I — в первой фазе лактации, II — во второй фазе лактации и III — в 8-9,5 месяца беременности. При зимних кормовых дачах было обследовано 1948 животных и при летних кормовых дачах 1259 животных. Одновременно было вычислено возмещение потребности в переваримых азотистых веществах и энергии (К. Е.) в кормовых дачах отдельных групп коров. Высоко-стельные коровы (III) в течение всех четырех лет и в отдельные кормовые периоды имели меньше ОБ, чем группы лактирующих коров. Различие было значимым: девять из десяти случаев по отношению группы I и восемь раз по отношению группы II. Такое явление закономерное и независимое от Л или З типов кормовых дач и от сезонных климатических влияний отдельных лет. Тенденция понижения ОБ с длительностью лактации уже менее однозначна (значимая в четырех из десяти случаев), однако очевидна, поскольку ни один

из трех случаев обратного направления не был значимым. Различия в концентрации ОБ между коровами разных групп бывают абсолютными и должны иметь эндогенное происхождение, иначе их нельзя объяснить уровнем возмещения потребности в питательных веществах. В этапах С и Д имело место повышение ОБ в обоих кормовых периодах у всех групп коров. Прирост процента гиперпротеинемии объясняется повышенным протеосинтезом при лучшем использовании вносимых переваримых азотистых веществ. Относительная концентрационная гиперпротеинемия была исключена. Влияние Л и З типов кормовых дач на концентрацию ОБ было незначимым в течение всего четырехлетнего изучения; в отдельных этапах были установлены значимо более высокие значения ОБ в летний, чем в зимний (3 раза) и, наоборот, низкие (1 раз).

первая и вторая фазы лактации; высокая стельность; кормовые летние и зимние дачи; переваримые азотистые вещества; энергия

LEBEDA, M. — BUŠ, A. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Seasonal Changes in the Concentration of the Total Blood Plasma Protein of Cows at Different Stages of Calving Interval*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 275-288.

In four one-year stages (A, B, C, D) in the summer (L) and winter (Z) feeding seasons, the total protein (CB) of blood plasma was determined in 3207 cows included in three groups: I — the first stage of lactation, II — the second stage of lactation, and III — the 8th to 9.5th month of pregnancy. 1948 cows were examined when given the winter feed rations and 1259 cows on the summer rations. At the same time, the supply of required digestible crude protein (SNL) and energy (starch units) was calculated for the feed rations of different groups of cows. High-pregnant cows (III) had the lower total protein in all the four years and feeding seasons, as compared with the groups of lactating cows. The difference was significant in nine out of ten cases in relation to group I and in eight cases in relation to group II. This is a regular phenomenon, independent of the summer or winter feed ration type and of the seasonal climatic effects of each year. The trend of decreasing crude protein levels with the length of lactation is less conclusive (significant in four out of ten cases); nevertheless, it is still apparent, since none of the three reverse cases was significant. The differences in total protein concentration between cows of different groups are absolute and their causes must be endogenous: they cannot be attributed to differences in the supply of required nutrients. A rise of total protein content was recorded in both feeding seasons at stages C and D in all groups of cows. The higher occurrence of hyperproteinaemia is ascribed to increased proteosynthesis at better utilization of the supplied crude protein. Relative (concentration) hyperproteinaemia was excluded. The effect of the summer or winter type of feed rations on total protein concentration was insignificant when considered for the whole four-year period; at individual stages significantly higher total protein values in the summer feeding season than in the winter feeding season were recorded three times and the reverse case was recorded only once.

first and second lactation stage; high pregnancy; summer and winter feed rations; digestible crude protein; energy

LEBEDA, M. — BUŠ, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Saisonbedingte Änderungen der Konzentration der Gesamtproteine im Blutplasma der Kühe in verschiedenen Phasen der Zwischenkalbezeit*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 275-288.

In vier einjährigen Etappen (A, B, C, D) wurden in den Sommer- (L) und Winterfütterungsperioden (Z) die Gesamtproteine (CB) des Blutplasma von 3207 Kühen in drei Gruppen: I — in der ersten Laktationsphase, II — in der zweiten Laktationsphase und III — im 8. bis 9.5. Trächtigkeitsmonat ermittelt. Bei den Z-Fütterationen wurden 1948 Tiere und bei den L-Fütterationen 1259 Tiere untersucht. Gleichzeitig wurde die Deckung des Bedarfes an verdaulichen N-Stoffen (SNL) und an Energie (SJ) in den einzelnen Fütterationen der einzelnen Gruppen von Kühen berechnet. Die hochtragenden Kühe (III) wiesen für alle 4 Jahre auch in den einzelnen Fütterungsperioden einen niedrigeren CB-Wert als die Gruppen von laktierenden Kühen auf. Der Unterschied war in 9 von 10 Fällen im Vergleich

zur Gruppe I und in 8 von 10 Fällen im Vergleich zur Gruppe II bemerkenswert. Diese Erscheinung ist gesetzmäßig und ganz unabhängig vom L- oder Z-Typ der Futterrationen als auch von den einzelnen saisonbedingten klimatischen Einflüssen der einzelnen Jahre. Die Tendenz zum Abfall des CB-Wertes in Abhängigkeit von der Laktationsdauer ist schon weniger eindeutig (sichtbar in 4 von 10 Fällen), wenn auch offensichtlich, da keiner von 3 Fällen der entgegengesetzten Richtung wesentlich war. Die CB-Konzentrationsunterschiede zwischen den Kühen der einzelnen Gruppen sind absolut und müssen endogenen Ursprungs haben, da sie nicht mit dem Niveau der Deckung der Nährstoffbedürfnisse zu erklären sind. In den C- und D-Etappen konnte ein bestimmter CB-Anstieg in den beiden Fütterungsperioden in allen Gruppen von Kühen beobachtet werden. Der Anstieg des Hyperproteinämieprozentsatzes ist mit der erhöhten Proteosynthese bei einer besseren Ausnutzung der SNL zu erklären. Die relative Konzentrationshyperproteinämie konnte ausgeschlossen werden. Der Einfluß der L- und Z-Futterrationen auf die CB-Konzentration war während der vierjährigen Untersuchungsperiode unbedeutend, in den einzelnen Etappen wurden wesentlich höhere CB-Werte in der L-Periode als in der Z-Periode dreimal und umgekehrt nur einmal niedrigere Werte festgestellt.

erste und zweite Laktationsphase; hohe Trächtigkeit; Sommer- und Winterfutterrationen; verdauliche N-Stoffe; Energie

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Milan Lebeda, CSc., MVDr. Augustin Buš, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

KVALITATIVNÍ ZMĚNY A FERTILIZAČNÍ SCHOPNOST SPERMII PO ŠESTILETÉM UCHOVÁVÁNÍ SEMENE KANCE

J. Kozumplík

KOZUMPLÍK, J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Kvalitativní změny a fertilizační schopnost spermií po šestiletém uchovávání semene kanců*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 289-300.

U semene čtyř kanců, skladovaného šest let, byla hodnocena motilita spermií, morfologie akrozomů, změny stanovené vitálně-letální testem a koncentrace aspartát aminotransferázy (AST) v semenné plazmě. Při posuzování motility spermií nebyly zaznamenány statisticky významné změny v procentech pohyblivých spermií po čtyřletém ani po šestiletém skladování semene v tekutém dusíku. Také kolísání změn zjištěných vitálně-letálním testem nepřesahovalo rámec statisticky nevýznamných hodnot. Po rozmrazení vzorků semene v médiu BTS byla zjišťována poněkud lepší motilita spermií než při rozmrazení v médiu INRA-ITP, ale po ukončení termorezistentního testu se obě rozmrazovací média projevovала jako rovnocenná. U vzorků semene skladovaných čtyři roky se proti původním hodnotám zvýšila hladina AST jen nepatrně. Po rozmrazení v médiu BTS se zvýšila hladina AST o 0,03 mikrokatal na litr semenné plazmy a v médiu INRA-ITP o 0,06 mikrokatal na litr semenné plazmy. Po inseminaci pěti prasnic semenem uchovávaným šest let zabřezly dvě, tj. 40 %, a na jeden vrh bylo získáno 7,5 selete. Z dosažených výsledků je možné soudit, že po šest let trvajícím uchovávání semene kance v tekutém dusíku nevznikají další změny, které by zásadně měnily strukturální či funkční vlastnosti spermií.

kryokonzervace; dlouhodobé uchovávání; laboratorní testy

Anabióza spermií, vyvolaná působením nízkých teplot, je charakterizována značně sníženou metabolickou činností. Podle Mazura (1980) mohou životní procesy u hluboce mrazených buněk (-196°C) přetrvávat asi 3000 až 10 000 let. Polovina buněk zůstává ještě vitální, zatímco druhá polovina je zničena ionizujícím zářením. Kryobiologický problém u buněk spočívá v mrazení a opětovném rozmrazení na teplotu těla a obnovení funkcí bez poškození buněk. Na základě mnoha pokusů bylo zjištěno, že při rychlém fázovém zmrazení přežívá více buněk než při pomalém kontinuálním a dlouhotrvajícím snižování teploty (Jakobsen, 1956; Jenichen a Zeitz, 1968; Döcke a Schmidt, 1963 a jiní). Zmrazováním semene býka ve formě pelet i pejet bylo prokázáno, že v prvních pěti letech se procento březosti po první inseminaci snižuje (Weigt, 1975; Andersen a Pedersen, 1976 a jiní). Větší snížení oplodovací schopnosti zmrazeného semene býka bylo zaznamenáno až po dvanáctiletém přechovávání (Nishikawa aj., 1976).

Údaje o změně motility, ale i dalších funkcí spermií mrazeného semene kance po delším údobí uchovávání nebyly zatím zveřejněny. Nejčastěji se používá semeno několik týdnů až měsíců skladované, pravděpodobně i vzhledem ke stále se vyvíjející metodě zmrazování.

Protože v naší laboratoři skladujeme zmrazené semeno kanců čtyři a šest let, posoudili jsme motilitu i další funkce spermií po rozmrazení pelet, abychom mohli zhodnotit účinnost konzervační metody v té době vyvíjené na našem pracovišti.

MATERIÁL A METODA

Do pokusu jsme vzali šest ejakulátů ředěných ředidlem č. 1 a č. 2, skladovaných šest let, a devět ejakulátů ředěných ředidlem č. 2, skladovaných čtyři roky v tekutém dusíku (-196°C). Složení ředidel je uvedeno v tab. I. Ejakuláty pochá-

I. Složení použitých ředidel — Composition of the diluents

	Ředidlo 1	Ředidlo 2
Sacharóza	50,0	21,0
Glukóza	8,0	—
Fruktóza	8,0	—
Kyselina citrónová	—	12,0
EDTA	4,0	3,2
Síran amonný	2,0	—
TRIS	0,6	23,0
Citrát sodný	3,0	3,0
Citrát amonný	—	2,4
Glycerin	40,0	40,0
Žloutek	50,0	50,0
Destilovaná voda do	1000,0	1000,0

zely od čtyř plemenů. Před dlouhodobým skladováním byla po rozmrazení jednotlivých vzorků semene zjištěna motilita spermií, byly zaznamenány výsledky termorezistentního testu (38°C po dobu 6 h), vitální letální testu s eozin-nigrozinem, vyhodnoceny morfologické změny spermií a u části vzorků byly stanoveny hladiny aspartát aminotransferázy (AST) v semenné plazmě podle metodiky uvedené v Bio-La-testu (Lachema Brno). Semeno bylo zmrazováno v peletách o objemu 2,0 ml podle metodiky popsané v pracích zabývajících se metodou zmrazování a rozmrazování spermatu kance (Kozumplík, 1978, 1980). Rozmrazováno bylo v poměru 1 díl pelet : 2,5 dílu rozmrazovacího média BTS (Pursel a Johnson, 1976) nebo INRA-ITP (Paquignon aj., 1977), zahřátého na teplotu 65°C . Stejný způsob hodnocení byl použit u peletovaného semene skladovaného čtyři nebo šest let. Semenem uchovávaným šest let bylo inseminováno pět prasnic.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Jak vlastní postup při zmrazování, tak i dlouhotrvající nízké teploty používané ke konzervaci semene mohou ovlivnit dvě nejzákladnější funkce

II. Motilita spermií po čtyř až šestiletém uchovávání semene kance v tekutém dusíku (—196 °C) (termorezistentní test) — Sperm motility after four- to six-year storage of boar semen in liquid nitrogen (—196 °C) (thermorezistance test)

Ředidlo	Rozmrazovací médium	Doba použití	Pohyb spermií po rozmrazení						n
			1 h	2 h	3 h	4 h	5 h	6 h	
2	BTS	ihned	27,92 ± 3,34	27,08 ± 4,50	25,42 ± 5,42	21,25 ± 8,01	15,58 ± 9,36	11,00 ± 9,23	9
		po čtyřech letech	28,33 ± 8,66	27,22 ± 8,70	21,11 ± 9,93	16,67 ± 4,33	11,33 ± 4,85	10,22 ± 4,38	9
	INRA-ITP	ihned	22,50 ± 3,50	22,08 ± 3,34	20,83 ± 4,17	17,92 ± 5,48	15,17 ± 6,28	12,33 ± 6,72	9
		po čtyřech letech	22,22 ± 6,67	18,33 ± 5,59	15,00 ± 4,33	12,78 ± 2,63	11,33 ± 3,32	9,11 ± 3,48	9
1	BTS	ihned	30,00 ± 4,00	29,00 ± 4,00	20,00 ± 5,00	16,00 ± 5,00	15,00 ± 6,00	9,00 ± 5,00	6
		po šesti letech	25,00 ± 5,48	18,33 ± 5,16	8,67 ± 4,54	6,50 ± 5,09	4,83 ± 6,21	1,67 ± 2,58	6
	INRA-ITP	ihned	22,00 ± 13,00	20,00 ± 5,00	18,00 ± 5,00	14,00 ± 7,00	10,00 ± 6,00	6,00 ± 4,00	6
		po šesti letech	17,50 ± 4,18	17,50 ± 4,18	9,17 ± 5,84	7,33 ± 6,86	4,67 ± 5,20	2,00 ± 2,45	6
2	BTS	ihned	30,00 ± 3,16	25,83 ± 5,84	20,88 ± 5,84	18,33 ± 7,76	14,17 ± 9,17	10,33 ± 7,26	6
		po šesti letech	25,83 ± 4,91	23,33 ± 7,53	19,17 ± 9,70	17,50 ± 10,37	10,33 ± 6,53	9,50 ± 7,58	6
	INRA-ITP	ihned	25,83 ± 7,36	25,83 ± 7,36	23,33 ± 7,53	19,17 ± 8,67	15,33 ± 10,43	11,83 ± 8,01	6
		po šesti letech	19,17 ± 3,76	16,67 ± 4,08	15,83 ± 4,91	14,17 ± 3,76	9,17 ± 4,91	8,33 ± 4,08	6

spermií, a to schopnost pohybu a oplozovací schopnost. Tyto funkce bývají nepříznivě ovlivněny u poškozených spermií. Míru poškození jsme určovali testy uvedenými v metodice a výsledky šetření jsme tabelárně zpracovali.

