

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

4

ROČNÍK 34 (LXII)
PRAHA
DUBEN 1989
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádko, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., doc. MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíková

OBSAH

Struháriková J., Slivka P., Slanina L., Soták D., Elbertová A., Polahár P.: Perorálna aplikácia síranu zinočnatého gravidným plemenniciam a jej vplyv na vybrané metabolické ukazovatele po osi matka — mláďa . . .	193
Uhrín V., Kica J.: Vplyv zeranolu na štruktúru svalov a na vývoj semenníkov býkov . . .	203
Massanyi L., Janisch R.: Ultraštruktúra membrán býčích spermií preparovaných mrazovým leptaním . . .	213
Drábek J., Mikulík A., Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: Vliv aflatoxinů na užitkovost prasat a biologickou hodnotu masa . . .	223
Granátová M.: Použití testu redukce tetrazoliové soli k průkazu fagocytární aktivity u prasat . . .	231
Kredl F., Svobodník J., Svobodová Z.: Rezidua chlórovaných pesticidů a polychlórovaných bifenylov v rybách pocházejících z různých lokalit ČR . . .	239
Jakubička I., Barta M., Nitray J., Szeleszczuková O.: Kolísanie hladiny progesterónu v periférnej krvi nutrií počas gravidity . . .	251

СОДЕРЖАНИЕ

Стругарикова Я., Сливка П., Сланина Л., Сотак Д., Елбертова А., Полагар П.: Пероральное применение сульфата цинкового стельным производителям и его влияние на избранные метаболические показатели по линии мать — детеныш . . .	193
Угрин В., Кица Я.: Влияние зеранола на структуру мышц и развитие семенников быков . . .	203
Массаный Л., Яниш Р.: Ультраструктура мембран бычьих спермиев препарированных травлением морозом . . .	213
Драбек Я., Микүлик А., Пискач А., Руприх Я., Галоузка Р.: Влияние афлатоксинов на продуктивность свиней и биологическую ценность мяса . . .	223
Гранатова М.: Использование редукции тетразолиновой соли для доказательства фагоцитарной активности у свиней . . .	231
Кредл Ф., Свободник Я., Свободова З.: Остатки хлорированных пестицидов и полихлорированных бифенилов в рыбах, происходящих из разных мест ЧСР . . .	239
Якубичка И., Барта М., Нитрай Я., Шелешчукова О.: Колебание уровня прогестерона в периферической крови нутрий в период беременности . . .	251

PERORÁLNA APLIKÁCIA SÍRANU ZINOČNATÉHO GRAVIDNÝM PLEMENNICIAM A JEJ VPLYV NA VYBRANÉ METABOLICKÉ UKAZOVATELE PO OSI MATKA — MLÁĎA

J. Struháriková, P. Slivka, L. Slanina, D. Soták, A. Elbertová, P. Polahár

STRUHÁRIKOVÁ, J. — SLIVKA, P. — SLANINA, L. — SOTÁK, D. — ELBERTOVÁ, A. — POLAHÁR, P. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice; Štátny majetok Košice; Experimentálne výskumné stredisko, Zemplínska Teplica): *Perorálna aplikácia síranu zinočnatého gravidným plemenniciam a jej vplyv na vybrané metabolické ukazovatele po osi matka — mláďa*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4): 193-202.

Uskutočnili sme zrovnávací pokus s perorálnou aplikáciou síranu zinočnatého gravidným dojniciam a jaloviciam so zameraním na ovplyvnenie vybraných metabolických ukazovateľov po osi matka — mláďa. Použili sme celkovú dennú dávku 3 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (680 mg Zn^{++}) v období státia na sucho v priemere po dobu 35 dní (15—65) pred očakávaným pôrodom. Chov bol problémový, stratovosť teliat predstavovala za posledný polrok viac ako 30 % z narodených, najmä v dôsledku koliseptikémie a kolienteritídy. V porovnaní s kontrolnými (8 ks) sa u pokusných plemenníc (12 ks) krátkodobe zvýšila zinkémia s následnou tendenciou k proteinémii, zvýšila sa aktivita aspartátaminotransferázy, celkové sérové imunoglobulíny sa nezmenili a znížila sa aktivita alanínaminotransferázy, alkalické fosfatázy, kreatínfosfokinázy a aldolázy. Celkový bilirubín mal však tendenciu stúpať. Kvalita mledziva vyhovovala norme u pokusných plemenníc v 77 %, u kontrol v 83 %. U teliat od pokusných plemenníc došlo od prvého k 14. dňu veku k významnej zinkémii; v porovnaní s kontrolami neboli rozdiely v imunoglobulinémii, proteinémii, albuminémii, aktivite alanínaminotransferázy a kreatínfosfokinázy. Naproti tomu aktivita aspartátaminotransferázy mala stúpajúcu tendenciu a aktivita alkalické fosfatázy klesajúcu tendenciu. Novorodenecká hyperbilirubinémia u pokusných aj kontrolných teliat sa upravila do 14 dní veku. Sledovaný zamer zvýšiť vybrané ukazovatele imunopoézy nevedol jednoznačne k pozitívnym výsledkom.

plemennice; teľatá; imunologické ovplyvnenie; zinkémia; metabolický test

Ekonomiku chovu hovädzieho dobytku výrazne ovplyvňuje úspešný odchov teliat. Preto vysoká stratovosť teliat v našich chovoch predstavuje závažný a stále aktuálny hospodársky problém. V profylaktórnom období predstavujú straty až 50 % z celkových strát do veku šiestich mesiacov. Dostatočné imunologické vybavenie teliat je jedným z hlavných predpokladov ďalšieho úspešného odchovu. Vzhľadom na fyziologickú agamaglobulinémiu novonarodených teliat je jediným zdrojom imunoglobulínov v rannom postnatálnom období mledzivo. Tu vystupuje do popredia problém včasného a dostatočného napojenia teliat a biologická plnohodnotnosť mledziva. V našich chovateľských podmienkach má až 60 % kráv mledzivo biologicky nevyhovujúce. Uvedené faktory majú za následok, že 75 až 90 % teliat je imunodeficitných (Slanina a i., 1988; Bouda a i., 1988).

Na reguláciu imunitného systému živočíchov a ľudí majú vplyv rôzne faktory. Jedným z nich je aj esenciálny stopový prvok zinok [Gross a i., 1979; Bíreš a Vrzgula, 1988], ktorý ovplyvňuje humorálnu aj celulárnu imunitnú odpoveď organizmu [Cunningham - Rundles a i., 1979]. Jedným z najčastejších prejavov jeho deficitu je znížená aktivita tymidínkinázy a integrujúcich enzýmov syntézy DNA. Nedostatok zinku proto znižuje produkciu hormónu týmu (FTH), poškodzuje odpoveď na antigény závislé od týmusu, vyvoláva lymfopéniu T-buniek a znižuje mitogénézu T-lymfocytov stimulovaných fytohemaglutinínom a konkavalínom A [Poleník, 1987].

Na základe kladných výsledkov, ktoré popísali Dembiński a Wieckowski (1986), sme overovali prídavok síranu zinočnatého do kŕmnej dávky plemieníc vo vysokom štádiu gravidity na ovplyvnenie imunitného stavu matiek a teliat.

MATERIÁL A METÓDA

Pokus sme uskutočnili v mesiacoch marec—máj na hospodárstve H. u 20 dojnic, resp. jalovic (F₁ — SS × ČS). Pokusnú skupinu tvorilo šesť dojnic a šesť jalovic, kontrolnú štyri dojnice a štyri jalovice o priemernej živej hmotnosti 600 kg (dojnice) a 480 kg (jalovice). Priemerná úžitkovosť bola 3960 litrov. Zvieratá boli ustajnené vo VKK-350 v individuálnych boxoch, kŕmené dvakrát denne. Prevládal silážny typ kŕmnej dávky. Pokusné zvieratá dostávali individuálne síran zinočnatý (ZnSO₄ · 7H₂O) do kŕmnej zmesi v množstve 3 g na deň, t. j. 680 mg Zn⁺⁺, priemerne 35 dní (15—65) pred očakávaným pôrodom.

Chov bol problémový z hľadiska chorobnosti teliat. Stratovosť značne prevyšovala priemernú stratovosť v okrese, zvlášť v poslednom hospodárskom roku. Celkové straty teliat predstavovali za posledný polrok viac ako 30 % z narodených. Etiologicky sa jednalo hlavne o koliseptikémie a kolienteritidy. Okrem diarhoického a respiračného syndrómu boli časté polyartritídy s afinitou ku karpálnym kĺbom postihujúce asi 10 % populácie.

Krv od dojnic a jalovic bola odoberaná pred začiatkom pokusu (0), v priemere 12 dní pred pôrodom (I) a tri dni po pôrode (II). Krv od teliat bola odoberaná po narodení pred napitím kolostra (0.T), v treťom (I.T) a 14. dni veku (II.T). V pokusnej skupine boli dve mŕtvonarodené teľatá, v kontrolnej skupine jedno. Pôrody prebehli bez komplikácií.

V krvnom sére sme sledovali hodnoty celkových bielkovín (CB), celkového bilirubínu (CBi) a enzýmov: aspartátaminotransferáza (AST), alanínaminotransferáza (ALT), gamaglutamyltransferáza (GGT), alkalická fosfatáza (AF), kreatínfosfokináza (CPK), aldoláza (ALD); celkové sérové imunoglobulíny (Cig) turbidimetricky podľa Mc Ewana a i. (1970), zinok (atómovo absorpčný spektrometer Perkin-Elmer typ 306) a albumín (fluorometricky na Jasco FP 550) podľa metodiky Perkin-Elmer (1975).

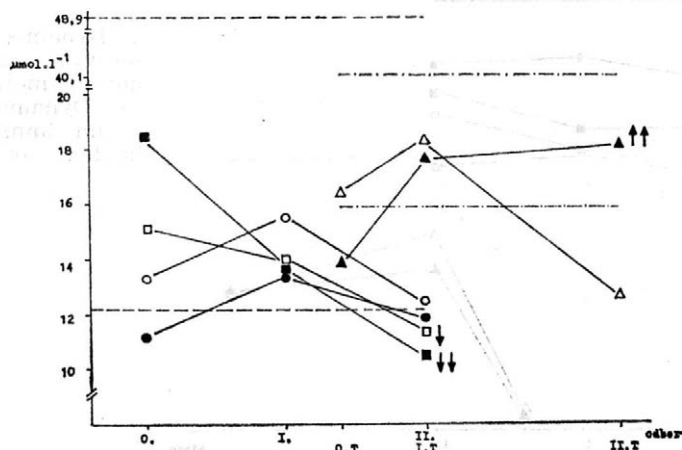
U dojnic bolo kolostrum odoberané z prvého pôdoja a stanovili sme v ňom mernú hmotnosť (kolostrometrom), glutaraldehydový test (Slanina a i., 1988), celkové bielkoviny a celkové sŕvátkové imunoglobulíny.