Jak vyplývá z tab. II, motilita spermií se po čtyřech letech skladování semene nesnížila. Rozdíly v hodnocení pohybu spermií po čtyřletém skladování jsou patrné jen ve větším rozptylu krajních hodnot

zjišťované motility. Po šesti letech skladování jsme zjišťovali asi o 5 % nižší motilitu než u vzorků čerstvě zmrazených. V důsledku kolísání zjišťovaných hodnot však ani toto snížení není statisticky významné, což bylo potvrzeno i výsledky dalších testů.

Hodnotí-li se vliv rozmrazovacího média, pak lepší vitalita spermií po rozmrazení byla zjišťována při použití média BTS. Ke konci termorezistentního testu se však působení obou rozmrazovacích médií jeví jako zcela rovnocenné u ředidla č. 2, zatímco u ředidla č. 1 byl vliv média BTS trvale lepší. Výsledky našeho šetření se do velké míry shodují s údaji, které uvádějí Paquignon aj. (1975). Také tito autoři zjišťovali poněkud lepší motilitu ve vzorcích semene rozmrazených v médiu BTS, ale přes tuto skutečnost dosahovali větších počtů selat na vrh při rozmrazení v médiu INRA-ITP. Na základě rozboru výsledků termorezistentního testu, prováděného bezprostředně po zmrazení ejakulátu, dále za čtyři roky a za šest let, je možné konstatovat, že křivka úbytku pohyblivých spermií u různě dlouho skladovaného spermatu je shodná a ke konci testu se neliší více než o 3 %, což je rozdíl statisticky nevýznamný.

Pokud se týká morfologického vyšetření, snížil se počet neporušených spermií v průběhu čtyř let skladování asi o 5 % po rozmrazení v médiu BTS a asi o 9 % po rozmrazení v médiu INRA-ITP. Ke konci termorezistentního testu se uvedené rozdíly zmenšily o 2 až 3 %. Po čtyřletém skladování byly morfologicky hodnoceny jen vzorky ředěné ředidlem č. 2.

Po šestiletém skladování vzorků semene ředěných ředidlem č. 1 i č. 2 se počet morfologicky změněných spermií nezvýšil ani na začátku termorezistentního testu, ani při jeho ukončení. Tato skutečnost svědčí o tom, že přechovávání peletovaného semene kance v tekutém dusíku v průběhu námi hodnoceného časového úseku nemá za následek další poškození povrchových struktur spermií (tab. III).

Z výsledků vitálněletálního testu vyplývá, že statisticky nevýznamný úbytek (2 až 7 %) neobarvených spermií byl zaznamenán po čtyřletém skladování (tab. IV). U vzorků semene uchovávaného šest let bylo dokonce zaznamenáno určité zlepšení, což je možné přikládat na vrub použité metody, protože rozdíly nejsou statisticky významné. Srovnáme-li vliv rozmrazovacích médií, hodnocený vitálněletálním testem, pak po čtyřech letech skladování semene nebyl zaznamenán větší rozdíl v účinnosti médií, zatímco po šesti letech skladování bylo ředidlo INRA-ITP lepší. Rozdíly však nejsou statisticky významné — především na konci termorezistentního testu. Termorezistentním testem jsou objektivněji prověřovány funkce a vlastnosti spermií, které byly vystaveny působení nízkých teplot. V případě, že by v průběhu skladování docházelo k dalšímu poškození spermií, byl by rozdíl ve výsledcích, a to nejen u vitálněletálního barvení, ale u všech námi použitých testů, výrazně vyšší.

Konečně byly sledovány hodnoty aspartát aminotransferázy u vzorků semene skladovaného čtyři roky. Z tab. V vyplývá, že během tohoto období se hodnoty AST v semenné plazmě nezvýšily tak, aby to upozorňovalo na nepříznivé působení doby skladování. Příprava k mrazení (ředění semene) měla na povrchové membrány spermií nepříznivější vliv než délka skladování. U kontrolovaných vzorků semene bez usklad-

III. Morfologické změny akrozómů spermií v průběhu čtyřletého a šestiletého uchovávání semene kance — Morphological changes in sperm acrosomes during four-year and six-year boar semen storage

Doba zpracování		Posouzení akrozomů spermií	Rozmrazovací médium				n	
			BTS		INRA-ITP			
			ihned	roky čtyři	ihned	čtyři roky		
Nativní semeno		NA	96,12 ± 0,99		96,12 ± 0,99		9	
		PA	0,62 ± 0,52		0,62 ± 0,52			
		BA	3,25 ± 0,89		3,25 ± 0,89			
Po naředění		NA	93,55 ± 3,43		93,55 ± 3,43		9	
		PA	1,11 ± 1,27		1,11 ± 1,27			
		BA	5,33 ± 2,55		5,33 ± 2,55			
Po ekvilibraci		NA	86,67 ± 4,24		86,67 ± 4,24		9	
		PA	4,11 ± 2,67		4,11 ± 2,67			
		BA	9,22 ± 2,99		9,22 ± 2,99			
Po rozmrazení (termorezistentní test)		ihned	NA	33,44 ± 7,27	28,22 ± 4,58	34,67 ± 7,58	25,57 ± 5,83	9
			PA	17,89 ± 8,31	10,22 ± 6,34	16,00 ± 4,79	7,89 ± 4,70	
			BA	48,67 ± 13,32	61,55 ± 6,46	49,33 ± 10,67	66,55 ± 4,36	
		za tři hodiny	NA	19,55 ± 4,13	15,44 ± 9,47	25,44 ± 6,08	16,67 ± 6,22	9
			PA	11,44 ± 2,88	6,33 ± 3,08	14,55 ± 7,71	4,89 ± 3,18	
			BA	69,00 ± 5,27	78,22 ± 11,56	60,00 ± 11,64	78,44 ± 8,31	
		za šest hodin	NA	13,44 ± 2,60	10,11 ± 4,62	17,33 ± 4,74	11,00 ± 5,63	9
			PA	16,22 ± 4,51	7,11 ± 3,89	13,33 ± 5,63	4,67 ± 3,28	
			BA	70,33 ± 6,46	82,78 ± 7,12	69,33 ± 9,82	84,33 ± 7,87	

Ře- didlo	Doba trvání testu	Posouzení akrozomů spermii	Rozmrazovací médium				n
			BTS		INRA-ITP		
			ihned	šest let	ihned	šest let	
1	ihned	NA	26,00 ± 12,12	32,17 ± 15,83	26,17 ± 9,70	31,83 ± 11,09	6
		PA	20,67 ± 6,62	7,17 ± 3,37	14,00 ± 6,66	11,83 ± 4,44	
		BA	53,33 ± 16,93	60,67 ± 13,18	59,83 ± 15,92	56,33 ± 12,66	
	šest hodin	NA	7,83 ± 5,74	9,00 ± 3,47	10,83 ± 3,97	10,33 ± 2,94	6
		PA	8,67 ± 3,08	3,17 ± 2,32	10,50 ± 4,68	2,67 ± 1,03	
		BA	83,50 ± 8,67	87,33 ± 4,49	78,67 ± 8,24	87,00 ± 3,40	
2	ihned	NA	23,33 ± 6,62	29,50 ± 7,15	24,83 ± 5,34	27,83 ± 5,56	6
		PA	21,17 ± 4,71	8,83 ± 2,24	22,83 ± 12,62	10,50 ± 4,32	
		BA	55,50 ± 9,54	61,67 ± 6,28	62,33 ± 12,77	61,67 ± 8,80	
	šest hodin	NA	5,83 ± 3,43	8,83 ± 5,91	5,67 ± 5,12	11,33 ± 8,04	6
		PA	6,67 ± 6,19	8,00 ± 4,65	4,83 ± 3,31	6,83 ± 2,14	
		BA	87,57 ± 9,54	83,17 ± 9,41	89,50 ± 7,56	81,83 ± 8,84	

NA — neporušený akrozóm

PA — porušený akrozóm

BA — bobtnající akrozóm

IV. Vitálněletální barvení spermií eožín-nigrozinem bezprostředně po zmrazení a po čtyřletém a šestiletém uchovávání — The vital-lethal staining of spermatozoa with eosine-nigrosine immediately after freezing and after four and six years of storage

Doba zpracování		Zbarvení spermií	Rozmrazovací médium				n
			BTS		INRA-ITP		
			ihned	čtyři roky	ihned	čtyři roky	
Nativní semeno		bílé	92,62 ± 3,25		92,62 ± 3,25		9
		červené	5,00 ± 2,14		5,00 ± 2,14		
		červeno-bílé	2,37 ± 1,70		2,37 ± 1,70		
Po naředění		bílé	92,22 ± 2,86		92,22 ± 2,86		9
		červené	5,67 ± 1,73		5,67 ± 1,73		
		červeno-bílé	2,11 ± 1,76		2,11 ± 1,76		
Po ekvilibraci		bílé	86,55 ± 4,33		86,55 ± 4,33		9
		červené	10,00 ± 4,12		10,00 ± 4,12		
		červeno-bílé	3,44 ± 1,42		3,44 ± 1,42		
Po rozmrazení (termorezistentní test)	ihned	bílé	42,89 ± 6,17	40,33 ± 3,60	43,22 ± 7,39	36,11 ± 7,72	9
		červené	50,89 ± 8,75	53,11 ± 5,00	49,44 ± 8,26	56,89 ± 9,43	
		červeno-bílé	6,67 ± 5,94	6,55 ± 8,60	7,33 ± 5,48	7,00 ± 4,68	
	za tři hodiny	bílé	35,44 ± 5,94	29,78 ± 8,60	39,67 ± 5,48	29,89 ± 4,68	9
		červené	56,67 ± 7,98	63,22 ± 10,67	50,67 ± 7,52	61,65 ± 7,38	
		červeno-bílé	8,11 ± 3,29	7,00 ± 3,04	9,67 ± 3,50	8,44 ± 2,01	
	za šest hodin	bílé	27,22 ± 5,17	26,22 ± 10,46	33,89 ± 7,06	25,88 ± 8,27	9
		červené	62,67 ± 5,64	64,44 ± 11,18	57,78 ± 8,60	65,00 ± 10,25	
		červeno-bílé	9,67 ± 3,46	9,33 ± 2,60	8,33 ± 2,45	9,11 ± 2,71	

Ře- didlo	Doba trvání testu	Zbarvení spermii	Rozmrazovací médium				n
			BTS		INRA-ITP		
			ihned	šest let	ihned	šest let	
1	ihned	bílé	26,17 ± 10,64	36,17 ± 8,77	30,17 ± 8,75	34,17 ± 7,98	6
		červené	72,67 ± 9,50	62,67 ± 9,11	68,33 ± 5,54	63,67 ± 8,26	
		červeno- -bílé	1,17 ± 1,83	1,17 ± 0,98	1,50 ± 2,34	2,17 ± 0,98	
	šest hodin	bílé	13,00 ± 4,43	15,17 ± 2,14	25,00 ± 7,27	20,33 ± 1,50	6
		červené	86,50 ± 4,41	82,00 ± 2,28	74,00 ± 8,83	79,17 ± 1,94	
		červeno- -bílé	0,50 ± 0,84	2,83 ± 0,41	1,00 ± 1,67	4,83 ± 1,94	
2	ihned	bílé	37,17 ± 3,87	40,33 ± 5,01	45,83 ± 4,17	34,50 ± 2,74	6
		červené	57,00 ± 6,98	58,00 ± 5,14	48,50 ± 6,47	62,33 ± 3,20	
		červeno- -bílé	5,83 ± 2,24	1,67 ± 1,21	5,67 ± 3,56	3,17 ± 1,17	
	šest hodin	bílé	14,67 ± 6,80	15,50 ± 3,99	21,50 ± 12,56	16,17 ± 4,12	6
		červené	79,17 ± 10,42	81,67 ± 4,08	70,33 ± 6,34	79,67 ± 4,93	
		červeno- -bílé	6,17 ± 4,83	2,83 ± 0,41	8,17 ± 6,75	4,17 ± 1,17	

nění bylo po rozmrazení zjišťováno 0,61 μ kat AST na litr semenné plazmy. Po čtyřletém uchovávání se hladina AST, podle použitého rozmrazovacího média, zvýšila jen nepatrně (0,03 až 0,06 μ kat AST na litr semenné plazmy).