Štatistické zhodnotenie výsledkov pokusu bolo vykonané na matematicko-štatistickom oddelení VŠV v Košiciach.

VÝSLEDKY

DYNAMIKA SÉROVÉHO ZINKU U MATIEK A TELIAT (obr. 1)

Aplikácia síranu zinočnatého dojniciam a jaloviciam pokusnej skupiny sa prejavila krátkodobou alebo nepatrne, resp. udržala si nezmennú úroveň. U kontrol, ktoré boli zvýhodnené, bol štatisticky významný trvalý pokles.



1. Dynamika sérového zinku u matiek a teliat po perorálnej aplikácii $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 — Dynamics of serum zinc in dams and calves after oral administration of $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Legenda (platí pre všetky uvedené obrázky) — Legend (applies to all the given figures)

- kravy pokusné — experimental cows
- jalovice pokusné — experimental heifers
- ▲ teliatá pokusné — experimental calves
- △ teliatá kontrolné — control calves
- — — fyziologické rozpätie u plemenníc — physiological range in breeding cows
- . — fyziologické rozpätie u teliat — physiological range in calves
- kravy kontrolné — control cows
- jalovice kontrolné — control heifers
- ↑ $P < 0,05$ — $P < 0,05$
- ↑↑ $P < 0,01$ — $P < 0,01$
- ↓ $P < 0,05$ — $P < 0,05$
- ↓↓ $P < 0,01$ — $P < 0,01$

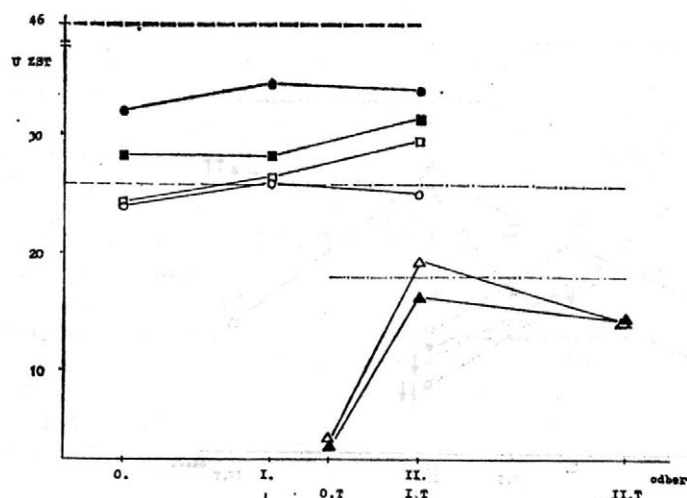
Hladina zinku pokusnej skupiny teliat zaznamenala trvale stúpajúcu tendenciu so štatisticky vysoko významným rozdielom hodnôt 0. a II. T odberu. U kontrolnej skupiny teliat hladina zinku po nevýznamnom počiatočnom vzostupe klesla v 14. dni (II. T) až pod východziu hodnotu.

DYNAMIKA SÉROVÝCH Ig U MATIEK A TELIAT (obr. 2)

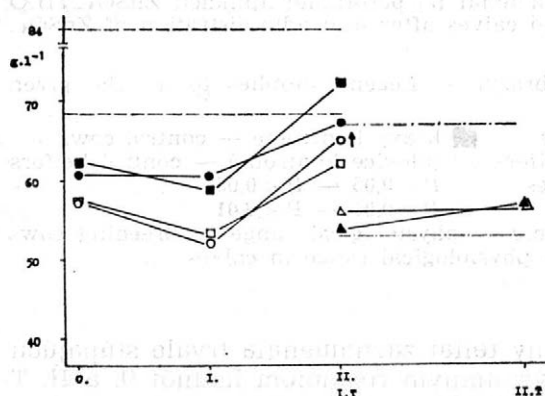
U dojnic pokusnej skupiny sa priemerné hodnoty CIG v odbere krvi pred začiatkom pokusu (0) pohybovali vo fyziologickom rozpätí; z nich bolo 16,6 % hypogamaglobulinemických. Pohyb hodnôt v jednotlivých odberoch nebol významný. V skupine kontrolných dojnic z východziech hodnôt (50 % hypogamaglobulinemických) bol zaznamenaný nevýznamný vzostup do fyziologických hodnôt v odbere po pôrode (II). Rozdiely medzi kontrolnými a pokusnými dojnicami sa v podstate nezmenili.

Pokusné a kontrolné jalovice boli pri odbere pred pokusom (0) zreteľne imunodeficitné (83, resp. 75 % hypogamaglobulinemických), s miernym vzostupom pri odbere pred pôrodom (I); v odbere po pôrode (II) vzostup lineárne pokračoval u kontrolných jalovíc, u pokusných ostal na úrovni odberu pred pokusom (0).

U pokusnej a kontrolnej skupiny teliat sme zistili len prahové hodnoty CIG, čo súvisí s fyziologickou agamaglobulinémiou prekolostrálnych teliat. U pokusných aj kontrolných teliat bola zaznamenaná zhodná tendencia vzostupu hladiny CIG v odbere v 3. dni (I. T); pokusné teliatá sa dostali tesne pod fyziologickú hranicu, kým kontrolné ju prekročili.



2. Dynamika celkových sérových imunoglobulínov u matiek a teliat — Dynamics of total serum immunoglobulins in dams and calves



3. Dynamika celkových sérových bielkovín u matiek a teliat — Dynamics of total serum protein in dams and calves

V odbere v 14. dni po pôrode (II. T) u obidvoch skupín hodnoty predčasne klesali pod fyziologickú úroveň.

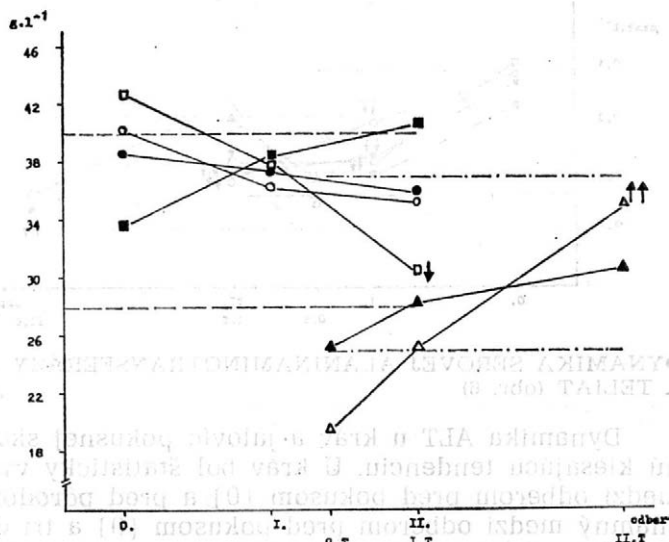
DYNAMIKA SÉROVÝCH CELKOVÝCH BIELKOVÍN U MATIEK A TELIAT (obr. 3)

V pokusnej aj kontrolnej skupine bolo v odbere pred pokusom (0) 75 % hypoproteinemických dojníc a 100 % hypoproteinemických jalovíc. V odbere pred pôrodom (I) hladiny nevýznamne poklesli; u pokusných dojníc sa udržali na východzej hodnote. V odbere po pôrode (II) sme zaznamenali vzostup hladín na fyziologickú úroveň u všetkých skupín, u pokusných jalovíc štatisticky významný v porovnaní s odberom pred pôrodom. Hodnoty CB u teliat pokusnej aj kontrolnej skupiny boli v odbere v 3. dni normoproteinemické, k 14. dňu veku (II. T) v pokusnej skupine nevýznamne stúpili, u kontrol sa udržali na východzej hladine.

DYNAMIKA ALBUMÍNU U MATIEK A TELIAT (obr. 4)

V pokusnej skupine bol u kráv aj jalovíc zaznamenaný stály štatisticky nevýznamný pokles hodnôt. U kráv kontrolnej skupiny sme zaznamenali stály vzostup, naproti tomu u jalovíc kontrolnej skupiny trvalý po-

4. Dynamika albumínu u matiek a teliat
Albumin dynamics in dams and calves



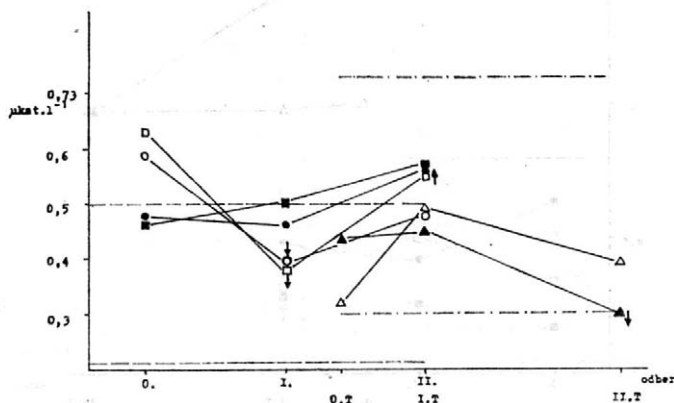
kles hodnôt so štatisticky významným poklesom medzi odberom pred pokusom (0) a odberom tri dni po pôrode (II).

Hodnoty sérového albumínu u pokusnej a kontrolnej skupiny teliat mali zhodnú, stúpajúcu tendenciu; u kontrolnej skupiny bol zistený štatisticky vysoko významný vzostup medzi odberom po narodení (0) a odberom vo veku 14 dní (II. T).