Námi zjišťované hodnoty jsou srovnatelné s údaji těch autorů, kteří se zabývali kvalitou ejakulátu kance po zmrazení, ale bez delšího uchovávání, protože v tomto směru srovnatelné údaje u daného druhu zvířat

V. Obsah AST v semeni kance před mražením a po rozmrazení a po čtyřletém uchovávání — AST content in boar semen before and after thawing and after four-year storage

Doba zpracování		Hodnoty AST v mikrokatal/l po rozmrazení				n
		médium BTS		médium INRA-ITP		
		ihned	čtyři roky	ihned	čtyři roky	
Nativní semeno		0,140 ± 0,080		0,140 ± 0,020		9
Po naředění		0,490 ± 0,130				9
Po rozmrazení (termorezistentní test)	ihned	0,610 ± 0,140	0,640 ± 0,145	0,640 ± 0,160	0,700 ± 0,085	9
	za tři hodiny	0,670 ± 0,150	0,681 ± 0,141	0,620 ± 0,140	0,708 ± 0,073	9
	za šest hodin	0,710 ± 0,140	0,725 ± 0,139	0,610 ± 0,140	0,713 ± 0,090	9
Po usmrcení spermií		0,920 ± 0,180		0,920 ± 0,180		9
Ředidlo		0,060 ± 0,020	0,050 ± 0,020	0,060 ± 0,020	0,050 ± 0,020	9

chybí. V našem případě byl po čtyřech až šesti letech uchovávání zjišťován minimálně 25% pohyb spermií vždy, když byly pelety rozmrazeny v médiu BTS. Uvedené procento vpřed se pohybujících spermií je považováno za hranici, která by měla limitovat použitelnost rozmrazeného semene k inseminaci (Waide aj., 1977; Pursel a Johnson, 1976; Pácová a Dupal, 1981 a jiní). Počty spermií s neporušeným akrozómem se pohybovaly mezi 23 až 32 % spermií, což odpovídá údajům jiných autorů, i když jsou uváděna i procenta vyšší (Westendorf aj., 1977; Pursel aj., 1978 a jiní). Výsledky eozin-nigrozínového testu jen doplňovaly morfologická šetření, stejně jako určení hladiny AST u dlouhodobě skladovaného semene. Stanovení hladiny AST v semenné plazmě před rozmrazováním a po něm je doporučováno proto, aby posouzení míry poškození spermií mražením bylo dokonalejší (Buruiana, 1973; Bonadonna a Roychoudhury, 1974 a jiní), i když koncentrace AST nejsou uváděny zcela shodně. V případě AST, ale i dalších intracelulárních enzymů, je důležité znát množství sledovaného enzymu, které je ještě v buňkách. Z toho je možné získat i obraz o počtu neporušených buněk. V tomto smyslu bylo metody určování AST použito i v této práci.

Konečně byla hodnocena i fertilizační schopnost dlouhodobě uchovávaného semene. Po inseminaci pěti prasnic semenem uchovávaným šest let v tekutém dusíku zabřezly dvě, tj. 40 %, a na jeden vrh bylo získáno 7,5 selat. Z uvedeného pokusu, i když byl proveden na malém počtu zvířat, vyplývá, že oplozovací schopnost spermií zůstala zachována. Se stejným semenem, použitým bez dalšího uskladnění, zůstalo z 30 inseminovaných prasnic 15 březích, tj. 50 %, a na jeden vrh bylo získáno 5,53 selete (K o z u m p l í k, 1980).

Výsledky našeho šetření je možné srovnávat s údaji autorů Weig t (1975), Andersen a Pedersen (1976) a dalších, kteří po pěti letech uchovávání semene býka nezjišťovali závažnější nárůst změn na spermiích ani snížení oplozovací schopnosti.

Na základě rozboru výsledků laboratorního hodnocení semene, doplněného o pokus s inseminací semenem skladovaným šest roků, je možné říci, že v průběhu uchovávání peletovaného semene kance nedochází k výraznějšímu porušení morfologické struktury spermií, snížení motility spermií, nárůstu mrtvých spermií ani ke statisticky významnému zvýšení koncentrace AST v semenné plazmě. Pokus s inseminací prasnic dovoluje vyslovit závěr, že i oplozovací schopnost semene uchovávaného šest let v tekutém dusíku zůstává zachována.

Literatura

- ANDERSEN, J. B. — PEDERSEN, H.: Breeding efficiency of frozen bull semen after 5 years storage —196 °C in liquid nitrogen. VIIIth Int. Congr. anim. Reprod., A. I., Vol. IV, 1976, s. 783-785.
- BONADONNA, T. — ROYCHOUDHURY, P. N.: Ricerca sull'emissione della transaminasi glutammica ossalacetica (GOT) e della transaminasi glutammica piruvica (GPT) dei nemaspermi suini ed ovini. Nota I. Veter. ital., 25, 1974, č. 1/2, s. 3-21.
- BURUIANA, L. M.: Izoenzimale si cinelica glutamat-oxalacetat aminotransferazei din sperma de taur. Stud. Cerc. Biochim., 3, 1973, č. 1, s. 279-286.
- DÖCKE, E. — SCHMIDT, K.: In SCHÄTZ, F.: Die künstliche Besamung bei den Haustieren. Jena, G. Fischer Verlag 1963, s. 277-320.
- JAKOBSEN, F. K.: Versuche zur Tiefkühlung von Bullensperma. Beret. Fors.-Lab., 1956, 292 s.
- JENICHEN, W. — ZEITZ, A.: Material über wichtige Kenndaten zur Gefrierkonservierung von Bullensperma in Pelletform. Schönow, VVB Tierzucht — VEB Besamung, 23, 1968.
- KOZUMPLÍK, J.: Velikost pelet a individuální vlastnosti semene kanců ve vztahu k počtu pohyblivých spermií. Veter. Med. (Praha), 23, 1978, č. 8, s. 457-463.
- KOZUMPLÍK, J.: Vliv způsobu zmrazování semena na vitalitu a oplozovací schopnost spermií kance. Veter. Med. (Praha), 25, 1980, č. 2, s. 73-80.
- MAZUR, O.: Fundamental aspects of the freezing of males with emphasis on mammalian ova and embryos. 9th Int. Congr. anim. Reprod., A. I., Vol. I, 1980, s. 99.
- NISHIKAVA, Y. — IRITANI, A. — SHIRAYAMA, K. — TARAO, T.: Motility and fertilizing ability of frozen cattle semen stored for long terms (4 to 13 years). VIIIth Int. Congr. anim. Reprod., A. I., Vol. IV, 1976, s. 183.
- PÁCOVÁ, J. — DUPAL, J.: Inseminace prasat zmrazeným semenem. [Závěrečná zpráva VÚ 6.2.1.] Rajhrad 1981.
- PAQUIGNON, M. — BUSSIÈRE, J. — BARITEAU, F. — COUROT, M.: Résultats pratiques d'utilisation. Effet du rythme de collectes de la concentration et du taux de glycérol. Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys., 15, 1975, s. 417-423.
- PURSEL, V. G. — JOHNSON, L. A.: Frozen boar spermatozoa: Effect of volume of semen and number of inseminations on pregnancy in the sow. 4. Int. Pig. veter. coc. Congr., Iowa 1976.
- PURSEL, V. G. — SCHULMAN, L. L. — JOHNSON, L. A.: Effect of Orvus Es

Paste on acrosome morphology, motility and fertilizing capacity of frozen-thawed boar sperm. J. anim. Sci., 47, 1978, č. 1, s. 198-202.

WAIDE, Y. — SOEIMA, A. — MASUDA, H.: Studies on preservation of liquid and frozen semen of domestic animals. 1. Viability and fertility of boar spermatozoa stored with caffeine containing diluent. Jap. J. anim. Reprod., 23, 1977, č. 3, s. 99-104.

WEIGT, H.: Der Einfluss der Lagerungsdauer auf die Befruchtungsfähigkeit von gefrierkonserviertem Sperma. Schönow, FAB IfKB 1975.

WESTENDORF, P. — RICHTER, L. — TREU, H. — ZIMMERMANN, F. — HEIDECHE, F. W.: Zur Tiefgefrierung von Ebersperma: Besamungsergebnisse mit dem Hülsenberger Pailletten Verfahren. Dtsch. tierärztl. Wschr., 84, 1977, č. 2, s. 41-42.

Došlo dne 30. 7. 1984

КОЗУМЛИК, Я. (Ветеринарный институт, Брно): Качественные изменения и фертилизационная способность спермы после шестилетнего хранения семени хряка. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 289-300.

У семени четырех хряков, хранимой шесть лет, определялись подвижность сперматозоидов, морфология акросомов, изменения, установленные витально-летальным тестом, а также концентрация аспартат аминотрансферазы (AST) в плазме семени. При оценке подвижности сперматозоидов не было статистически значимых изменений в процентах подвижных сперматозоидов ни после четырехлетнего, ни после шестилетнего хранения семени в жидком азоте. Также колебание изменений, установленных витально-летальным тестом, не выходило за пределы статистически незначимых значений. После размораживания проб семени в BTS среде была установлена несколько лучшая подвижность сперматозоидов, чем при размораживании в INRA-ITP, однако после окончания терморезистентного теста обе размораживающие среды оказывались равноценными. У проб семени, хранимых в течение четырех лет, по сравнению с первоначальными значениями уровень AST повысился лишь незначительно. После размораживания в среде BTS повысился уровень AST на 0,03 микроката на литр плазмы семени и в среде INTRA/ITP на 0,06 микроката на литр плазмы семени. После искусственного осеменения пяти свиноматок хранимым в течение шести лет семенем забеременели две, т. е. 40%, на один помет приходилось 7,5 поросят. По достигнутым результатам можно предполагать, что после шестилетнего хранения семени хряка в жидком азоте не возникают его изменения, которые резко бы изменяли структуральные или функциональные свойства семени.

криоконсервирование; длительное хранение; лабораторные тесты

KOZUMPLÍK, J. (University of Veterinary Medicine, Brno): *The Qualitative Changes and Fertilizing Capacity of Boar Spermatozoa after Six-Year Storage of Semen*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 289-300.

Sperm motility, acrosome morphology, changes determined by the vital-lethal test and aspartate aminotransferase (AST) concentration in semen plasma were evaluated in the semen of four boars; the semen was stored for six years. No statistically significant changes in the percentage of motile spermatozoa were indicated when sperm motility was evaluated after four and six years of semen storage in liquid nitrogen. Neither did the fluctuation of the changes found on the basis of the vital-lethal test go beyond statistically insignificant values. After semen sample thawing in the BTS medium, the motility of spermatozoa was found to be somewhat higher than after thawing in the INRA-ITP medium, but after the termination of the thermoresistance test both media appeared to be equally effective. The AST level of the semen samples stored for four years was just slightly up on the initial values. After thawing in the BTS medium, AST level increased by 0.03 microcatal per litre of semen plasma, and in the INTRA-ITP medium by 0.06 microcatal per litre of semen plasma. The insemination of five sows with the semen stored for six years results in conception of two sows, i. e. 40%, and the average litter size was 7.5 piglets. It can be derived from the results that six years of boar semen storage in liquid nitrogen cause no further substantial changes in the structural and functional characteristics of spermatozoa.

cryopreservation; long-time storage; laboratory tests

KOZUMPLÍK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Qualitative Veränderungen und Fertilisierungsfähigkeit der Spermien nach sechsjähriger Aufbewahrung von Ebersamen*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 289-300.

Beim Samen von vier Ebern, der sechs Jahre lang aufbewahrt worden war, wurden die Spermienmotilität, die Morphologie der Akrosomen, die mit Hilfe des vital-letalen Tests ermittelten Veränderungen und die Konzentration von Aspartataminotransferasen (AST) im Samenplasma bewertet. Bei der Beurteilung der Spermienmotilität konnten keine statistisch bedeutenden Änderungen des Prozentsatzes der beweglichen Spermien nach vierjähriger und sechsjähriger Aufbewahrung im flüßigen Stickstoff beobachtet werden. Auch die Schwankungen der mit Hilfe des vital-letalen Tests ermittelten Veränderungen überstiegen keinesfalls den Rahmen der statistisch unbedeutenden Werte. Nach dem Auftauen der Samenproben im BTS-Medium konnte eine etwas bessere Motilität der Spermien als nach dem Auftauen im INRA-ITP-Medium beobachtet werden, aber nach Beendigung des thermoresistenten Tests zeigten sich die beiden Medien als vollkommen gleichwertig. Bei den vier Jahre lang aufbewahrten Samenproben stieg im Vergleich zu den Ausgangswerten der AST-Spiegel nur unbedeutend an. Nach dem Auftauen im BTS-Medium stieg der AST-Spiegel um 0,03 Mikrokatal/Liter Samenplasma und im INRA-ITP-Medium um 0,06 Mikrokatal/Liter Samenplasma an. Nach der künstlichen Besamung von fünf Sauen mit dem sechs Jahre lang aufbewahrten Samen wurden zwei Sauen (40 %) trächtig und je Wurf wurden 7,5 Ferkel gewonnen. Den erzielten Ergebnissen ist zu entnehmen, daß die sechs Jahre dauernde Aufbewahrung des Ebersamens im flüßigen Stickstoff keine weiteren Veränderungen herbeiführt, die die strukturalen oder funktionellen Eigenschaften der Spermien wesentlich beeinflussen könnten.

Kryokonservation; langfristige Aufbewahrung; Labortests

Adresa autora:

Prof. MVDr. Jaroslav Kozumplík, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MORFOLOGICKÝ OBRAZ EPENDÝMU TRETEJ MOZGOVEJ KOMORY U BAHNÍC PO HORMONÁLNEJ STIMULÁCII

V. Rajtová, J. Arendarčík, A. Staníková

RAJTOVÁ, V. — ARENDARČÍK, J. — STANÍKOVÁ, A. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Morfologický obraz endymu tretej mozgovej komory u bahníc po hormonálnej stimulácii*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 301-310.

Zamerali sme sa na štúdium endymu v infundibulárnej oblasti tretej mozgovej komory. Deviatim bahniciam sme aplikovali agelínové hubky (20 mg/kus). 13. deň po vybratí hubiek sme trom kusom podali i. m. 750 I. U. PMSG, ďalším trom kusom 1000 I.U. PMSG a tri bahnice ostali bez podania PMSG. Sest bahníc slúžilo ako kontrola. Materiál zo štyroch kontrolných a všetkých pokusných oviec sme po zaliati do parafinu farbili hematoxylin-eozínom, materiál z dvoch ďalších kontrolných kusov sme impregnovali metódou podľa Golgi-Coxa. Endym anestrických oviec je v infundibulárnej oblasti jednovrstvový kubický až cylindrický, iba v *recessus infundibuli* tvorí dve až štyri vrstvy. Po podaní agelínu alebo v kombinácii s PMSG možno nájsť reakciu endymu v rozsahu celej výšky infundibulárnej oblasti tretej mozgovej komory, najväčšia je však v kaudálnej časti jej strednej tretiny, tam, kde sme u kontrol po impregnácii našli akýsi prechodný typ endymových buniek k tanycytom (majú cilie, jeden až dva krátke a jeden dlhý výbežok). Po podaní agelínu sa v strednej tretine endymové bunky zvyšujú ako v období anestr. Aplikácia 20 mg agelínu a 750 I. U. PMSG v strednej časti infundibula spôsobila prítomnosť nižších prstovitých výrastkov, endym je zvlnený (ide o pseudozvrstvenie), alebo v ňom možno nájsť malé ložiská zo zmnosených buniek. Po aplikácii 20 mg agelínu a 1000 I. U. PMSG sa v strednej tretine okrem subendymového serózneho infiltrátu objavujú aj rozsiahle prstovité výrastky, vyplnené pravdepodobne seróznou tekutinou, a erodované povrch subendymu i endymu s rôzne vysokými proliferovanými ložiskami endymových buniek. Všade tam, kde dochádza k proliferácii, sa povrchová vrstva endymocytov deskvamuje do cerebrospínálneho moku. Histologický obraz, ktorého popis v práci uvádzame, poukazuje pravdepodobne na zvýšenú sekrečnú činnosť endymových buniek po podaní hormonálnych prípravkov. Výsledky našej práce potvrdzujú spoluúčasť endymu pri hypotalamo-hypofyálnom riadení pohlavnej činnosti oviec.

centrálny nervový systém; endym; PMSG a agelín; ovca

Komorový systém CNS cicavcov vystieľa prevažne v jednej vrstve usporiadaný endym, ktorý sa považuje za akúsi biologickú membránu medzi mozgom a cerebrospínálnym mokom. Aj napriek mnohým prácam, ktoré sa zaoberajú štúdiom endymu z rôznych aspektov, nemožno jeho funkciu považovať za úplne objasnenú. Niektorí autori (Witkowski, 1969; Knowles a Anand Kumar, 1969; Nozaki, 1975 a mnohí iní) predpokladajú, že endym môže mať aj funkčnú úlohu pri hypotalamickej regulácii predného laloka hypofýzy. Na tomto mechanizme sa účastia predovšetkým výbežky vysoko špecializova-

ných endodýmových buniek — tanycytov, ktoré sa nachádzajú v stene ventrálnej časti tretej mozgovej komory [Weiner a i., 1972; Ondo a i., 1972; Uemura a i., 1975; Cramer a i., 1975].

Zmeny v endodýme v závislosti od pohlavia a od štádia pohlavného cyklu samíc u makaka uvádzajú Anand Kumar (1968), Knowles a Anand Kumar (1969) a u potkana Akmayev a Fidelina (1976), Brawer a i. (1974) a iní. Dochádza k nim aj po kastrácii alebo po podaní estrogénu [Kobayashi a i., 1970]. Podľa zvláštností v stavbe ventrikulárnej steny počas rôznych fáz estrálneho cyklu predpokladáme, že endodýmové bunky — najmä tanycyty — určitým spôsobom reagujú na sexuálny cyklus. Mechanizmus a význam tejto odpovede zostáva však zatiaľ neobjasnený [Leveque a Hofkin, 1961; Hogedoorn, 1965; Anand Kumar, 1968].

V našej práci sa zaoberáme účinkom extrahypofýzového hormónu PMSG a agelínu na endodým oviec, ktoré pred pokusom boli v období fyziologického anestrusu.

MATERIÁL A METÓDA

Pokus sme robili na 15 bahničiach vo veku dvoch až troch rokov. Deviatim bahničiam sme aplikovali agelínové vaginálne hubky s obsahom 20 mg meten-chlormadinonu (chlorsuperlutinu). 13. deň sme hubky vybrali a podali sme i. m. prvej skupine (tri bahnice) 750 I. U. PMSG (Antex Leo, Denmark), druhej skupine (tri bahnice) 1000 I. U. PMSG; ostatné tri ovce ostali bez podania PMSG. Všetky tieto ovce sme usmrtili 30 až 35 hodín po zistení ruje baranom hľadačom. Spolu s pokusnými zvieratami boli usmrtené aj ďalšie bahnice (šesť kusov), ktoré slúžili ako kontrola. Všetky kontrolné ovce, ale aj tie, ktoré boli dané do pokusu, sme spracovali v období, v ktorom sme predpokladali, že sa nachádzajú vo fyziologickom anestruse. Nález na vaječníkoch štyroch kontrolných oviec nám tento stav potvrdil.

Bezprostredne po vykvrvení sme mozgy 13 bahníč perfundovali 2% pufrovaným paraformaldehydrom (pH 7,4) a po vybratí z lebečnej dutiny dofixovali v tom istom roztoku alebo v pufrovanom pikroformole. Parafínové rezy sme farbili hematoxylín-eozínom. Čerstvé neperfundované mozgy dvoch kontrolných oviec sme narezali na platničky hrubé asi 0,5 cm a impregnovali metódou podľa Golgi-Coxa (Gabe, 1976).

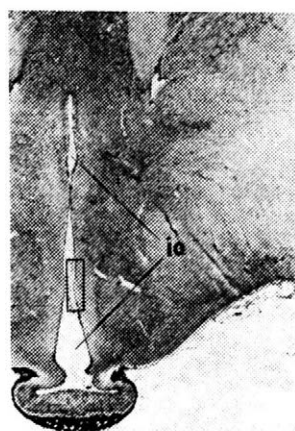
Pri hodnotení všetkých výsledkov sme sa zamerali predovšetkým na infundibulárnu oblasť tretej mozgovej komory (obr. 1/a), ktorú sme pre lepšiu interpretáciu rozdelili na hornú, strednú a ventrálnu tretinu.

VÝSLEDKY

U štyroch kontrolných anestrických bahníč sa v stene hornej tretiny nachádza jedna vrstva typicky kubických, pravidelne usporiadaných endodýmových buniek, ktoré majú okrúhle jadrá (obr. 2). Laterálnu stenu strednej tretiny infundibulárnej oblasti vystielajú vysoké cylindrické endodýmocyty (obr. 3) s pozdĺžne oválnym jadrom. Vo ventrálnej tretine (*recessus infundibuli*) sú telá endodýmových buniek (ide už o oblasť tanycytov) malé, oválne až okrúhle, usporiadané do dvoch, najviac štyroch vrstiev. Tvar bunečných jadier je okrúhly (obr. 4).

Po impregnovaní v hornej tretine infundibulárnej oblasti na apikálnom konci endodýmocytov vidieť niekoľko cilií, z bazálnej časti vystupujú dva až tri krátke jemné výbežky. Postupne sa ventrálne jeden z výbežkov predlžuje. Takéto bunky (obr. 5) majú charakter nielen oby-

1. Priečný prierez vedený infundibulárnou oblasťou tretej mozgovej komory ovce s označeným miestom ependýmu, na ktorom sa najzreteľnejšie prejavil účinok podaných hormonálnych prípravkov (zväčšenie 32 : 1) — The infundibular region of the third cerebral ventricle of sheep in section, with the indication of the place in the ependyma where the action of the administration of hormonal preparations was most pronounced (magnif. 32 : 1)

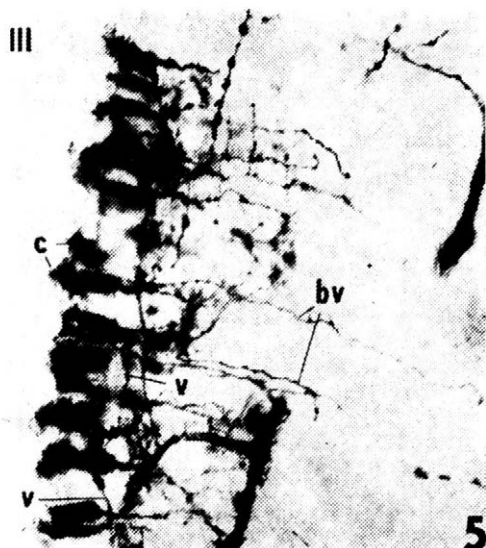


2. Kubický pravidelne usporiadaný ependým hornej tretiny infundibulárnej oblasti kontrolnej ovce (zväčšenie 100 : 1) — Regularly arranged cubic ependyma in the upper third of the infundibular region of control ewe (magnif. 100 : 1)



3. Časť cylindrického ependýmu zo strednej tretiny infundibulárnej oblasti kontrolnej ovce (zväčšenie 630 : 1) — A part of cylindrical ependyma from the middle third of the infundibular region of control ewe (magnif. 630 : 1)

4. Viacvrstvový tancytový ependým v *rec. infundibuli* kontrolnej ovce (zväčš. 100 : 1) — A multi-layer tanyocyte ependyma in the *rec. infundibuli* of control ewe (magnif. 100 : 1)



5. Skupina ependýmových buniek prechodného typu s ciliami (c), dvoma až tromi krátkymi výbežkami (v) a jedným dlhým bazálnym výbežkom (bv) (Golgi-Cox, zväčš. 160 : 1) — A group of ependymal cells of transient type with cilia (c), two to three short processes (v) and one long basal process (bv) (Golgi-Cox) (magnif. 160 : 1)

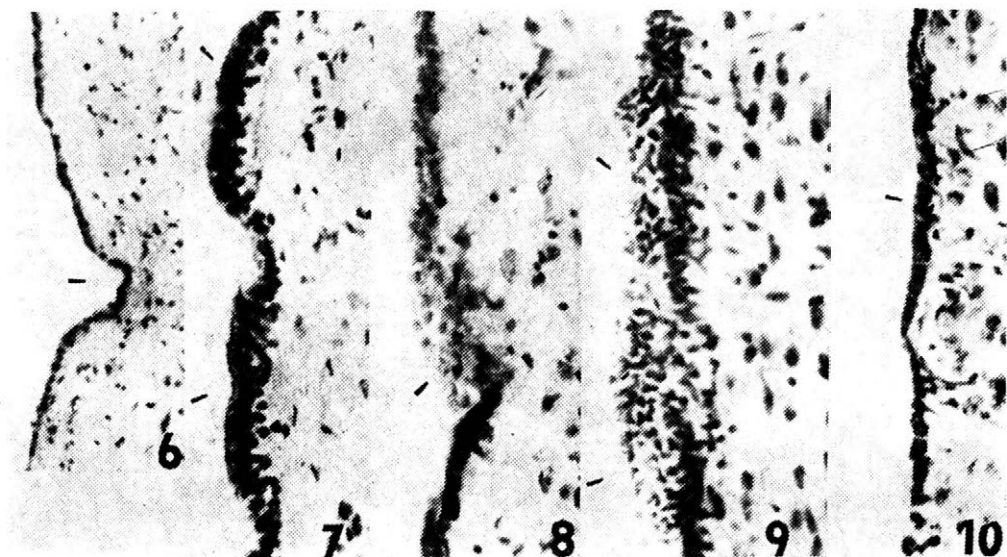
čajného ependýmocyty (cília a asi dva krátke výbežky), ale aj tanycytu (dlhý bazálny výbežok). Typické tanycyty bez cilií a s jedným dlhým výbežkom sa vyskytujú len vo ventrálnej tretine skúmanej oblasti.

POKUSNÉ BAHNICE

13. deň po podaní 20 mg agelínu vo forme vaginálnych hubiek nie je už ependým hornej tretiny infundibulárnej oblasti jednovrstvový a pravidelný, ale na mnohých miestach tvorí viacvrstvové, rôzne rozsiahle ložiská. V strednej tretine je jedna vrstva vysokých prizmatických buniek mierne zvlnená bez proliferácie, ale v *recessus infundibuli* sa na rôznych miestach nachádzajú znovu malé ložiská z hypertrofovaných buniek.

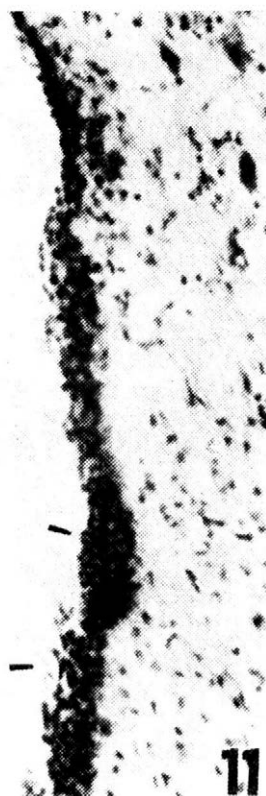
U bahníc, ktorým sme okrem agelínu podali i. m. aj 750 I. U. PMSG, je povrch ependýmu v hornej tretine infundibulárnej oblasti zvlnený (obr. 6), ojedinele možno nájsť aj miesta s viac ako jednou vrstvou kubických buniek. Najmä v kaudálnej časti strednej tretiny infundibulárnej oblasti (okrem nižších prstovitých výrastkov) je ependým zvlnený (obr. 7, zväčša ide o pseudozvrstvenie), alebo tvorí menšie ložiská s dvoma až štyrmi vrstvami buniek (obr. 8). Väčšia časť tanycytového ependýmu vo ventrálnej tretine sa od kontrol líši prítomnosťou malých proliferovaných okrskov (obr. 9, 10).