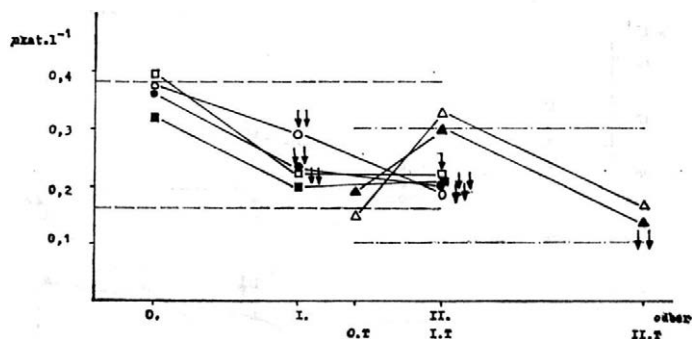
DYNAMIKA SÉROVEJ ASPARTÁTAMINOTRANSFERÁZY U MATIEK
A TELIAT (obr. 5)

U dojnic pokusnej aj kontrolnej skupiny bol zaznamenaný nevýznamný vzostup. U jalovic pokusnej a kontrolnej skupiny bol v odbere pred pôrodom (I) štatisticky významný pokles s následným nevýznamným vzostupom u pokusných kusov a významným u kusov kontrolných. Hodnoty AST jalovic pokusnej a kontrolnej skupiny boli v odbere pred pokusom (0) výrazne pod fyziologickou hodnotou, neskôr sa dostali na úroveň hornej hranice fyziologickej normy.

U kontrolnej a pokusnej skupiny teliat bol zaznamenaný vzostup v odbere po narodení a pokles v odbere v 14. dni veku (II. T), významný u pokusných teliat.



5. Dynamika sérovej
aspartátaminotransferázy u matiek a teliat
— Dynamics of serum
aspartate aminotransferase in dams and calves



6. Dynamika sérovej alanínaminotransferázy u matiek a teliat — Dynamics of serum alanine aminotransferase in dams and calves

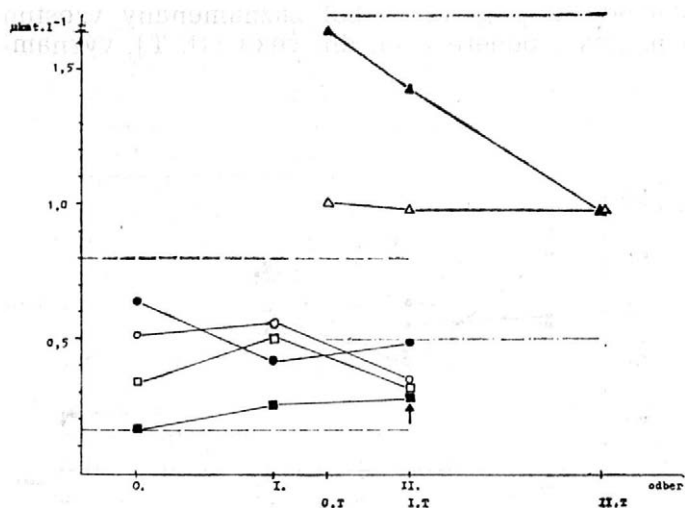
DYNAMIKA SÉROVEJ ALANÍNAMINOTRANSFERÁZY U MATIEK A TELIAT (obr. 6)

Dynamika ALT u kráv a jalovic pokusnej skupiny vykazovala zhodnú klesajúcu tendenciu. U kráv bol štatisticky vysoko významný pokles medzi odberom pred pokusom (0) a pred pôrodom (I) a štatisticky významný medzi odberom pred pokusom (0) a tri dni po pôrode (II). Podobná tendencia bola u kontrolnej skupiny, pričom štatisticky vysoko významný bol len pokles u jalovic medzi odberom pred pokusom a pred pôrodom a pred pokusom a po pôrode.

U teliat pokusnej a kontrolnej skupiny bol zaznamenaný vzostup hladín v I. odbere oproti 0. odberu s následným poklesom v II. odbere, štatisticky vysoko významným.

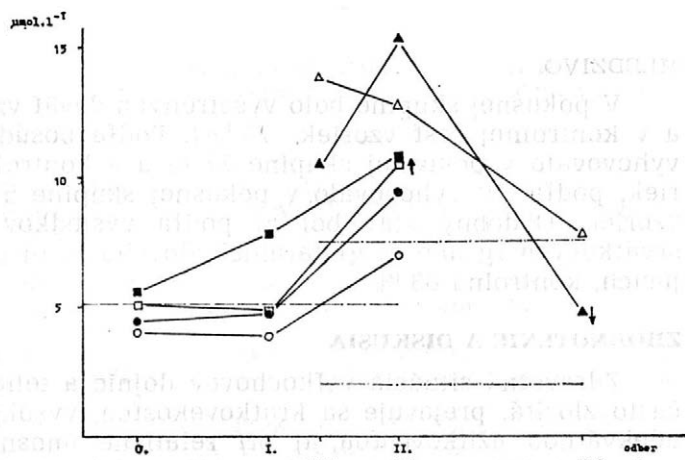
DYNAMIKA SÉROVEJ ALKALICKEJ FOSFATÁZY U MATIEK A TELIAT (obr. 7)

V pokusnej skupine kráv a jalovic bola u dynamiky AF zistená mierne klesajúca tendencia bez štatistickej významnosti. U kontrolných kráv hladina významne stúpila medzi odberom pred pokusom a po pôrode. U kontrolných jalovic po vzostupe došlo k nevýznamnému poklesu. Hladina AF pokusnej skupiny teliat vykazovala trvalý pokles bez štatistickej významnosti, u kontrol sa udržiavala na úrovni východných fyziologických hodnôt.



7. Dynamika sérovej alkalickéj fosfatázy u matiek a teliat — Dynamics of serum alkaline phosphatase in dams and calves

8. Dynamika celkového bilirubínu u matiek a teliat — Dynamics of total bilirubin in dams and calves



DYNAMIKA CELKOVÉHO BILIRUBÍNU U MATIEK A TELIAT (obr. 8)

U oboch skupín dojníc sa hladiny CBi v odbere pred pokusom a pred pôrodom udržiavali v rámci fyziologickej normy. Pri odberu po pôrode bol u obidvoch skupín zaznamenaný vzostup nad hornú hranicu normy, u kontrolných jalovíc štatisticky významný.

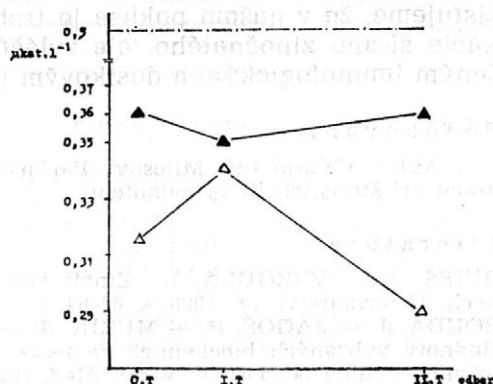
U pokusnej skupiny teliat sa po novorodeneckej hyperbilirubinémii zistil vo veku 14 dní (II. T) štatisticky významný pokles hodnôt, a tým sa hodnoty CBi dostali do fyziologického rozpätia. U kontrolnej skupiny teliat bol pozorovaný trvalý pokles hodnôt bez štatistickej významnosti.

DYNAMIKA SÉROVEJ KREATINFOSFOKINÁZY U TELIAT

U obidvoch skupín teliat bol pozorovaný trvalý pokles aktivity CPK od narodenia k 14. dňu veku bez štatistickej významnosti.

DYNAMIKA SÉROVEJ ALDOLÁZY U TELIAT (obr. 9)

Hladina ALD bola u pokusnej skupiny vyrovnaná, s miernym poklesom bez štatistickej významnosti vo veku 3 dni (I. T). U kontrolnej skupiny po vzostupe v 3. dni veku hodnoty sérovej ALD v 14. dni veku (II. T) poklesli pod východzie hodnoty bez štatistickej významnosti.



9. Dynamika sérovej aldolázy u matiek a teliat — Dynamics of serum aldolase in dams and calves

MLEDZIVO

V pokusnej skupine bolo vyšetrených deväť vzoriek mledziva (75 %) a v kontrolnej šesť vzoriek (75 %). Podľa posúdenia mernej hmotnosti vyhovovalo v pokusnej skupine 77 % a v kontrolnej skupine 83 % vzoriek, podľa CB vyhovovalo v pokusnej skupine 55 % a kontrolnej 66 % vzoriek. Obdobný stav bol aj podľa výsledkov vyšetrenia celkových srvátkových Ig ako aj glutaraldehydového testu (pokusná 77 % vyhovujúcich, kontrolná 83 %).

ZHODNOTENIE A DISKUSIA

Zdravotná situácia veľkochovov dojníc a teliat je v poslednom čase často zložitá, prejavuje sa krátkovekosťou, vysokým obratom stáda, neadekvátnou úžitkovosťou aj pri relatívne únosných stratách hynutím, resp. nutnými porážkami. V problémových chovoch sa zvyšuje stratosť priama aj nepriama. Chorobný stav sa prejavuje reprodukčnými a metabolickými porúchami u dojníc. U teliat sa stratosťou premieta najmä do diarhoického, respiračného a v poslednej dobe aj do neurogénneho syndrómu. U dojníc vzhľadom na potomstvo je zarážajúci výskyt kvalitatívne nevyhovujúceho kolostra, ktorý dosahuje až hodnoty okolo 60 % (Slanina a i., 1988; Bouda a i., 1988).

Z uvedených dôvodov a na základe kladných zahraničných skúseností sme pokusne ovplyvňovali najmä imunologické a metabolické ukazovatele matiek a teliat. Aplikácia síranu zinočnatého u dojníc počas státia na sucho mala za následok vzostup hladín gamaglobulínov v prvom kolostre pokusných kráv oproti kontrolám o 29,6 % až 61,5 % v prvom roku a o 37,0 až 62,0 % v druhom roku sledovania (Dembiński a Wieckowski, 1986). Nami prevedený pokus v problémovom chove nepriniesol očakávané výsledky, najmä pokiaľ sa týka imunologických ukazovateľov. Kvalita mledziva spravidla zostala rovnaká u pokusných aj u kontrol. V úrovni gamaglobulinémie a proteinémie nedošlo u matiek ani u novorodených teliat k rozdielom medzi pokusnými a kontrolnými, je však nutné uviesť vysoký deficitný stav obidvoch ukazovateľov u matiek pred pôrodom.

U teliat obidvoch skupín došlo síce po narodení k vyhovujúcej absorpcii imunoglobulínov, avšak objavila sa ich predčasná katabolizácia do 14 dní.