Po aplikácii 1000 I. U. PMSG a 20 mg agelínu má horná tretina ependýmu infundibulárnej oblasti, okrem ojedinelých proliferovaných ložísk (obr. 11), podobnú stavbu ako u kontrolných bahníc. Stredná tre-



6—10. Details ependýmu z hornej tretiny (obr. 6), strednej tretiny (obr. 7, 8) infundibulárnej oblasti a z *rec. infundibuli* (obr. 9, 10), na ktorých je zrejma reakcia po aplikácii 20 mg agelínu a 750 I. U. PMSG. Zmenené časti sú označené šípkami (zväčš. 100 a 160 : 1) — Details of the ependyma from the upper third (Fig. 6), middle third (Figs. 7, 8) of the infundibular region and from *rec. infundibuli* (Figs. 9, 10) where a reaction to the administration of 20 mg Ageline and 750 I. U. PMSG can be seen. The lesions are indicated by arrows (magnif. 100 and 160 : 1)

11. Časť ependýmu a hornej tretiny infundibulárnej oblasti ovce. Po aplikácii 20 mg agelínu a 1000 I. U. PMSG je zrejmä ložisková proliferácia a deskvamácia povrchových buniek (šípky) — (zväčš. 160 : 1) — A part of the ependyma from the upper third of the infundibular region of ewe. The administration of 20 mg Ageline and 1000 I. U. PMSG caused visible deposit-like proliferation and desquamation of surface cells (arrows) — (magnif. 160 : 1)

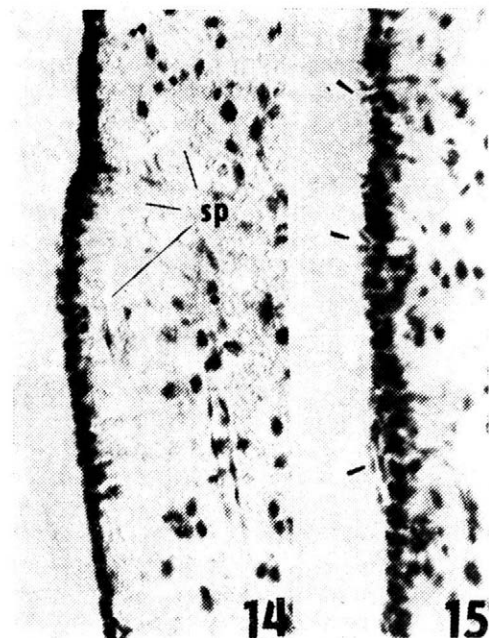


tina poskytla variabilnejší histologický obraz. Okrem ojedinelých, ale nápadne veľkých prstovitých výrastkov vyčnievajúcich do lúmenu komory (obr. 12), možno tu nájsť aj väčšie serózne infiltrácie subependýmu (obr. 14) alebo zmnoženie ependýmových buniek na dve vrstvy, v ložiskách aj na štyri až šesť vrstiev (obr. 13).

V prípadoch, kedy došlo (nezávisle od množstva podanej látky alebo kombinácie) k viac alebo menej rozsiahlejšiemu zmnoženiu buniek, sa povrchová vrstva z nich temer vždy deskvamuje a uvoľňuje do cerebrospínálneho moku (obr. 15).

12—13. Rozsiahle prstovité útvary (obr. 12) alebo erodovaný povrch ependýmu s ložiskami silne zmnožených buniek (obr. 13) po podaní 20 mg agelínu a 1000 I. U. PMSG v strednej tretine infundibulárnej oblasti u ovce (zväčš. 100 a 160 : 1) — Large digital formations (Fig. 12) or eroded surface of ependyma with deposits of heavily multiplied cells (Fig. 13) after the administration of 20 mg Ageline and 1000 I. U. PMSG in the middle third of the infundibular region of ewe (magnif. 100 and 160 : 1)





14. Rozsiahlejšie infiltráty seróznej tekutiny (sp) v subependýme strednej tretiny infundibulárnej oblasti u ovce po aplikácii 20 mg agelínu a 1000 I. U. PMSG (zväčš. 160 : 1) — Large infiltrates of serous fluid (sp) in the subependyma of the middle third of the infundibular region of ewe treated with 20 mg Ageline and 1000 I. U. PMSG (magnif. 160 : 1)

15. Tancytový endepým z *rec. infundibuli* ovce po podaní 20 mg agelínu a 1000 I. U. PMSG s drobnými ložiskami zmnožených buniek, ale aj deskvamujúcich buniek (zväčš. 160 : 1) — Tanyctote ependyma from *rec. infundibuli* in ewe given 20 mg Ageline and 1000 I. U. PMSG with small deposits of multiplied cells and also desquamated cells (magnif. 160 : 1)

DISKUSIA

Výsledky nášeho sledovania endepýmu infundibulárnej oblasti tretej mozgovej komory u kontrolných oviec ukazujú na regionálnu variáciu v jeho stavbe, a to aj v rámci jednej oblasti. Od hornej tretiny sa postupne k ventrálnej tretine vonkajšia stavba a vzhľad endepýmových buniek menia. Podobné údaje [najmä u potkana] zaznamenali viacerí autori, napr. Schachenmayer (1967), Brawer a i. (1974), Jennes a i. (1977).

Z morfológického hľadiska je u ovce zaujímavá prítomnosť prechodného typu endepýmu k charakteristickým tancytom, ktoré sa objavujú bezprostredne nad infundibulom. Prechodný typ buniek má znaky obyčajných, ale aj tancytových endepýmových buniek. U ovce sa o tomto type nezmieňujú Staníková a i. (1980), ale ani Millhouseová (1971) a Bruni (1983) u potkana.

Endepým bahníc charakteristicky reagoval na aplikáciu hormonálnych preparátov — PMSG a agelínu, ktoré sa používajú pri synchronizácii na vyvolanie estru alebo superovulácie. Na rozdiel napr. od potkana (Weiner a i., 1972; Ondo a i., 1973; Uemura a i., 1975) spôsobil u oviec PMSG v kombinácii s agelínom (ale aj samotný agelín) zmeny nielen v oblasti typických tancytov, ale aj v celom rozsahu infundibulárnej oblasti, najmä v jej kaudálnej polovici. Táto reakcia bola najcharakteristickejšia v strednej tretine práve v mieste, ktorého stenu vystieľala impregnáciou zistený prechodný typ buniek. Na tom istom mieste našli Anand Kumar (1968) a Knowles a Anand Kumar (1969) u makaka charakteristickú stavbu týkajúcu sa sexuálneho dimorfizmu, ale aj zmien počas reprodukčného cyklu.

Histologický obraz endepýmu oblasti infundibula u bahníc bol výraznejší po aplikácii PMSG s agelínom ako po podaní len agelínu. Aj

keď tieto hormóny spôsobujú ovuláciu až superovuláciu, nami uvedený histologický obraz v ependýme nie je však možné v plnom rozsahu stotožniť s ependýmom oviec usmrtených počas estru, ktorý prebiehal prirodzeným spôsobom (Rajtová, 1985).

Exogénny extrahypofýzový hormón PMSG pôsobí na stereogénu ovárií, ale aj priamo na hypothalamické jadrá a ich gonadotropné receptory cestou spätných väzieb. Pretože ependým v oblasti stredného hypothalamu citlivo reaguje na všetky pochody súvisiace so sexuálnou činnosťou za prirodzených podmienok, odozvu na ňom našlo aj pôsobenie aplikovaných hormónov najpravdepodobnejšie až sekundárne cez hypothalamus alebo ováriá.

Zmnoženie ependýmových buniek, spojené s deskvamáciou povrchových vrstiev, môže poukazovať na zvýšenú sekréčnú činnosť aj napriek tomu, že sme zmnoženie sférických štruktúr nepozorovali, tak ako napr. Booz (1975) u potkana, čo považuje za produkt sekréčnej činnosti ependýmu.

Literatúra

- AKMAYEV, I. G. — FIDELINA, O. V.: Morphological aspects of the hypothalamic-hypophyseal system. VI. Tanycytes: The relation to the sexual differentiation of the hypothalamus. An enzyme-histological study. *Cell and Tissue Res.*, 173, 1976, s. 407-416.
- ANAND KUMAR, T. C.: Sexual differences in the ependyma lining the third ventricle in the area of the anterior hypothalamus of the adult Rhesus monkeys. *Z. Zellforsch.*, 90, 1968, s. 28-36.
- BOOZ, K. H.: Secretory phenomena at the ependyma of the IIIrd ventricle of the embryonic rat. *Anat. Embryol.*, 147, 1975, s. 143-159.
- BRAWER, J. R. — LIN, P. S. — SONNENSCHNEIDER, C.: Morphological plasticity in the wall of the third ventricle during the estrus cycle in the rat: A scanning electron microscopic study. *Anat. Rec.*, 179, 1974, s. 481-490.
- BRUNI, J. E. — CLATTENBURG, R. E. — MILLAR, E.: Tanycyte ependymal cells in the third ventricle of young and adult rats: A Golgi study. *Anat. Anz.*, 153, 1983, s. 53-68.
- CRAMER, O. M. — BARRACLOUGH, CH. A.: Failure to detect luteinizing hormone-releasing hormone in third ventricle, cerebral and spinal fluid under a variety of experimental conditions. *Endocrinology*, 96, 1975, s. 913-921.
- GABE, M.: Histological techniques. New York — Heidelberg — Berlin, 1976. 1106 s.
- HOGEDOORN, J.: Seasonal changes in the ependyma of the third ventricle of the skunk, *Mephitis mephitis nigra*. *Anat. Rec.*, 151, 1965, s. 453-454.
- JENNES, L. — SIKORA, K. — SIMONSBERG, P. — ADAM, H.: Venticuläre Topographie des diencephalen Ependyms bei *Rattus rattus* (L.) — eine rasterelektron-mikroskopische Untersuchung. *J. Hirnforsch.*, 18, 1977, s. 501-520.
- KNOWLES, F. C. W. — ANAND KUMAR, T. C.: Structural changes, related to reproduction in the hypothalamus and in the *pars tuberalis* of the rhesus monkey. *Philipp. Trans.*, B 256, 1969, s. 357-375.
- KOBAYASHI, H. — MATSUI, I. — ISHII, S.: Functional electron microscopy of the hypothalamic median eminence. *Int. Rev. Cytol.*, 29, 1970, s. 281-381.
- LEVEQUE, T. F. — HOFKIN, G. A.: Demonstration of an alcohol-chloroform insoluble, periodic-acid-Schiff reactive substance in the hypothalamus of the rat. *Z. Zellforsch.*, 53, 1961, s. 185-191.
- MILLHOUSE, O. E.: A Golgi study of third ventricle tanycytes in the adult rodent brain. *Z. Zellforsch.*, 121, 1971, s. 1-13.
- NOZAKI, M.: Tanycyte absorption affected by the hypothalamic differentiation

in japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. Cell and Tissue Res., 163, 1975, s. 433-445.

ONDO, J. G. — ESKAY, R. I. — MICAL, R. S. — PORTER, J. C.: Release of LH by LRF injected into the CSF: A transport role for the median eminence. Endocrinology, 93, 1973, s. 231-237.

RAJTOVÁ, V.: Ependým ovce: vekové zmeny a sexuálna diferenciácia. 1985 (pripravené do tlače).

SCHACHENMAYR, W.: Über die Entwicklung von Ependym und Plexus choroideus der Ratte. Z. Zellforsch., 77, 1967, s. 25-63.

STANÍKOVÁ, A. — ARENDARČÍK, J. — MARAČEK, I.: Typy ependýmu III. mozgové komory u ovce a ich lokalizácia pomocou segmentovej analýzy. Veter. Med. (Praha), 25, 1980, s. 705-715.

UEMURA, H. — ASAI, I. — NOZAKI, M. — KOBAYASHI, H.: Ependymal absorption of luteinizing hormone-releasing hormone injected into the third ventricle of the rat. Cell and Tissue Res., 160, 1975, s. 443-452.

WEINER, R. I. — TERKEL, J. — BLAKE, C. A. — SCHALLY, A. V. — SAUYER, C. H.: Changes in serum luteinizing hormone following intraventricular and intravenous injections of luteinizing hormone-releasing hormone in the rat. Neuroendocrinology, 10, 1972, s. 261-272.

WITTKOWSKI, W.: Ependymocrimie und Rezeptoren in der Wand des Recessus infundibularis der Maus und ihre Beziehung zum kleinzelligen Hypothalamus. Z. Zellforsch., 93, 1969, s. 530-546.

Došlo dňa 7. 6. 1984

РАЙТОВА, В. — АРЕНДАРЧИК, Я. — СТАНИКОВА, А. (Институт ветеринарии, Кошице). Морфологическая картина эпендимы третьей мозговой камеры у овцематок после гормональной стимуляции. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 301-310.

Прослеживали работу эпендима в инфундибулярной области третьей мозговой камеры. Агелиновые тампоны (20 мг/гол.) вводили 9 овцам. На 13-й день после изъятия тампонов трем овцам ввели внутримышечно 750 I. U. PMSG, другим трем — 1000 I. U. PMSG и еще трем не вводили. Контролем служили 6 овец. Материал от 4 контрольных и всех подопытных овец окрашивали после заливки в парафин гематоксилин-эозином, а от других двух контрольных овец импрегнировали по методу Голги-Кокса. Эпендима анестрических маток в инфундибулярной области однослойная, кубическая или цилиндрическая и лишь в recessus infundibuli он образует 2—4 слоя. После дачи агелина или же в комбинации с PMSG можно установить реакцию эпендимы по всей высоте инфундибулярной области третьей камеры, она наибольшая, однако, в каудальной части ее средней трети — там, где у контроля после импрегнирования обнаружили какой-то переходный тип эпендимных клеток к теницитам (у них есть цилии, 1—2 коротких и 1 длинный ростки). После дачи агелина в средней трети эпендимовой клетки они возрастают, как в период анестра. Введение 20 мг агелина и 750 I. U. PMSG в средней части инфундибула ведет к появлению ниспих пальцевидных отростков, а эпендим становится волнистым (это — ложное расслоение) или же в нем можно обнаружить малые очаги размножившихся клеток. После введения 20 мг агелина и 1000 I. U. PMSG в средней трети — помимо субэпендимного сывороточного инфильтрата — появляются и обширные пальцевидные отростки, заполненные, по-видимому, сывороточной жидкостью, а также эрозированная поверхность субэпендимы и эпендимы с разными по высоте пролиферированными очагами эпендимовых клеток. Везде, где возникает пролиферация, верхний слой эпендимцитов десквамируется в цереброспинальную жидкость. Гистологическая картина свидетельствует, очевидно, о повышенной секреторной активности эпендимовых клеток после дачи гормональных препаратов. Результаты разработок подтверждают участие эпендимы в гипоталамо-типофизарном регулировании половой деятельности овец.

центральная нервная система; эпендима; PMSG и агелин; овца

RAJTOVÁ, V. — ARENDARČIK, J. — STANÍKOVÁ, A. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Morphological Picture of the Ependyma of the Third Cerebral Ventricle in Ewes after Hormonal Stimulation*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 301-310.

The ependyma in the infundibular region of the third cerebral ventricle was studied. Ageline sponges (20 mg per animal) were applied to nine ewes. On the thirteenth day after the removal of sponges, 750 I. U. PMSG was administered intramuscularly to three ewes, 1000 I. U. PMSG to another three, and the remaining three ewes were left without this treatment. Six ewes were the control. After embedding in paraffin, the material obtained from four control sheep and all the test sheep was stained with haematoxylin-eosine, material from another two control animals was impregnated by the method after Golgi-Cox. The ependyma in the infundibular region of anoestric ewes has a single layer and is cubic to cylindrical; it is only in the *recessus infundibuli* that it forms two to four layers. After the administration of Ageline, or in combination with PMSG, ependyma can be observed to react within the whole infundibular region of the third cerebral ventricle, but the most expressive reaction is recorded in the caudal part of the middle third of infundibulum where a transient type of cells (between ependymal cells and tanocytes) was found in the control animals after impregnation (they have cilia and one to two short and one long processes). After Ageline administration, ependymal cells in the middle third stretch out like in the anoestric period. The administration of 20 mg Ageline and 750 I. U. PMSG gave rise to low digital excrescences, the ependyma is undulated (pseudo-stratified) or contains small deposits of multiplied cells. After the administration of 20 mg Ageline and 1000 I. U. PMSG, the middle third contained, besides subependymal serous infiltrate, also large digital excrescences, probably filled with a serous fluid, and the surface of the subependyma and ependyma is eroded, containing proliferated deposits of ependymal cells of different thickness. Everywhere proliferation occurs, the surface layer of ependymocytes is desquamated into the cerebrospinal fluid. The histological picture described in the present paper probably suggests an increased secretory activity of ependymal cells after the administration of hormonal preparations. It is confirmed by these results that ependyma is involved in the hypothalamo-hypophyseal control of the sexual activity of sheep.

central nervous system; ependyma; PMSG and Ageline; sheep

RAJTOVÁ, V. — ARENDARČIK, J. — STANÍKOVÁ, A. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Morphologisches Bild des Ependymes der dritten Gehirnkammer bei Mutterschafen nach der Hormonalstimulierung*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 301-310.

Wir orientierten uns auf das Studium des Ependymes im infundibularen Teil der dritten Gehirnkammer. 9 Mutterschafen applizierten wir Agelintampons (20 mg/Stück). 13 Tage nach der Entfernung der Tampons applizierten wir drei Tieren i. m. 750 I. U. PMSG, den weiteren drei Tieren dann 1000 I. U. PMSG und drei Mutterschafe blieben ohne PMSG. Sechs Mutterschafe dienten als Kontrolle. Das von vier Kontroll- und allen Versuchsschafen gewonnene Material färbten wir nach dem Eingießen ins Paraphin mit Haematoxyllin-Eosin, das von weiteren zwei Kontrollschafen gewonnene Material imprägnierten wir nach der Golgi-Coxa-Methode. Das Ependym der anoestrischen Schafe ist im infundibularen Teil einschichtig kubisch bis zylindrisch, nur im *recessus infundibuli* bildet es zwei bis vier Schichten. Nach der Verabreichung von Agelin oder in Kombination mit dem PMSG zeigt sich eine Reaktion des Ependyms im Umfang der Gesamthöhe des infundibularen Teiles der dritten Gehirnkammer, die höchste zeigt sich aber im kaudalen Teil des mittleren Drittels, dort, wo wir bei den einzelnen Kontrollen nach der Imprägnation einen vorübergehenden Typ der Ependymzellen zu Tanyzyten beobachten konnten (sie haben Cilia, einen bis zwei kurze und einen langen Ausläufer). Nach der Verabreichung von Agelin vermehren sich im mittleren Drittel die Ependymzellen wie im Anoestrus. Die Applikation von 20 mg Agelin und von 750 I. U. PMSG im mittleren Teil von Infundibulum hatte das Auftreten von niedrigeren fingerartigen Ausläufern zur Folge. Das Ependym ist gewellt (es handelt sich um eine Pseudoschichtung) oder es sind darin kleine Herde von vermehrten Zellen zu finden. Nach der Applikation von 20 mg Agelin und von 1000 I. U. PMSG

zeigen sich im mittleren Drittel neben dem Subependymsereninfiltrat auch umfangreiche fingerartige Auswüchse, die höchstwahrscheinlich mit einer serösen Flüssigkeit ausgefüllt sind und die erodierte Oberfläche des Subependyms und des Ependyms mit unterschiedlich hohen proliferierten Herden von Ependymzellen. Überall dort, wo es zur Proliferation kommt, kommt es auch zur Desquamation der Oberflächenschicht der Ependymzyten in die Zerebrospinalflüssigkeit. Das histologische Bild, dessen Beschreibung wir in der Arbeit anführen, deutet wahrscheinlich auf eine erhöhte Sekretionsaktivität der Ependymzellen nach der Verabreichung der Hormonalpräparate. Die Ergebnisse unserer Arbeit bestätigen die Mitwirkung von Ependym an der hypothalamo-hypophysären Regelung der Geschlechtstätigkeit der Schafe.

zentrales Neurosystem; Ependym; PMSG und Agelin; Schaf

Adresa autorov:

MVDr. Viera Rajtová, CSc., prof. dr. Jozef Arendarčík, DrSc., RNDr. Angelika Staníková, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

VLIV RADIAČNÍ STERILIZACE NA PROTEINOVOU SLOŽKU MLÉČNÉ KRMNÉ SMĚSI SELASAN

M. Toulová, I. Herzig, B. Písaříková, J. Hampl, V. Zezula

TOULOVÁ, M. — HERZIG, I. — PÍSAŘÍKOVÁ, B. — HAMPL, J. — ZEZULA, V. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Vliv radiační sterilizace na proteinovou složku mléčné krmné směsi Selasan*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 311-319.

Sledovali jsme změny proteinové složky mléčné krmné směsi (MKS) Selasan po ozáření ^{60}Co dávkou 25 kGy a během devadesátidenního skladování. Obsah dusíkatých látek se po ozáření ani po dobu skladování směsi téměř neměnil. Koeficienty stravitelnosti dusíkatých látek *in vitro* byly nezměněny. Celkové množství aminokyselin bylo v ozářeném vzorku o $5,8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ nižší. Příznivé je zjištění téměř shodných hladin esenciálních aminokyselin lyzinu a metioninu před ozářením a po něm. Obsah doplňkového lyzinu se ozářením snížil o 6 až 9 %. Další ukazatele narušení proteinu (amoniak, veškerá kyselost, ukazatel formolové titrace) nebyly závažně ovlivněny.

stravitelnost dusíkatých látek; aminokyseliny; doplňkový lyzín; narušení proteinu; výživa selat

Odchov raně odstavených selat v repopulačních stanicích je součástí ověřovaného ozdravovacího programu chovu prasat. Předpokládá se, že se bude dodržovat mnoho přísných veterinárně hygienických opatření. Požadavkem je i zajistit plnohodnotnou výživu, v první fázi odchovu selat zbařenou mikroorganismů podléjících se na rozvoji průjmových onemocnění a stájových nákaz.

Z možných způsobů mikrobiální dekontaminace krmiva byla zvolena sterilizace ionizujícím zářením, jež má proti sterilizaci tepelné a chemické jisté přednosti. Tepelným ošetřením je vedle dalších složek zpravidla porušen i protein krmiva. Ionizující záření bylo v tomto směru shledáno jako šetrnější (FAO/IAEA, 1979). Celkový obsah dusíkatých látek není po dávce 50 i 100 kGy ovlivněn (Harmuth-Hoene a Partmann, 1976; Ford, 1979a; van Kooij, 1979). Stravitelnost dusíkatých látek rybích mouček, stanovená *in vitro* po ozáření 50 kGy, neprokázala patrné rozdíly proti moučkám neošetřeným (Harmuth-Hoene a Partmann, 1976), stravitelnost dusíkatých látek krmných směsí po stejné dávce byla shodná, popřípadě o 2 až 5 % vyšší (van Kooij, 1979).

Biologická hodnota bílkovin (BHB) klesla (relativně) po tepelné sterilizaci krmiva při teplotě 130°C po dobu 30 minut o 14 % a netto využití dusíkatých látek (NPU) krmiva laboratorními zvířaty o 19 % (Eggum, 1969). Ford (1979a) udává snížení BHB až o 30 % a NPU až o 50 % po sterilizaci při teplotě 121°C po dobu 60 minut. V krmivech ošetřených ionizujícím zářením dávkou 25 kGy však oba autoři pozorovali, že se uvedené ukazatele zhoršily nejvýše o 6 %. Rovněž v krmných směsích pro prasata, ozářených dávkou 50 kGy, bylo v některých

případech nalezeno snížení BHB (1–6 %) i NPU (5 %); ve srovnání s důsledky tepelného ošetření (BHB 7–16 %, NPU 10–18 %) však bylo menší (van Kooij, 1979).

Tepelná úprava krmiv zhoršuje využitelnost některých aminokyselin *in vivo*, nejčastěji bývá uváděn lyzín a metionin. U lyzínu se při zvýšené teplotě předpokládá reakce volné 6-aminoskupiny s redukcujícími cukry nebo i produkty žluknutí tuků, u metioninu a cysteinu reakce s hydroperoxy (Pokorný a Janíček, 1976). Údaje o změnách v zastoupení aminokyselin po radiačním ošetření krmiv nejsou jednotné. Tsien a Johnson (1959) uvádějí částečnou destrukci bazických aminokyselin (lyzínu a argininu) po dávce 28 kGy. Eggum (1969) a van Kooij (1979) nepozorovali vážnější vliv záření až do dávky 70 kGy, po tepelné sterilizaci však ztráty lyzínu zaznamenali. V rybích moučkách bylo po ozáření dávkou 50 kGy zjištěno, že se snížil obsah serinu o 16 % a využitelného lyzínu o 8 až 14 % (Harmuth-Hoene a Partmann, 1976). Po radiační dávce 100 kGy se obsah využitelného lyzínu v dietě pro krysy snížil o 11 % (Ford, 1979a).

Výživa raně odstavených selat v repopulačních stanicích je zajišťována mléčnou krmnou směsí Selasan (MKS Selasan) s vysokým obsahem biologicky hodnotných bílkovin (227 g.kg⁻¹ dusíkatých látek) i tuku (200 g.kg⁻¹). Studium změn nutričních a hygienických parametrů po sterilizaci uvedené směsi ionizujícím zářením je obsahem této práce. Navazuje na dříve sledovaný problém vlivu záření na tukový podíl (Herzig aj., 1981; Toulouva aj., 1983) a dokládá rozsah změn vybraných ukazatelů proteinové složky po ozáření a v záruční době výrobku.

MATERIÁL A METODY

Vzorky dvou šarží každé komponenty, z nichž je MKS Selasan vyráběna (ON 57 0836, 1974), tzn. sušené odstředěné mléko s tukovou násadou, sušená směs kyselých syrovátky a odtučněného mléka (Sypo), torula, mouka ze lněného extrahovaného šrotu, a vzorky tří šarží MKS Selasan získané v MP Příšovice byly předmětem našich sledování.

Vzorky byly odváženy po 0,5 kg, vloženy do dvojitých sáčků z PE a uzavřeny zatažením. Jedna část vzorků byla sterilizována radiací ve Státním výzkumném ústavu textilním, Centru radiačních technologií ve Veverské Bitýšce, druhá část zůstala neošetřena. Ozáření bylo provedeno ⁶⁰Co na zařízení AECL-J-6000 kanadské výroby Atomic Energy, Ltd., dávkou 25 kGy (Olbrichová aj., 1982) během jedenácti hodin při šedesátinásobné změně polohy. Všechny vzorky byly uloženy v podmínkách běžného skladování směsí po 90 dnů (záruční lhůta MKS Selasan).

V pravidelných třicetidenních intervalech se dělaly analýzy. Celkový obsah dusíkatých látek (N-látky) a jejich stravitelnost *in vitro* byly zjišťovány podle ČSN 46 7013 (1977). Složení aminokyselin bylo stanoveno automatickým analyzátozem. Obsah amoniaku, kyselost vodního výluhu (KVV), kyselost veškerá (KV) a ukazatel formolové titrace (Z) byly stanoveny podle ČSN 46 7011 (1974).