Pri porovnaní literárnych údajov (Sommer a i., 1975; Mc Murray a Yetley, 1983; Dembiński a Wieckowski, 1986) zisťujeme, že v našom pokuse je treba zvážiť relatívne krátku dobu aplikácie síranu zinočnatého, ale zvlášť problémy v chove s výrazne narušeným imunologickým a dusíkovým profilom matiek.

Podakovanie

Autori ďakujú ing. Milošovi Poláčkovi z VŠV Košice za technickú spoluprácu pri štatistickom vyhodnotení.

Literatúra

- BÍREŠ, J. — VRZGULA, L.: Zinok ako imunomodulátor u prežúvavcov a ošipáných. *Veterinářství*, 38, 1988, s. 62-64.
BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — MUŽÍK, J. — DOUBEK, J. — KLIMEŠ, J. — TOTH, J.: Hodnoty vybraných biochemických ukazateľů v kolostru krav v závislosti na době prvního výdoje po porodu. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 517-528.

CUNNINGHAM-RUNDLES, C. — CUNNINGHAM-RUNDLES, S. — GARAFOLLO, I.: Increased T-lymphocyte function and thymopoietin following zinc repletion in man. Fed. Proc., 38, 1979, s. 1222-1225.

DEMBIŃSKI, Z. — WIECKOWSKI, W.: Ocena wartosci profilaktycznej dodatku siarczanu cynku do paszy dla krów w zapobieganiu wczesnym biegunkom cielat w obiektach wielkotowarowych. Med. weter., 42, 1986, s. 168-171.

GROSS, R. L. — OSDIN, N. — FONG, L. — NEWBERNE, P. M.: Depressed immunological function in zinc deficient rats as measured by mitogen response of spleen, thymus and peripheral blood. Amer. J. clin. Nutr., 32, 1979, s. 1260-1265.

McEWAN, A. D. — FISHER, E. W. — SELMAN, J. E. — PENHALE, W. J.: A turbidity test of immune globulin levels in neonatal calf serum. Clin. chim. Acta, 27, 1970, s. 155-163.

McMURRAY, D. N. — YETLEY, E. Y.: Response to *Mycobacterium bovis* BGG vaccination in protein- and zinc-deficient guinea pigs. Inf. Immun., 39, 1983, s. 755-761.

POLENÍK, P.: Zinek jako imunomodulátor. Prakt. Lék., 67, 1987, s. 283-285.

SLANINA, L. — POLAHÁR, P. — SLIVKA, P. — CHANDOGA, P.: Glutaraldehydový test na stanovenie kvality kolostra. Veterinárství, 38, 1988, s. 156-158.

SOMMER, E. — ZALEWSKA, E. — CAKALA, S.: The effect of some immune parameters in beef calves. Bull. veter. Inst., Pulawy, 19, 1975, s. 32-37.

The determination of albumin in serum. Instrument Division Perkin-Elmer, Norwalk Connecticut, September 1, 1975.

Došlo dňa 30. 5. 1988

СТРУГАРИКОВА, Я. — СЛИВКА, П. — СЛАНИНА, Л. — СОТАК, Д. — ЕЛБЕРТОВА, А. — ПОЛАГАР, П. (Научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарной медицины, Кошице; Ветеринарный институт, Кошице; Госхоз Кошице; Экспериментальный научно-исследовательский центр, Земплинска Теплица): Пероральное применение сульфата цинкового стельным производителям и его влияние на избранные метаболические показатели по линии мать — детеныш. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 193-202.

Проводился опыт сравнения с пероральным применением сульфата цинкового стельным производителям и нетелям с целью оказания влияния на избранные метаболические показатели по линии мать — детеныш. Была использованная общая суточная доза $3 \text{ г ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (680 мг Zn^{++}) во время сухостоя приблизительно в течение 35 дней (15—65) перед ожидаемыми родами. Выращивание было проблематичным, потери телят представляли собой более 30 % из новорожденных, гл. образом из-за коли-септикемии и колиэнтерита. По сравнению с контрольными (8 голов), у подопытных производителей (12 голов) кратковременно повысилась цинкемия с последующей тенденцией к протеинемии, повысилась активность аспартатаминотрансферазы, общие иммуноглобулины сыворотки крови не изменились и снизилась активность аланинаминотрансферазы, алкалической фосфатазы, креатинфосфокиназы и алдолазы. У общего биллирубина наблюдалась тенденция возрастания. Качество молока отвечало норме у подопытных производителей в 77 %, у контроля в 83 %. У телят от подопытных производителей наступила выразительная цинкемия от первого к 14 дню возраста; по сравнению с контролем не наблюдались различия в иммуноглобулинемии, протеинемии, альбуминемии, активности аланинаминотрансферазы и креатинфосфокиназы. И, наоборот, активность аспартатаминотрансферазы несла тенденцию возрастания и активность алкалической фосфатазы тенденцию снижения. Гипербилирубинемия новорожденных у подопытных и контрольных телят была в норме до 14 дня жизни. Наблюдаемое намерение повышения избранных показателей иммунопореза не привело к положительному результату.

производительницы; телята; иммунологическое влияние; цинкемия; метаболический тест

STRUHÁRIKOVÁ, J. — SLIVKA, P. — SLANINA, L. — SOTÁK, D. — ELBERTOVÁ, A. — POLAHÁR, P. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice; State Farm, Košice; Experimental Research Centre, Zemplínska Teplica): Oral Administration of Zinc Sulphate to Pregnant Cows and its Effect on Selected Metabolic Parameters in the Dam-Calf Line. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 193-202.

A comparative trial was conducted with the oral administration of zinc sulphate to pregnant cows and heifers aimed at influencing the selected metabolic parameters in the dam-calf line. The total daily $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ dose of 3 g (680 mg Zn^{++})

was given to dry standing cows and heifers for 35 days on an average (15—65) before the expected date of calving. The breeding conditions in the stock were problematic: losses of calves suffered in the last half-a-year period were higher than 30 % of born calves; the main causes of this high mortality were colic-septicaemia and coli-enteritis. As compared with the eight control animals, the experimental cows and heifers (12 head) exhibited a transient increase in zincaemia, followed by a tendency to proteinaemia; aspartate aminotransferase activity increased, total immunoglobulins remained unchanged, and decreases were recorded in the activities of alanine aminotransferase, alkaline phosphatase, creatine phosphokinase and aldolase. On the other hand, the concentration of total bilirubin tended to increase. In 77 % of the cows and first-calvers of the experimental group the quality of colostrum complied with the standard; in the case of the control animals this proportion was 83 %. Significant zincaemia occurred in the calves of the experimental cows between the first and 14th day of their age; no differences from the control calves were recorded in immunoglobulinaemia, proteinaemia, albuminaemia and in the activities of alanine aminotransferase and creatine phosphokinase. On the other hand, aspartate aminotransferase activity tended to grow and alkaline phosphatase activity tended to sink. Neonatal hyperbilirubinaemia disappeared within the first 14 days of age in both the experimental and the control calves. The results failed to show clearly that the intention to increase the values of the studied parameters of immunopoiesis was met.

breeding cows and heifers; calves; immunological influence; zincaemia; metabolic test

STRUHÁRIKOVÁ, J. — SLIVKA, P. — SLANINA, L. — SOTÁK, D. — ELBERTOVÁ, A. — POLAHÁR, P. (Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice; Veterinärmedizinische Hochschule, Košice; Experimentelles Forschungszentrum, Zemplínska Teplica): *Perorale Applikation von Zinksulfat an trächtige Kühe und dessen Einfluß auf ausgewählte Stoffwechselfparameter in der Linie Mutter — Junges*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 193-202.

Wir führten einen Vergleichsversuch mit peroraler Applikation von Zinksulfat an trächtigen Zucht- und Erstlingskühen durch, mit Orientierung auf die Beeinflussung ausgewählter Stoffwechselfparameter in der Linie Mutter — Junges. Angewandt wurde eine Gesamttagesdosis von 3 g $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ (680 mg Zn^{++}) in der Periode des Trockenstehens, im Durchschnitt im Verlauf von 35 Tagen (15—65) vor dem vorausgesetzten Abkalbetermin. Es handelte sich um eine Problemzucht, die Verlustrate der Kälber betrug im letzten Halbjahr mehr als 30 % der geborenen Kälber, überwiegend infolge von Koliseptikämie und Kolienteritis. Im Vergleich mit den Kontrollkühen (8 Stück) erhöhte sich bei den Versuchskühen (12 Stück) kurzfristig die Zinkämie mit nachfolgender Tendenz zur Proteinämie, es stieg die Aspartat-aminotransferase-Aktivität, die Gesamtserumimmunoglobuline blieben unverändert und die Aktivität der Alanin-aminotransferase, der Alkaliphosphatase, der Kreatinphosphokinase und Aldolase ging zurück. Das Bilirubin wies jedoch eine steigende Tendenz auf. Bezüglich der Kolostrumqualität waren bei den Versuchskühen 77 %, bei den Kontrollkühen 83 % der Proben normgerecht. Bei Kälbern von den Versuchskühen kam es zwischen dem ersten und 14. Tag des Alters zu einer signifikanten Zinkämie; im Vergleich mit den Kontrollen wurden keine Unterschiede in der Immunoglobulinämie, Proteinämie, Albuminämie und in der Aktivität der Alanin-aminotransferase und Kreatinphosphokinase verzeichnet. Die Aktivität der Aspartat-aminotransferase dagegen wies eine steigende und die der Alkaliphosphatase eine sinkende Tendenz auf. Die Neugeborenen-Hyperbilirubinämie sowohl bei den Versuchs- als auch bei den Kontrollkälbern normalisierte sich bis zu 14 Tagen des Alters. Das beabsichtigte Ziel, die ausgewählten Parameter der immunologischen Beeinflussung zu erhöhen, führte nicht zu eindeutig positiven Ergebnissen.

Zuchtkühe; Kälber; immunologische Beeinflussung; Zinkämie; Stoffwechseltest

Adresy autorov:

MVDr. Jana Struháriková, MVDr. Peter Slivka, MVDr. Pavol Polahár, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

Prof. MVDr. Ludovít Slanina, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Dušan Soták, Štátny majetok Košice, 040 01 Košice

MVDr. Alica Elbertová, Experimentálne výskumné stredisko, 075 01 Zemplínska Teplica

VPLYV ZERANOLU NA ŠTRUKTÚRU SVALOV A NA VÝVOJ SEMENNÍKOV BÝKOV

V. Uhrín, J. Kica

UHRÍN, V. — KICA, J. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Vplyv zeranolu na štruktúru svalov a na vývoj semenníkov býkov*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 203-212.

V práci sme sledovali vplyv preparátu Ralgro s účinnou látkou zeranol na histologické a histochemické vlastnosti svalov býkov. Anabolický účinok sa prejavil tendenciou zvyšovania hrúbky svalových vlákien *m. longissimus thoracis*, *m. semitendinosus* a *m. triceps brachii*, pričom rozdiely medzi svalmi pokusných a kontrolných zvierat neboli štatisticky významné. Býky ošetrované zeranolom mali vyšší podiel, ale aj relatívny objem bielych (αW) svalových vlákien, ale ani tieto rozdiely v porovnaní s kontrolou neboli štatisticky významné. Zeranol inhibuje rast a vývoj semenníkov. Inhibícia je významná a pretrváva ešte 30 dní po poslednej aplikácii. Potom sa ich vývoj a rast urýchľujú, takže za 90 dní po poslednej aplikácii dosiahnu semenníky hmotnosť kontrolných pohlavných žliaz, dorastú stočené semenotvorné kanáliky a dochádza v nich ku spermiogenéze.

svalová vlákna; semenníky; anabolikum; zeranol

Myšlienky stimulovať rast hospodárskych zvierat, predovšetkým rast a tvorbu svalstva, sú stále aktuálne. Preto sa aj v súčasnej dobe hľadajú a skúšajú rôzne účinné látky, ktoré by daný cieľ splňovali. Medzi ne patrí aj stimulátor s obchodným názvom Ralgro, ktorý obsahuje účinnú látku — fytoestrogén — zeranol. Zeranol je po chemickej stránke laktón kyseliny rezorcylovej, anabolická látka, ktorá stimuluje tvorbu somatotropínu a zvyšovanie hladiny inzulínu v organizme. Vyvoláva zvýšené ukladanie dusíkatých látok a relatívne znižuje ukladanie tuku v tele zvierat.

Popri štúdiu účinkov anabolických látok na intenzitu rastu, na látkový metabolizmus, sa v poslednom období začínajú objavovať aj práce, ktoré študujú ich pôsobenie priamo na svalové tkanivo. Young a i. (1986) popisujú v najdlhšom chrbtovom svalu po pôsobení zeranolu podobný efekt ako pri kastrácii. V *m. longissimus thoracis* pozorovali zvýšenie podielu αW vlákien na úkor vlákien intermediárnych pri zachovaní podielu vlákien červených. Clancy a i. (1986) tiež porovnávali štruktúru najdlhšieho chrbtového svalu zvierat ošetrovaných preparátmi Ralgro, Finaplix (acetát trenbolonu) a Synovex-S (progesterón s estradiol benzoátom). Ako pokusné zvieratá použili kastrátov a výsledky porovnávali s výsledkami u neošetrovaných kastrátov i býkov. Zistili, že zastúpenie αR a αW vlákien ako aj hrúbka všetkých typov svalových vlákien pokusných zvierat sa pohybovali medzi hodnotami zistenými

u kontrolných býkov a kastrátov. Také isté výsledky zistili aj Seideman a i. (1986) vo svaloch zvierat pri porovnaní účinku preparátov Ralgro a Synovex-S. Na rozdiel od predchádzajúcich autorov podávali preparáty nie kastrátom, ale býkom a ako kontrolu použili neošetrené kastráty a neošetrené býky. Aj v tomto prípade výsledky ukázali, že ako hrúbka svalových vlákien, tak aj zastúpenie jednotlivých typov svalových vlákien sa pohybujú medzi hodnotami zistenými u kontrolných býkov a kastrátov. Vplyv anabolík a niektorých hormonálnych prípravkov (zeranol, testosterón, propionát, estradiol benzoát a dexametazon) na tkanivové kultúry svalových buniek v štádiu myoblastov a myotúb študovali Roeder a i. (1986). Fox a i. (1973) sledovali pôsobenie preparátu Tapazole (1-methyl-2-mercaptoimidazole) na zastúpenie typov svalových vlákien v *m. longissimus dorsi* býkov. Signifikantné rozdiely v pomere medzi vláknami s oxidatívnym a anaeróbnym metabolizmom medzi ošetrovanými a kontrolnými zvieratami nepozorovali. Young a i. (1986) analyzovali po ošetrovaní preparátom Ralgro okrem najdlhšieho chrbtového svalu aj *m. splenius*. A práve v tomto svalu, ktorý je u býkov vyvinutejší ako u kastrátov, rozdiely medzi ošetrovanými a neošetrovanými býkmi nepozorovali. Preto sme v našej práci pristúpili k analýze ďalších svalov, popri *m. longissimus dorsi* sme odobrali vzorky aj z *m. semimembranosus*, z *m. rectus femoris* a z *caput longum mi. tricipitis brachii*.

Okrem toho sme odobrali vzorky aj zo semenníkov, nakoľko sme zistili, že ich vývoj je u ošetrovaných zvierat spomalený. Literárne údaje o pôsobení preparátu Ralgro na vývoj semenníkov sme v nám dostupnej literatúre nenašli.

MATERIÁL A METÓDA

Štúdium účinku zeranolu na štruktúru svalových vlákien a semenníkov je súčasťou širšie koncipovaného experimentu (Kica a i., 1987). Pri ňom sa použil vo výkrme býkov preparát Ralgro (IMC, Terre Haute, Indiana, USA), ktorý obsahuje účinnú látku zeranol. Býky kontrolnej i pokusnej skupiny boli od uliahnutia až do začiatku pokusu odchované pri rovnakých podmienkach. Pochádzali po jednom otcovi a do pokusu sme ich zaradili vo veku cca 4,5 mesiacov pri živjeh hmotnosti 115 kg. Preparát sa im aplikoval podkožne na laterálnu plochu ušnice podľa návodu výrobcu. Celkove sa uskutočnilo štyri až päť aplikácií v 66-dňových intervaloch tak, aby sa posledná dávka podala minimálne 100 dní pred zabitím, s výnimkou dvoch býkov, ktorých sme zabili za 30 dní po poslednej aplikácii. Účinnosť preparátu sa sledovala do porážkovej hmotnosti 550 kg. Býky pokusnej skupiny sa krmili rovnakým krmivom s navažovaním krmív pred každým kŕmením a vážením nespotrebovaných zbytkov krmiva. Kŕmne dávky boli zostavené na prírastok 1,0 kg na kus a deň.

Pre analýzu sme použili býkov rovnakej živjeh hmotnosti (550 kg) i rovnakej intenzity rastu. Vzorky sme odobrali od dvoch býkov zabitých za 30 dní po poslednej aplikácii preparátu (nižší počet zvierat limitovala skutočnosť, že mäso takto ošetrovaných zvierat je nepožítavé) — prvý pokus. Od piatich býkov sme odobrali vzorky za 90 dní po poslednej aplikácii preparátu (druhý pokus) a ako kontrolných sme použili päť neošetrovaných býkov.

Vzorky pre histologické a histochemické analýzy svalov sme odobrali z *m. longissimus thoracis* v úrovni deviateho rebra, zo stredu svalového bruška (MLT), z *m. semimembranosus* za sedacím oblúkom (MSM), z *caput longum mi. tricipitis brachii*, laktokraniálne od centrálnej šľachy z geometrického stredu hlavy (MTB) a z *m. rectus femoris*, z jeho geometrického stredu (MRF).

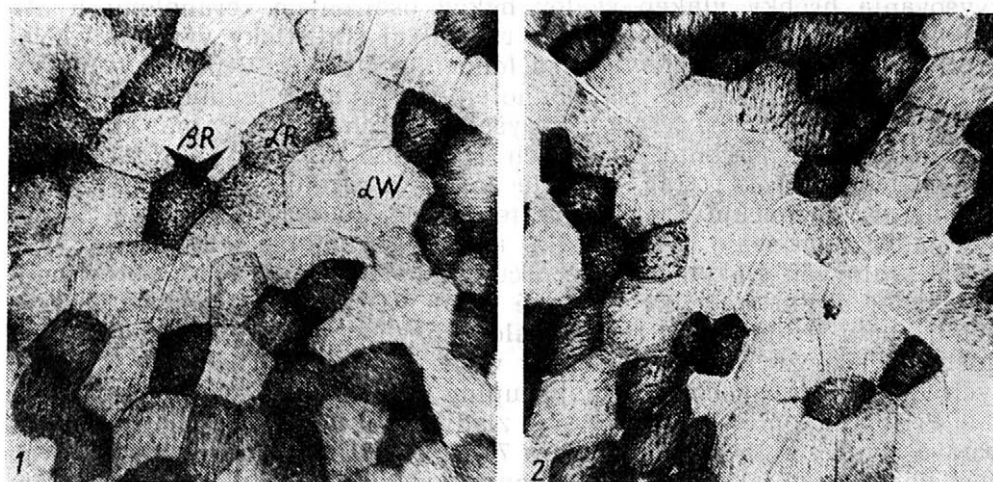
Vzorky sme odobrali ihneď po zabití zvieraťa, najneskôr 30 minút post mortem. Zmrazili sme ich v tekutom dusíku a až po ďalšie spracovanie uchovávali

v jeho parách. Potom sme na zmrazovacom mikrotóme pri teplote -10°C narezali 12 až 14 μm hrubé rezy. Tie sme podrobili histochemickej reakcii na prítomnosť sukcinátdehydrogenázy, pomocou ktorej sme diferencovali jednotlivé typy svalových vlákien. Na preparátoch sme zisťovali priemernú hrúbku všetkých svalových vlákien, priemernú hrúbku každého typu, percento počtu jednotlivých typov a percentuálny podiel plochy. Všetky morfometrické hodnoty sme zisťovali na mikrofotografiách pomocou štvorcovej mriežky o hrane štvorca 0,5 cm podľa metódy, ktorú sme popisali v predchádzajúcich prácach (Uhrín a Kulíšek, 1980). Mikrofotografie sme zhotovili na mikroskope ZEISS NU mikrofotografickým zariadením BAI ZEISS na filmy NP 15 ORWO pri konštantnom zväčšení v rámci každej skupiny.