VÝSLEDKY

KOMPONENTY

V celkovém obsahu N-látek v komponentách pro výrobu MKS Selasan nebyly patrné rozdíly mezi neozařenými a ozařenými vzorky (tab. I). Stravitelnost N-látek sušeného mléka s tukem *in vitro*, zjištěná jed-

I. Obsah dusíkatých látek v komponentách MKS Selasan (g.kg⁻¹) — The content of crude protein in the components of the Selasan milk replacer (g per kg)

	Způsob ošetření					
	neozářeno			ozářeno		
	min	max	$\bar{x}$	min	max	$\bar{x}$
Mléko s tukem	277	283	280	278	285	282
Sypo	295	302	299	295	301	298
Torula	454	464	459	450	459	455
Lněná mouka	375	379	377	373	378	376

norázově za 30 dní po ozáření, byla vyšší (86,8 %) než u neošetřeného vzorku (74,2 %). Absolutně nejnížší hodnoty amoniaku byly nalezeny u sušeného odstředěného mléka s tukovou násadou, v němž bylo po ozáření zaznamenáno zvýšení o 10 mg.kg⁻¹. Nejvyšší obsah amoniaku byl zjišťován v torule, ve třech případech byl o něco vyšší u ozářených vzorků. Řádově stejný obsah amoniaku vykázaly Sypo a lněná mouka, ale ani zde není vliv radiačního ošetření jednoznačný (tab. II). Kyselost vodního výluhu, veškerá kyselost a ukazatel formolové titrace (Z) sledovaných komponent nebyly radiační sterilizací zřetelně ovlivněny (tab. III).

MKS SELASAN

Celkový obsah dusíkatých látek MKS Selasan se po ozáření a po celou dobu skladování pohyboval v rozmezí 265 až 272 g.kg⁻¹ (průměr 268 g.kg⁻¹), v neozářených vzorcích činil 260 až 275 g.kg⁻¹ (průměr 269 g.kg⁻¹), nebyl tedy radiačním zásahem ovlivněn. V koeficientech

II. Obsah amoniaku v komponentách MKS Selasan (mg.kg⁻¹) — The content of ammonia in the components of the Selasan milk replacer (mg per kg)

Dny po ošetření	Způsob ošetření	Mléko s tukem	Sypo	Torula	Lněná mouka
0	N	61,5	512	1095	312
	R	71,3	471	1168	291
30	N	94,0	362	1240	172
	R	78,3	554	964	200
60	N		508	872	251
	R		540	1044	158
90	N	192,0	647	1488	311
	R	105,0	643	1573	325

N ... neozářeno

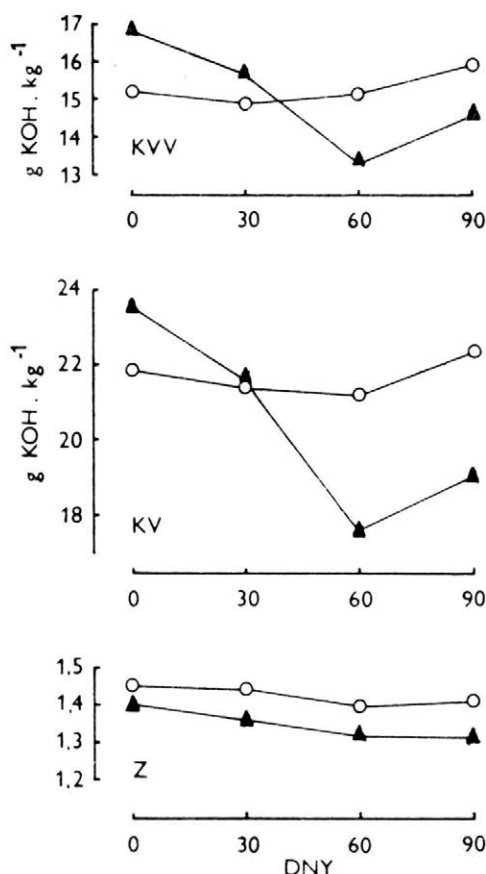
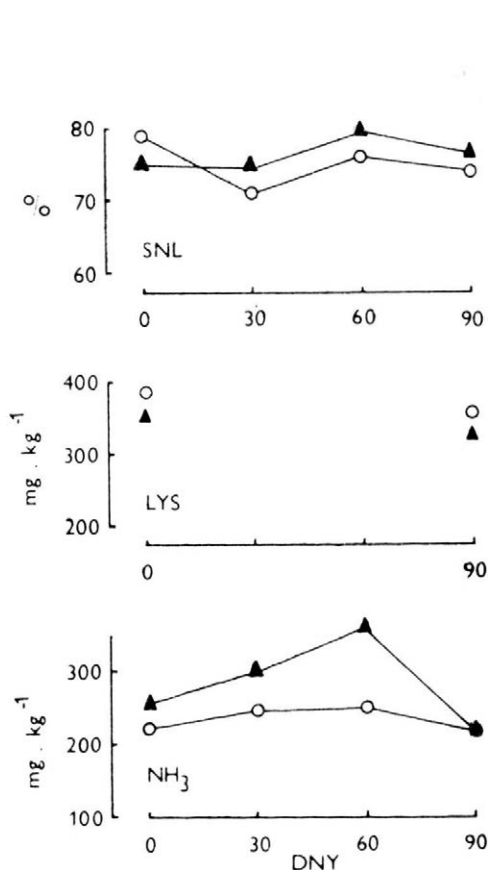
R ... ozářeno

III. Kyselost vodního výluhu, kyselost veškerá a ukazatel formolové titrace v komponentách MKS Selasan — The acidity of water extract, total acidity and the formol titration index in the components of the Selasan milk replacer

Dny po ošetření	Způsob ošetření	Mléko s tukem	Sypo	Torula	Lněná mouka
Kyselost vodního výluhu (g KOH.kg ⁻¹)					
0	N	6,58	18,12	11,63	2,67
	R	5,33	17,10	12,33	2,45
30	N	6,30	20,83	11,60	3,16
	R	6,48	20,35	11,53	2,57
60	N	6,11	20,65	11,33	4,09
	R	6,58	20,06	11,98	2,43
90	N	6,64	21,57	13,34	4,63
	R	7,09	22,44	12,95	2,74
Kyselost veškerá (g KOH.kg ⁻¹)					
0	N	13,29	23,84	20,70	4,38
	R	8,89	21,74	21,03	4,41
30	N	12,62	29,15	19,81	5,54
	R	12,92	27,17	19,76	4,22
60	N	12,48	28,81	19,78	6,71
	R	12,55	27,76	21,09	3,98
90	N	13,37	29,84	23,96	7,04
	R	13,58	30,81	22,16	4,51
Ukazatel formolové titrace					
0	N	2,02	1,37	1,78	1,68
	R	1,66	1,27	1,72	1,80
30	N	2,00	1,40	1,68	1,76
	R	1,96	1,33	1,72	1,64
60	N	2,04	1,40	1,74	1,63
	R	1,93	1,38	1,75	1,63
90	N	2,02	1,38	1,79	1,51
	R	1,91	1,37	1,71	1,65

N ... neozářeno

R ... ozářeno



1. Stravitelnost dusíkatých látek *in vitro* (SNL), obsah doplňkového lyzinu (LYS) a amoniaku (NH₃) v mléčné krmné směsi Selasan neožárené (○) a po ozáření (▲) — The in-vitro digestibility of crude protein (SNL), the content of supplemental lysine (LYS) and ammonia (NH₃) in the Selasan milk replacer before (○) and after irradiation (▲)

2. Kyselost vodního výluhu (KVV), kyselost veškerá (KV) a ukazatel formolové titrace (Z) mléčné krmné směsi Selasan neožárené (○) a po ozáření (▲) — The acidity of water extract (KVV), total acidity (KV), and the formol titration index in the Selasan milk replacer before (○) and after irradiation (▲)

stravitelnosti dusíkatých látek MKS Selasan *in vitro* nebyly nalezeny patrné změny po ozáření ani po 90denním skladování (obr. 1).

Celkové množství aminokyselin v ozářeném vzorku MKS Selasan je o 5,8 g . kg⁻¹ nižší než ve vzorku neožářeném, postiženy byly zejména izoleucin, treonin, tyrozin, leucin a kyselina glutamová (tab. IV). Nebylo pozorováno narušení esenciálních aminokyselin lyzinu a metioninu, jejich hladiny před ozářením a po něm byly téměř totožné. Ztráty volného (doplňkového) lyzinu ozářením činily u jednotlivých šarží MKS Selasan 6 až 9 % (obr. 1). Úbytek zjištěný při skladování směsi představuje u neožářených i ozářených vzorků zhruba 7 %.

Obsah amoniaku v MKS Selasan byl změněn bezprostředně po radiční sterilizaci a rozdíl proti neožářeným vzorkům se po dva měsíce skladování poněkud zvyšoval (obr. 1). Zjištěné nálezy kyselosti vodního výluhu nepřekračují hodnotu povolenou ON 57 0836 (1974) (125 ml 0,25 N . 100 g⁻¹ = 17 532 mg KOH . kg⁻¹), a to jak u ošetřených, tak

IV. Složení aminokyselin MKS Selasan — The amino acid composition of the Selasan milk replacer

	Způsob ošetření			
	neozářeno		ozářeno	
	g . kg ⁻¹	index	g . kg ⁻¹	index
ASP	21,5	100	21,1	98
THR	12,2	100	11,6	95
SER	14,7	100	14,8	101
GLU	59,7	100	58,1	97
PRO	25,2	100	25,2	100
GLY	5,9	100	5,8	98
ALA	9,6	100	9,4	98
CYS	2,2	100	2,2	100
VAL	17,5	100	17,1	98
MET	6,6	100	6,6	100
ILEU	13,9	100	12,8	92
LEU	26,1	100	25,4	97
TYR	13,1	100	12,4	95
LYS	21,8	100	21,6	99
HIS	7,5	100	7,3	97
ARG	10,0	100	10,4	104
N-látky	271,4	100	269,1	99

u neošetřených vzorků (obr. 2). Veškerá kyselost se u neozářených vzorků do dvou měsíců téměř neměnila, u ozářených byla bezprostředně po sterilizaci a za 30 dní vyšší, pak klesala pod úroveň neošetřených. Ukazatel formolové titrace [Z] u ozářených i neozářených vzorků nepatrně klesá v průběhu skladování (obr. 2).

DISKUSE

Nebyly nalezeny závažné změny v ukazatelích kvality proteinové složky MKS Selasan ani komponent, způsobené radiační sterilizací. Stabílní obsah dusíkatých látek jak v MKS Selasan, tak i v komponentách po ozáření i po celou dobu skladování je v souladu s údaji, které uvádějí Harmuth-Hoene a Partmann (1976), Ford (1979a) a van Kooij (1979). V podstatě nezměněná stravitelnost dusíkatých látek v MKS Selasan *in vitro* rovněž odpovídá údajům těchto autorů, zatímco po tepelném ošetření byl zaznamenán pokles koeficientu stravitelnosti až o 20 % původní hodnoty (van Kooij, 1979). Stravitelnost dusíkatých látek hlavní komponenty této mléčné krmné směsi — sušeného odstředěného mléka s tukem, představující asi 85 % směsi, se po

ozáření dokonce zvýšila. Podobně to bylo pozorováno u van Kooijem (1979) v rybích moučkách. Příznivé je i zjištění, že nedošlo k odlišné tvorbě amoniaku v této komponentě, jež vnáší do směsi rozhodující podíl bílkovin. Vysoké hodnoty amoniaku byly nalezeny v torule, jejíž 4% zastoupení ve směsi však hygienické hodnocení neovlivní.

Suma aminokyselin v MKS Selasan se ozářením jen nepatrně snížila. Spolu s nezměněnou skladbou aminokyselin to rovněž svědčí, v soulase s poznatky uvedenými Fordem (1979a) a van Kooijem (1979), o stabilitě bílkovinné složky při aplikaci uvedených dávek záření. Nepozorovali jsme destrukci lyzínu a metioninu, na niž upozornili Metta a Johnson (1956) a Tsien a Johnson (1959). Při tepelném ošetření krmiv je tato destrukce značná (Eggum, 1969; Ford, 1979a). Je však třeba uvážit skutečnost, že aminokyseliny jsou stanoveny po totální hydrolýze bílkovin a zahrnují i aminokyseliny chemicky blokované, jež nejsou zvířaty využívány. V úbytku doplňkového lyzínu při skladování směsi se neprojevila zřejmá souvislost s předchozím ošetřením krmiva ozářením.

Ionizujícím ozářením vzrůstá množství oxidačních produktů tuků v krmivu (Ford, 1979b; Herzig aj., 1981), které mohou reagovat s 6-aminoskupinou lyzínu volného i vázaného v bílkovině (Pokorný aj., 1975; Pokorný a Janíček, 1976). Tím se snižuje obsah volného lyzínu i využitelnost lyzínu bílkoviny. Podobné reakce s aminokyselinou je možné očekávat i od produktů radiolýzy jednoduchých sacharidů (v MKS Selasan laktóza), jak prokázali u fruktózy a alaninu Bachman aj. (1981). Přitom nelze vyloučit, že ozářením dojde k destrukci uhlíkatého skeletu volného lyzínu. Změny využitelnosti lyzínu způsobené ozářením by si zasloužily, aby byly samostatně sledovány.

Ukazatele signalizující přítomnost rozkladných produktů bílkovin v krmivu nebyly po ozáření ani v průběhu skladování zřetelně změněné. O hydrolýze proteinu na aminokyseliny lze uvažovat, jestliže veškerá kyselost a ukazatel formolové titrace stoupají, což v případě ozáření MKS Selasan ani komponent pozorováno nebylo. Rovněž tvorba amoniaku nesevčí o závažném narušení bílkoviny. Vysoká kyselost vodního výluhu MKS Selasan proti mléku s tukem je způsobena doplňkem kyseliny citrónové v krmné směsi.

Získané výsledky potvrzují, že změny proteinové složky MKS Selasan, ošetřené ionizujícím zářením, jsou podstatně menší než při tepelné sterilizaci krmiv (Eggum, 1969; Ford, 1979a; van Kooij, 1979; FAO/IAEA, 1979), při níž se snižuje obsah i využitelnost aminokyselin. Důsledkem je pak zhoršení biologické hodnoty proteinu, které bylo pozorováno i po vyšších dávkách záření (Eggum, 1969; Ford, 1979a).