Semenníky sme po zabíí zvierat odvážili spolu i s prísemenníkmi a obalmi. Potom sme odobrali vzorky z povrchu parenchymu tesne pod *tunica albuginea* a z hlbších vrstiev v blízkosti *rete testis*. Po zmrazení v tekutom dusíku sme ich narezali a ofarbili hematoxylin-eozínom. Preparáty sme vyhodnocovali jednak subjektívne, pričom sme posudzovali jednotlivé vývojové štádiá spermiogenného cyklu, jednak vzhľadom na kvantitatívne ukazovatele. Z preparátov sme zhotovili mikrofotografie, na ktorých sme merali hrúbku stočených semenotvorných kanálikov a podiel intersticiálneho väziva a stočených semenotvorných kanálikov. Použili sme tie isté morfometrické postupy ako pri svalových vláknach.

VÝSLEDKY

Z výsledkov histologickej a histochemickej analýzy vyšetrovaných svalov vyplýva, že rozdiely v hrúbke vlákien medzi svalmi ošetrovaných zvierat a kontrolných býkov nie sú veľké (obr. 1, 2). V niektorých prípadoch sú variabilné, a to raz v prospech pokusnej, inokedy v prospech kontrolnej skupiny. To pozorujeme ako pri priemernej hrúbke, tak aj pri hrúbke jednotlivých typov svalových vlákien (tab. I). Ovšem v celom súbore hodnôt vidíme, že v MLT, MSM a MTB existuje tendencia



1. Pričný prierez vláknami *m. longissimus thoracis* neošetrovaných býkov (αW — biele, αR — intermediárne, βR — červené svalové vlákna; SDH) — The fibres of *m. longissimus thoracis* in cross-section in untreated bulls (αW — white, αR — intermediate, βR — red muscle fibres; SDH)

2. Pričný prierez vláknami *m. longissimus thoracis* býkov po aplikácii zeranolu — The fibres of *m. longissimus thoracis* in cross-section in bulls treated with zeranol

Skupina	Priemerná hrúbka všetkých vlákien		Hrúbka jednotlivých typov vlákien					
			βR		αR		αW	
	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v
<i>M. longissimus thoracis</i>								
Ošetrovaná	67,6 $\pm$ 3,7	5,4	56,5 $\pm$ 3,9	6,9	60,2 $\pm$ 4,7	7,7	76,0 $\pm$ 6,0	7,9
Kontrolná	67,3 $\pm$ 4,5	6,7	58,1 $\pm$ 6,8	11,7	59,9 $\pm$ 8,6	14,4	75,6 $\pm$ 4,2	5,5
<i>M. semimembranosus</i>								
Ošetrovaná	66,5 $\pm$ 4,1	6,1	59,3 $\pm$ 7,2	12,2	60,3 $\pm$ 4,1	8,5	73,0 $\pm$ 4,1	5,6
Kontrolná	65,7 $\pm$ 5,8	8,8	59,6 $\pm$ 5,6	10,0	60,8 $\pm$ 6,0	10,0	73,1 $\pm$ 6,9	9,5
<i>M. rectus femoris</i>								
Ošetrovaná	66,8 $\pm$ 3,8	5,7	57,0 $\pm$ 4,9	8,6	60,8 $\pm$ 4,0	6,6	74,3 $\pm$ 8,6	11,6
Kontrolná	67,0 $\pm$ 4,1	6,1	56,0 $\pm$ 4,4	7,9	61,1 $\pm$ 4,8	7,8	76,2 $\pm$ 5,4	7,0
<i>M. triceps brachii</i>								
Ošetrovaná	65,4 $\pm$ 2,8	4,2	60,2 $\pm$ 4,2	4,2	60,3 $\pm$ 4,3	7,1	72,9 $\pm$ 3,8	5,2
Kontrolná	63,9 $\pm$ 4,7	7,3	60,1 $\pm$ 5,2	5,2	59,5 $\pm$ 7,4	12,4	68,2 $\pm$ 6,2	9,1

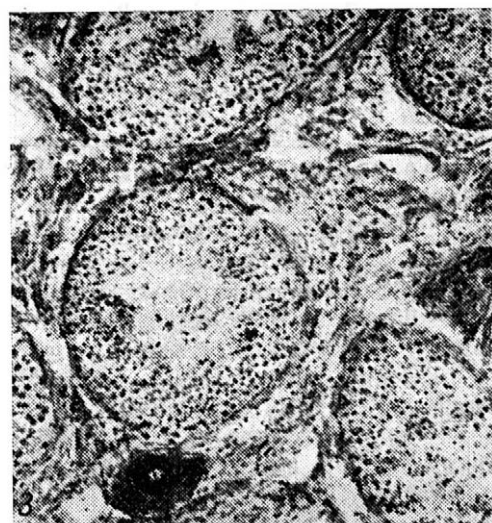
zvyšovania hrúbky vlákien svalov býkov ošetrovaných zeranolom; u αW vlákien *m. triceps brachii* je tento rozdiel aj štatisticky významný. Naproti tomu v *m. rectus femoris* sú tendencie opačné. V podstate podobný obraz pozorujeme aj pri hodnotení zastúpenia jednotlivých typov svalových vlákien. Vo všetkých vyšetrovaných svaloch má kontrolná skupina vyššie percento červených (βR a αR) vlákien a nižší podiel vlákien bielych (αW) (tab. II). Ale ani tieto rozdiely nie sú štatisticky významné, naznačujú však jasné tendencie, najmä vo svaloch chrbta a v nadväznom svalu stehna (MLD a MSM). Podiel plochy jednotlivých typov svalových vlákien na reze určuje hrúbka vlákien a ich percentuálny podiel. Preto výsledky uvedené v tab. III sú veľmi podobné zastúpeniu počtu jednotlivých typov svalových vlákien a v niektorých prípadoch ich ešte zväčšujú. Rozdiely v zastúpení relatívneho objemu bielych vlákien v prospech pokusnej skupiny kolíšu od 0,3 až takmer do 5 %.

Pri hodnotení semenníkov sme zistili, že u kontrolných býkov vážili obidva spolu i s obalmi v priemere 775,2 g. U pokusných býkov, ktorých sme porážali za 90 dní po skončení podávania zeranolu, vážili semenníky v priemere 731,7 g. Naproti tomu u býkov, ktorých sme porážali za 30 dní po poslednej aplikácii preparátu, vážili semenníky len 421,5 g.

Zaujímavý obraz nám poskytlo histologické vyšetrenie. Po stránke kvalitatívnej sme rozdiely temer nepozorovali. Stočené semenotvorné kanáliky sú normálne vyvinuté. Vidno v nich všetky vývojové štádiá spermiogónií i spermatocytov. V takmer pravidelných intervaloch pozorujeme skupinky buniek v rôznych štádiách metamorfózy. Len u býkov

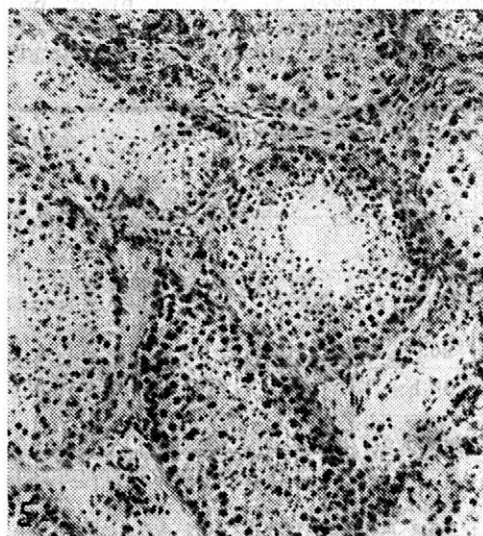
II. Zastúpenie počtu jednotlivých typov svalových vlákien vo svaloch býkov po ošetrení zeranolom a u neošetrených býkov — Proportions of the numbers of different muscle fibre types in the muscles of bulls after zeranol treatment and in those of untreated bulls

Skupina	Percentá počtu jednotlivých typov vlákien					
	βR		αR		αW	
	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v
<i>M. longissimus thoracis</i>						
Ošetrená	22,1 $\pm$ 5,1	23,1	26,9 $\pm$ 2,7	10,0	51,0 $\pm$ 6,3	12,4
Kontrolná	23,2 $\pm$ 4,4	19,0	30,1 $\pm$ 3,1	10,3	46,7 $\pm$ 4,8	10,3
<i>M. semimembranosus</i>						
Ošetrená	20,7 $\pm$ 5,9	28,5	30,8 $\pm$ 5,3	17,2	48,5 $\pm$ 3,6	7,4
Kontrolná	23,7 $\pm$ 3,6	15,2	30,2 $\pm$ 5,6	18,5	46,1 $\pm$ 7,1	15,4
<i>M. rectus femoris</i>						
Ošetrená	21,9 $\pm$ 5,4	24,7	27,3 $\pm$ 3,2	11,7	50,8 $\pm$ 8,5	16,7
Kontrolná	20,4 $\pm$ 7,8	38,2	29,8 $\pm$ 5,7	19,1	49,8 $\pm$ 8,4	16,9
<i>M. triceps brachii</i>						
Ošetrená	26,9 $\pm$ 5,5	20,4	30,9 $\pm$ 4,6	14,9	42,2 $\pm$ 4,3	10,2
Kontrolná	28,3 $\pm$ 4,6	16,3	29,3 $\pm$ 4,2	14,3	42,4 $\pm$ 5,6	13,2



3. Priechy prierez stočenými semenotvornými kanálíkmi neošetrených býkov (HE) — The coiled seminiferous tubules of untreated bulls in cross-section (HE)

4. Priechy prierez stočenými semenotvornými kanálíkmi býkov zabitých za 30 dní po skončení podávania zeranolu (HE) — The coiled seminiferous tubules in cross-section of bulls slaughtered 30 days after the termination of zeranol administration (HE)

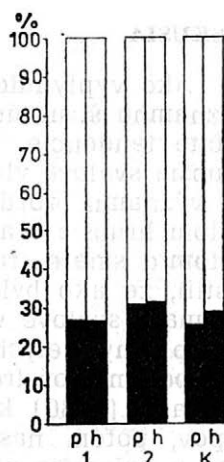


5. Priečný prierez stočenými semenotvornými kanálíkmi býkov zabitých za 90 dní po skončení podávania zeranolu (HE) — The coiled seminiferous tubules in cross-section of bulls slaughtered 90 days after the termination of zeranol administration (HE)