Jestliže existuje požadavek zajistit dekontaminaci diety pro výživu raně odstavených selat v repopulačních stanicích, pak zvolený způsob sterilizace ionizujícím zářením se ukazuje (ve srovnání s dokládány změnami po sterilizaci tepelné) jako přijatelný. Za určitý retardační činitel je však nutné pokládat ekonomickou stránku věci.

Literatura

- BACHMAN, S. — ŽEGOTA, A. — ŽEGOTA, H.: A non-enzymic browning induced by gamma cobalt-60 irradiation and heating in fructose-alanine model system. In: Combination process in food irradiation. Vienna, IAEA, 1981, s. 215-221.
- ČSN 46 7007. Metody zkoušení krmiv. 1966.
- ČSN 46 7011. Metody zkoušení nezávadnosti krmiv. 1974.
- ČSN 46 7013. Metody zkoušení krmných směsí. 1977.
- EGGUM, S. O.: Der Einfluss der Sterilisation auf die Proteinqualität von Futtermischungen. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde, 25, 1969, s. 204-210.
- FAO/IAEA: Summary and recommendation. In: Decontamination of animal feeds by irradiation. Vienna, IAEA 1979, s. 145-150.
- FORD, D. J.: Influence of radiation on protein and amino acids in laboratory rodent diet. In: Decontamination of animal feeds by irradiation. Vienna, IAEA 1979a, s. 69-75.
- FORD, D. J.: Observation on the influence of irradiation on fat and vitamin A in dry laboratory cat diets. In: Decontamination of animal feeds by irradiation. Vienna, IAEA 1979b, s. 77-81.
- HARMUTH-HOENE, A. E. — PARTMANN, W.: Der Proteinnährwert von strahlensterilisiertem Fischmehl. Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.-Kde, 36, 1976, s. 293-301.
- HERZIG, I. — HOLUB, A. — HAMPL, J. — TOULOVÁ, M. — KREJČÍ, P. — RAŠOVSKÁ, B. — PINKAS, F.: Změny tukové složky MKS Selasan po ozáření. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1981, 19 s.
- KOOIJ van, J. G.: Chemical and biological evaluation of the nutritive value of heat-sterilized and radappetized feed mixtures. In: Decontamination of animal feeds by irradiation. Vienna, IAEA 1979, s. 89-110.
- METTA, V. C. — JOHNSON, B. C.: The effect of radiation sterilization on the nutritive value of foods. I. Biological value of milk and beef protein. J. Nutr., 59, 1956, s. 479.
- Cit. REBER, E. F. — RAHEJA, K. — DAVIS, D.: Wholesomeness of irradiated foods. Fed. Proc., 25, 1966, s. 1566.
- OLBRICHOVÁ, D. — ZOUHAROVÁ, A. — BURIÁNKOVÁ, E.: Optimalizace sterilizační dávky. [Výzkumná zpráva.] Veverská Bítýška, Státní výzkumný ústav textilní — Centrum radiačních technologií 1982, 28 s.
- ON 57 0836. Selasan medikovaná mléčná krmná směs pro raný odstav selat. 1974.
- POKORNÝ, J. — JANÍČEK, G.: Vliv oxidace tukového podílu na nutriční hodnotu krmiv. Krmivářství, 12, 1976, č. 6, s. 131-132.
- POKORNÝ, J. — NGUYEN, T. — BULANTOVÁ, H. — HEGEDŮSOVÁ, B. — JANÍČEK, G.: Ztráty lyzinu v krmivech. Krmivářství, 11, 1975, č. 4, s. 80-82.
- TOULOVÁ, M. — HERZIG, I. — HAMPL, J. — HOLUB, A. — KREJČÍ, P. — RAŠOVSKÁ, B.: Změny tukové složky mléčné krmné směsi Selasan vyvolané radiační sterilizací. Biol. Chem. Výž. zvíř., 19, 1983, č. 4, s. 303-310.
- TSIEN, W. S. — JOHNSON, B. C.: The effect of radiation sterilization on the nutritive value of food. IV. On the amino acid composition of garden peas and lima beans. J. Nutr., 68, 1959, s. 68.
- Cit. REBER, E. F. — RAHEJA, K. — DAVIS, D.: Wholesomeness of irradiated foods. Fed. Proc., 25, 1966, s. 1566.

Došlo dne 16. 7. 1984

ТОУЛОВА, М. — ГЕРЗИГ, И. — ПИСАРЖИКОВА, Б. — ХАМПЛ, Й. — ЗЕЗУЛА, В. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): Влияние радиальной стерилизации на протеиновый компонент молочного комбикорма Селасан. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 311-319.

Определяли изменения протеинового компонента Селасана после облучения ^{60}Co дозой 25 кГи и в ходе 90-дневного хранения. В обоих случаях содержание азотистых веществ почти не менялось. Коэффициенты их переваримости *ин витро* тоже не менялись. Общее количество аминокислот в облученном образце на 5,8 г/кг меньше. В качестве положительной рассматривается приближительная схожесть уровней эссенц. аминокислот лизина и метионина до и после облучения. Содержание добавочного лизина сокращается в результате облучения на 6—9%. На другие показатели расстройств протеина (аммиак, любая кислотность, показатель формолового титра) облучение не влияет.

переваримость азотистых веществ; аминокислоты; добавочный лизин; расстройства протеина; питание поросят

TOULOVÁ, M. — HERZIG, I. — PÍSAŘÍKOVÁ, B. — HAMPL, J. — ZEŽULA, V. (Veterinary Research Institute, Brno): *The Effect of Radiation Sterilization on the Protein Component of the Selasan Milk Replacer*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 311-319.

The changes in the protein component of the Selasan milk replacer were investigated after the irradiation with 25 kGy ^{60}Co and in the course of ninety-day storage. The content of crude protein remained almost unchanged after irradiation as well as in the course of storage. The in-vitro digestibility coefficients of crude protein did not change. The total amount of amino acids in the irradiated sample was lower by 5.8 g per kg. It is a positive finding that the levels of essential amino acids (lysine and methionine) were about the same before and after irradiation. The content of supplemental lysine was reduced by irradiation by 6 to 9%. Other characteristics that might suggest protein decomposition (ammonia, total acidity, formol titration index) were not influenced to any appreciable extent.

crude protein digestibility; amino acids; supplemental lysine; protein decomposition; piglet nutrition

TOULOVÁ, M. — HERZIG, I. — PÍSAŘÍKOVÁ, B. — HAMPL, J. — ZEŽULA, V. (Forschungsinstitut für Veterinärmedizin, Brno): *Einfluß der Radiationssterilisation auf die Proteinkomponente der Milchfuttermischung Selasan*. Veter. Med. (Praha), 30, 1985 (5) : 311-319.

Wir untersuchten Veränderungen der Proteinkomponente der Milchfuttermischung (MKS) Selasan nach der Bestrahlung mit ^{60}Co mit einer Gabe von 25 kGy und während einer Lagerung von 90 Tagen. Der Gehalt an N-Stoffen wies weder nach der Bestrahlung noch während der Lagerung der untersuchten Futtermischung eine Veränderung auf. Die Verdaulichkeitskoeffizienten der N-Stoffe in vitro blieben unverändert. Die Gesamtmenge von Aminosäuren war in den bestrahlten Proben um 5,8 g $\cdot$ kg $^{-1}$ niedriger. Günstig ist die Feststellung der fast gleichen Spiegel von essenziellen Aminosäuren Lysin und Methionin vor und nach der Bestrahlung. Der Gehalt an Ergänzungslysin wurde durch die Bestrahlung um 6 bis 9% herabgesetzt. Die weiteren Faktoren der Proteinstörung (Ammoniak, Azidität, Formol-titrationsmerkmal) wurden nur geringfügig beeinflusst.

Verdaulichkeit der N-Stoffe; Aminosäuren; Ergänzungslysin; Proteinstörung; Ferkelernährung

Adresa autorů:

RNDr. Miriam Toullová, MVDr. Ivan Herzig, CSc., ing. Bohumila Písaříková, RNDr. Jaroslav Hampl, CSc., RNDr. Vlastimil Zežula, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 6/85 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- J. Hrušovský: 40. výročí vyvrcholení národně-osvobozeneckého boje a osvobození Československa Sovětskou armádou
- J. Guoth, P. Kačmár, K. Hruška, M. Teleha, M. Vasil: Dynamika exogénneho progesterónu v krvi prasiat zafažených polychlórovanými bifenylmi (PCB)
- V. Rajtová: Impregnoarchitektonické štúdium neurónov v *regio hypothalamica caudalis* ovce
- D. Veselý, D. Veselá, V. Neumannová: Produkce cyklopiazonové kyseliny, její účinky na kuřecí zárodek a na jednodenní kohoutky
- I. Literák, K. Kraml: Výskyt salmonel u volně žijících ptáků (*Passeriformes*, *Lariiformes*)
- F. Štěrba: Výskyt a sezónní dynamika yersinióz (*Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*), stafylokokózy a pasteurelózy zajíců v letech 1976 až 1982
- B. Skalcká: Aktualizované schéma pro diagnostiku stafylokoků
- B. Skalcká: Hyaluronidázový test v diagnostice stafylokoků
- F. Ništiar, J. Hrušovský, J. Mojžiš: Vplyv tepelného opracovania na biologickú hodnotu vybraných požívatín využitím testovacieho objektu — prvoka *Tetrahymena pyriformis*

OBSAH

Elečko J., Bekeová E., Maraček I., Choma J., Krajničáková M.: Korelácia medzi tyroxínom, 17beta-estradiolom, luteinizačným hormónom v systémovej obehu a rektálnou i vaginálnou teplotou jalovic a kráv po podaní cloprostenolu	257
Bobáková M., Lešník F., Vrtiak O. J.: Testovanie vnímavosti bunkových kultúr k infekcii vírusom bovinnej leukózy	267
Lebeda M., Buš A.: Sezónní změny koncentrace celkové bílkoviny krevní plazmy krav v různých fázích mezidobí	275
Kozumplik J.: Kvalitativní změny a fertilizační schopnost spermií po šestiletém uchovávání semene kance	289
Rajtová V., Arendarčík J., Staníková A.: Morfologický obraz ependýmu tretej mozgovej komory u bahnic po hormonálnej stimulácii	301
Toulová M., Herzig I., Písaříková B., Hampl J., Zezula V.: Vliv radiační sterilizace na proteinovou složku mléčné krmné směsi Selasan	311

СОДЕРЖАНИЕ

Элечко Я., Бекеова Э., Марачек И., Хома Я., Крайничакова М.: Корреляция между тироксином, 17 бета-эстрадиолом, ЛГ в системном обращении, ректальной и вагинальной температурами нетелей и коров после подачи клопростенола	257
Бобакова М., Лешник Ф., Вртиак О. Я.: Проверка восприимчивости тканевых культур к инфекции вирусом бычьего лейкоза	267
Лебеда М., Буш А.: Сезонные изменения концентрации общего белка плазмы крови у коров в разных фазах промежуточного периода	275
Козумплик Я.: Качественные изменения и фертилизационная способность спермы после шестилетнего хранения семени хряка	289
Райтова В., Арендарчик Й., Станикова А.: Морфологическая картина эпендимы третьей мозговой камеры у овцематок после гормональной стимуляции	301
Тоулова М., Герзиг И., Писаржилова Б., Хампл Й., Зезула В.: Влияние радиальной стерилизации на протеиновый компонент молочного комбикорма Селасан	311

CONTENTS

Elečko J., Bekeová E., Maraček I., Choma J., Krajničáková M.: Correlations between Thyroxine, 17beta-oestradiol, LH in the System Circulation and the Rectal and Vaginal Temperature of Heifers and Cows after Cloprostenol Administration	257
Bobáková M., Lešník F., Vrtiak O. J.: Testing Cell Culture Susceptibility to Infection with Bovine Leucosis Virus	267
Lebeda M., Buš A.: Seasonal Changes in the Concentration of the Total Blood Plasma Protein of Cows at Different Stages of Calving Interval	275
Kozumplik J.: The Qualitative Changes and Fertilizing Capacity of Boar Spermatozoa after Six-Year Storage of Semen	289
Rajtová V., Arendarčík J., Staníková A.: Morphological Picture of the Ependyma of the Third Cerebral Ventricle in Ewes after Hormonal Stimulation	301
Toulová M., Herzig I., Písaříková B., Hampl J., Zezula V.: The Effect of Radiation Sterilization on the Protein Component of the Selasan Milk Replacer	311

INHALT

Elečko J., Bekeová E., Maraček I., Choma J., Krajničáková M.: Korrelationen zwischen Tyroxin, 17Beta-Östradiol, LH im Systemumlauf und in der Rektal- und Vaginaltemperatur der Färsen und Kühe nach Verabreichung von Cloprostenol	257
Bobáková M., Lešník F., Vrtiak O. J.: Testen der Empfindlichkeit der Zellkulturen gegen Infektion durch den Virus der Rinderleukose	267
Lebeda M., Buš A.: Saisonbedingte Änderungen der Konzentration der Gesamtproteine im Blutplasma der Kühe in verschiedenen Phasen der Zwischenkalbezeit	275
Kozumplík J.: Qualitative Veränderungen und Fertilisierungsfähigkeit der Spermien nach sechsjähriger Aufbewahrung von Ebersamen	289
Rajtová V., Arendarčík J., Staníková A.: Morphologisches Bild des Ependymes der dritten Gehirnkammer bei Mutterschafen nach der Hormonalstimulierung	301
Toulová M., Herzig I., Písaříková B., Hampl J., Zezula V.: Einfluß der Radiationssterilisation auf die Proteinkomponente der Milchfuttermischung Selasan	311

Rukopisy odevzdány k tisku 1. 2. 1985 — Podepsáno k tisku 2. 4. 1985

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Kubánská 1539, 708 72 Ostrava-Poruba. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6. Vytiskl MÍR, novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2.