III. Zastúpenie plochy jednotlivých typov svalových vlákien vo svaloch býkov po ošetrovaní zeranolom a u neošetrovaných býkov — Proportions of the areas of different muscle fibre types in the muscles of zeranol-treated bulls and untreated bulls

Skupina	Percento plochy jednotlivých typov vlákien					
	βR		aR		aW	
	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v
<i>M. longissimus thoracis</i>						
Ošetrovaná	18,5 $\pm$ 4,3	23,2	24,0 $\pm$ 3,3	13,8	57,5 $\pm$ 5,8	10,9
Kontrolná	20,2 $\pm$ 4,8	23,7	26,9 $\pm$ 3,8	14,1	52,9 $\pm$ 7,7	14,6
<i>M. semimembranosus</i>						
Ošetrovaná	18,5 $\pm$ 4,2	22,7	28,0 $\pm$ 4,3	15,4	53,5 $\pm$ 3,8	7,1
Kontrolná	21,3 $\pm$ 4,7	22,1	27,7 $\pm$ 4,8	17,3	50,9 $\pm$ 8,2	16,1
<i>M. rectus femoris</i>						
Ošetrovaná	18,7 $\pm$ 4,6	24,6	24,8 $\pm$ 3,1	12,5	56,5 $\pm$ 9,4	16,6
Kontrolná	16,9 $\pm$ 6,4	37,9	26,9 $\pm$ 5,3	19,7	56,2 $\pm$ 11,5	20,4
<i>M. triceps brachii</i>						
Ošetrovaná	24,7 $\pm$ 3,6	14,6	28,4 $\pm$ 3,7	13,0	46,9 $\pm$ 4,7	10,0
Kontrolná	26,8 $\pm$ 6,6	24,6	27,6 $\pm$ 4,7	17,0	45,6 $\pm$ 8,6	18,9

- p — povrchová oblasť — surface region
 h — hlboká oblasť — deep region
 1 — za 30 dní — in 30 days
 2 — za 90 dní po skončení podávania preparátu — in 90 days after the end of preparation administration
 K — neošetrené kontrolné býky — untreated control bulls



6. Vzájomný pomer relatívneho objemu stočených semenotvorných kanálikov □ a väziva ■ — The proportions of the relative volume of coiled seminiferous tubules □ and connective tissue ■

IV. Hrúbka stočených semenotvorných kanálikov pokusných a kontrolných býkov — Thickness of the coiled seminiferous tubules of the experimental and control bulls

	Hrúbka semenotvorných kanálikov v μm			
	Povrchová oblasť		Hlboká oblasť	
	$\bar{x} \pm s$	v	$\bar{x} \pm s$	v
Pokus 1	$205,0 \pm 27,9^a)$	13,6	$211,5 \pm 12,8^b)$	6,1
Pokus 2	$298,6 \pm 39,9$	13,4	$276,1 \pm 23,0$	10,2
Kontrola	$293,9 \pm 31,9$	10,8	$294,8 \pm 41,4$	14,0

$a) = P < 0,01$; $b) = P < 0,05$

porazených za 30 dní po skončení podávania preparátu je lumen stočených semenotvorných kanálikov chudobnejší na bunky, najmä na výskyt spermatocytov, a štádiá metamorfózy sú vzácné (obr. 3 až 5). Po stránke kvantitatívnej, ako to vidno na obr. 6, sme väčšie rozdiely v zastúpení stočených semenotvorných kanálikov a intersticiálneho väziva ani medzi povrchovou a hlbokou oblasťou, ani medzi jednotlivými skupinami zvierat nepozorovali. Pokiaľ sa vyskytujú, nie sú štatisticky významné. Objem intersticiálneho väziva sa pohybuje od 25 do 31 % a objem semenotvorných zložiek predstavuje 69 až 75 %. Iný obraz pozorujeme pri sledovaní hrúbky semenotvorných kanálikov. Zistené hodnoty sú uvedené v tab. IV. Z nich vyplýva, že najtenšie kanáliky sú v semenníkoch býkov ošetrovaných zeranolom a zabitých za 30 dní po skončení jeho podávania. Ich hrúbka je štatisticky preukazne nižšia ($P < 0,01$) ako u kontrolnej skupiny býkov, ale aj ako u býkov zabitých za 90 dní po skončení podávania zeranolu. Rozdiel medzi kontrolnou skupinou a býkmi zabitými po 90-dňovej pauze od ošetrovania je štatisticky významný len v hlbokých vrstvách parenchymu ($P < 0,05$).

Ako vyplynulo z výsledkov práce, použitý preparát síce štatisticky významne štruktúru svalových vlákien neovplyvňuje, ale objavujú sa tu určité tendencie. Vidíme, že býky po podávaní zeranolu majú mierne hrubšie svalové vlákna. Young a i. (1986) tiež nepozorovali štatisticky významné rozdiely, ale aj v ich pokuse mali býky po ošetroaní zeranolom hrubšie svalové vlákna. Konštatujú, že pre vierohodnejšie závery v tomto smere treba viac pozorovaní. Seideman a i. (1986) zase zistili, že ako býky ošetrované preparátom Ralgro, tak aj býky kontrolné majú svalové vlákna všetkých typov hrubšie ako kastráti, kým podiel plochy bielych a intermediárnych vlákien spolu je najvyšší u kastrátov, potom u ošetrovaných býkov a najnižší u neošetrovaných býkov. Clancy a i. (1986) konštatujú, že býky majú najhrubšie vlákna všetkých typov, potom nasleduje hrúbka vlákien kastrátov ošetrovaných zeranolom a najtenšie vlákna majú neošetrovaní kastráti. Rozdiel v hrúbke bielych vlákien posledne uvedených skupín je však minimálny. Tu k jednoznačným výsledkom, podobne ako my, nedospela ani jedna z uvedených skupín autorov. Preto hovoríme len o tendencii zvyšovania hrúbky svalových vlákien u býkov ošetrovaných zeranolom.

Čo sa týka percenta počtu jednotlivých typov vlákien, vidíme, že býky ošetrované zeranolom majú vyšší podiel i plochu bielych vlákien ako býky kontrolné a obrátene, podiel červených vlákien (βR a αR) je u nich nižší. Ale ani tieto rozdiely v našom pokuse nie sú štatisticky významné. Svaly kastrovaných býkov sú bledšie a obsahujú vyšší podiel bielych vlákien (Dreyer a i. 1977; Young a Bass, 1984). Tieto rozdiely však nemusia byť vždy štatisticky významné (Ockerman a i., 1984), lebo tu sa významne uplatňujú vplyv plemena (Young a Bass, 1984) i medzidruhové rozdiely (Dux a i. 1982). Tendencie našich výsledkov sú však v úplnej zhode s výsledkami, ku ktorým dospeli Young a i. (1986), Seideman a i. (1986), Clancy a i. (1986), ktorí konštatujú, že preparáty podobného charakteru ovplyvňujú zastúpenie svalových vlákien takým istým smerom ako kastrácia. Túto tendenciu možno z časti vysvetliť výsledkami analýz semenníkov. Zeranol inhibuje ich vývoj. Svedčia o tom takmer polovičné hodnoty ich hmotnosti ešte za 30 dní po skončení podávaní preparátu aj výsledky histologickej analýzy týkajúce sa kvalitatívnej stránky obrazu i hrúbky stočených sementvorných kanálikov. S týmito výsledkami koreluje aj vysoko signifikantné zníženie hladiny testosterónu, ktoré zistili Fabry a i. (1984) u býkov ošetrovaných fytoestrogénom zeranol. Inhibícia je však reverzibilná, nakoľko za 90 dní po skončení podávania preparátu nastupujú urýchlený rast a vývoj semenníkov až k úplnej restitúcii. O mechanizmoch pôsobenia zeranolu sa môžeme len domnievať, nakoľko sme ďalšie analýzy nerobili. Môžeme však konštatovať, že pôsobí inhibične na rast a vývoj semenníkov.

Preparát sa v našej praxi zatiaľ nepoužíva. Napriek tomu sa domnievame, že je potrebné zoznámiť sa s jeho účinkami.

Literatúra

CLANCY, M. J. — LESTER, M. — JANET-ROCHE, J. F.: The effects of anabolic agents and breed on the fibers of the *longissimus* muscle of male cattle. J. anim. Sci., 63, 1986, s. 83-91.

- DREYER, J. H. — NAUDE, R. T. — HENNING, J. W. J. — ROSSOUW, E.: The influence of breed, castration and age on muscle fibre type and diameter in Friesland and Afrikaner cattle. *S. Afr. J. anim. Sci.*, 7, 1977, s. 171-180.
- DUX, L. — DUX, E. — GUBA, F.: Further data on the androgenic dependency of the skeletal musculature: The effect of prepubertal castration on the structural development of the skeletal muscles. *Hormone Metab. Res.*, 14, 1982, s. 191-194.
- FABRY, J. — RENAVILLE, R. — BURNY, A.: Influence of anabolic treatment on luteinizing hormone and testosterone secretion in bulls. *Anim. Prod.*, 39, 1984, s. 345-354.
- FOX, J. D. — MOODY, W. D. — BOLING, J. A. — BRADLEY, N. W. — KEMP, J. D.: Effects of 1-methyl-2-mercaptomidazole (Tapazole) feeding on muscle characteristics of Charolais — Hereford steers. *J. anim. Sci.*, 37, 1973, s. 438-444.
- KICA, J. — SOMMER, A. — NOSÁL, V. — UHRÍN, V. — BROUČEK, J. — HLOZÁKOVÁ, I. — SZAKÁČZ, J. — FRGALOVÁ, K.: Vplyv zeranolu a rumensinu na mäsovú úžitkovosť hovädzieho dobytku. [Záverčná správa.] Nitra, Výskumný ústav živočíšnej výroby 1987. 54 s.
- OCKERMAN, H. W. — JAWOREK, D. — VAN STAVERN, B. — PARRETT, N. — PIERSON, C. J.: Castration and sire effects on carcass traits, meat palatability and muscle fiber characteristics in Angus cattle. *J. anim. Sci.*, 59, 1984, s. 981-990.
- ROEDER, R. A. — THORPE, S. D. — BYERS, F. M. — SCHELLING, G. T. — GUNN, J. M.: Influence of anabolic agents on protein synthesis and degradation in muscle cells grown in culture. *Growth*, 50, 1986, s. 485-495.
- SEIDEMAN, S. C. — CROUSE, J. D. — CROSS, H. R.: The effect of sex condition and growth implants on bovine muscle fiber characteristics. *Meat Sci.*, 17, 1986, s. 79-95.
- UHRÍN, V. — KULÍŠEK, V.: Využitie morfometrických metód pre stanovenie hrúbky svalových vlákien. *Živoč. Výr.*, 25, 1980, s. 935-942.
- YOUNG, O. A. — BASS, J. J.: Effect of castration on bovine muscle composition. *Meat Sci.*, 11, 1984, s. 139-156.
- YOUNG, O. A. — FOOTE, D. M. — BASS, J. J.: Effect of Zeranol on bull muscle fibre composition. *Meat Sci.*, 16, 1986, s. 189-197.

Došlo dňa 6. 6. 1988

УГРИН, В. — КИЦА, Я. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): Влияние зеранола на структуру мышц и развитие семенников быков. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 203-212.

В работе изучали влияние препарата Ралгро с действующим веществом зеранол на гистологические и гистохимические свойства мышц быков. Эффект анаболизма проявился тенденцией увеличения тонкости мышечных волокон *m. longissimus thoracis*, *m. semitendinosus* и *m. triceps brachii*, причем разницы между мышцами опытных и контрольных животных не были статистически значимые. Быки, у которых применяли зеранол представляли больший процент, но и относительный объем белых (α W) мышечных волокон. Даже эти разницы в сравнении с контролем не были статистически значимые. Зеранол ингибирует рост и развитие семенников. Ингибция значимая и еще продолжает действовать 30 дней после последнего применения. Затем их рост и развитие ускоряется, так что после последнего применения семенники достигнут массы контрольных половых желез; дорастут закрученные спермообразующие каналы и в этих начинается сперматогенез.

мышечные волокна; семенники; анаболизм; зеранол

UHRÍN, V. — KICA, J. (Research Institute of Animal Production, Nitra): The Effect of Zeranol on the Structure of Muscles and Development of Bull Testicles. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 203-212.

The effect was investigated of the Ralgro preparation with the active substance zeranol on histological and histochemical properties of bull muscles. The anabolic effect was displayed by a trend toward greater thickness of muscle fibres in *m. longissimus thoracis*, *m. semitendinosus* and *m. triceps brachii*, whilst differences between the muscles of experimental and control animals were not statistically

significant. The bulls administered zeranol had the higher proportions as well as the higher relative volumes of white (α W) muscle fibres, but neither were these differences statistically significant in comparison with the control. The growth and development of testicles are inhibited by zeranol. The inhibition is significant and persists during 30 days after the last administration. Later on, the rate of development and growth are increased with the testicles reaching the weight of the sexual glands of control animals in 90 days after the last administration; the coiled seminiferous tubules grow and spermiogenesis occurs.

muscle fibres; testicles; anabolics; zeranol

UHRÍN, V. — KICA, J. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Einfluss von Zeranol auf die Muskelstruktur und die Entwicklung der Bullenhoden*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 203-212.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir den Einfluss des Präparates Ralgro auf der Basis des Wirkstoffes Zeranol auf histologische und histochemische Eigenschaften der Muskeln bei Bullen. Die anabolische Wirkung schlug sich in der Tendenz zur Steigerung der Stärke der Muskelfasern *M. longissimus thoracis*, *M. semitendinosus* und *M. triceps brachii* nieder, wobei die Unterschiede zwischen den Muskeln der Versuchs- und Kontrolltiere statistisch unsignifikant waren. Die mit Zeranol behandelten Bullen wiesen einen höheren Anteil und einen höheren Umfang der weissen Muskelfasern (α W) auf, aber nicht einmal diese Unterschiede waren im Vergleich zur Kontrolle statistisch bedeutend. Zeranol inhibiert sowohl das Wachstum als auch die Entwicklung der Hoden. Die Inhibition ist bedeutend und überdauert noch 30 Tage nach der letzten Applikation. Dann werden ihre Entwicklung und Wachstum beschleunigt, so dass 90 Tage nach der letzten Applikation die Hoden das Gewicht der Kontrollgeschlechtsdrüsen erreichen, die zusammenengerollten samenbildenden Kanälchen wachsen nach und es kommt in ihnen zur Spermiogenese.

Muskelfasern; Hoden; Anabolikum; Zeranol

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Vladimír Uhrín, CSc., ing. Ján Kica, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

ULTRAŠTRUKTÚRA MEMBRÁN BYČÍCH SPERMII PREPAROVANÝCH MRAZOVÝM LEPTANÍM

L. Massanyi, R. Janisch

MASSANYI, L. — JANISCH, R. (Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra; Lekárska fakulta UJEP, Brno): *Ultraštruktúra membrán býčích spermií preparovaných mrazovým leptaním*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 213-222.

Intramembranózne partikuly reprezentujú proteínové zložky membrány. Predpokladá sa, že ich počet a rozloženie je v korelácii s úrovňou metabolickkej aktivity membrán. Na cytoplazmatickej membráne v postakrozomálnej oblasti (PF) v blízkosti posteriorného prstenca sa partikuly formujú palisádovite do radov. Na ostatných membránach hlavičky sme zisťovali partikuly nepravidelne rozložené. Ich početnosť na jednotlivých miestach variovala. Taktiež ich veľkosť nebola rovnaká. Zisťovali sme aj okrsky bez partikul. Partikuly na cytoplazmatickej membráne bičika (PF) sa zhluchovali a mali cirkumferenciálnu orientáciu v smere priebehu mitochondrií. V mieste anulusu častíc pribúdalo. Na cytoplazmatickej membráne hlavného oddielu boli partikuly rozložené nepravidelne.

intramembranózne partikuly; proteínové zložky membrány; metabolická aktivita membrán; cytoplazmatická membrána

Príprava objektov mrazového leptania pre elektrónovú mikroskopiu umožňuje študovať vnútornú organizáciu bunkových membrán. Jej podstata spočíva v štiepení materiálu v zmrazenom stave po eventuálnej fixácii v glutaraldehyde a ošetrení kryoprotektívom. Zmrazuje sa najčastejšie v tekutom freóne (-160°C). Rovina štiepenia membrán nie je náhodná, ale najčastejšie prechádza lipoidnou dvojvrstvou, čím sa membrána štiepi na dve časti. Pokovenie povrchu pod určitým uhlom zvyšuje kontrast a vytvára trojrozmernú predstavu o obrysoch nerovnosti povrchu.

Z replík na exponovaných plochách jednotlivých membrán sa získavajú dva typy obrazov. Na navonok orientovanej vnútornej časti štiepnej plochy membrány, v literatúre označovanej ako PF (protoplasmic fracture face), sa dajú sledovať partikuly o veľkosti 6 až 9 nm. Tieto tzv. intermembranózne partikuly s najväčšou pravdepodobnosťou reprezentujú proteínové složky membrány. Na vonkajšej časti štiepnej plochy membrány orientovanej dovnútra, v literatúre označovanej ako EF (exoplasmic fracture face), sa častice vyskytujú zriedkavejšie, plocha je obyčajne viac hladká.

K štúdiu organizácie membrán spermií metódou mrazového leptania prispievajú najmä práce autorov: Koehler (1973), Pilhaja a Roth (1973), Stackpole a Devorkin (1974), Fawcett (1975), Olson a i. (1977), Kinsey a Koehler (1978), Morti-

mer (1981), Aguas a Pinto de Silva (1983, 1984), Suzuki a Yanagimachi (1986), Tesařík (1986) a ďalších.

Cieľom práce bolo študovať topografickú organizáciu intramembránových partikul na čerstvo ejakulovaných býčích spermiiach metódou mrazového leptania s úmyslom získať podrobné informácie o ich funkcii a o podstate rôznych štrukturálnych anomálií.

MATERIÁL A METÓDY

Ku štúdiu sme použili ejakulát troch dvojročných plodných plemenných bykov z insemináčnej stanice. Ejakulát mal dobrú motilitu a normálnu koncentráciu. Bol získaný pomocou umelej vagíny. Počas prepravy do laboratória sa udržiaval pri teplote $+20^{\circ}\text{C}$. Ejakulát sme začali spracovávať do 60 minút od odberu, a to metódou, ktorú popísali Moore a i. (1961) a Moore a Mühlethaler (1963) trojakým modifikovaným spôsobom:

a) zmrazením fixovaných spermií v kryoprotektíve — fixácia v 2% glutaraldehyda vo fosfátovom pufrí pH 7,2 po dobu dvoch hodín, vypranie fixačného roztoku rovnakým pufrí — 3×30 minút, centrifugácia a potom presýtenie 20% glycerolom po dobu 24 hodín, zahustenie centrifugáciou;

b) zmrazením natívnych spermií v kryoprotektíve — centrifugáciou zahustené spermie boli presýtené 20% glycerolom na dobu 24 hodín, potom zahustenie centrifugáciou;

c) zmrazením natívnych spermií po zahutnení centrifugáciou.

MRAZENIE

Na mosadzné terčíky bola umiestnená pologuľovitá kvapôčka zahustenej suspenzie o priemere asi 1 mm a spolu s terčíkom ponorená na päť sekúnd do tuhnutého freónu 22 (-160°C). Zmrazený materiál sme až do ďalšieho spracovania skladovali v tekutom dusíku.

MRAZOVÝ LOM, SUBLIMÁCIA (LEPTANIE) A POKOVENIE

Zmrazená kvapôčka s terčíkom bola umiestnená do Balzersovej aparatury BA 360 M, kde vo vákuu pri teplote -100°C bola rozlomená. Na rozlomený povrch bola pod uhlom 45° naparená platina a pod uhlom 90° uhlík pre spevnenie budúcej repliky. V prípade spracovania natívneho materiálu bez kryoprotektíva bola čerstvo rozlomená plocha ponechaná vo vákuu tri minúty bez pokovenia. V tomto čase dochádza k sublimácii vody (leptanie), a tým k zvýrazneniu výškových rozdielov v reliéfe rozlomeného materiálu.

ČISTENIE A FOTOGRAFOVANIE REPLÍK

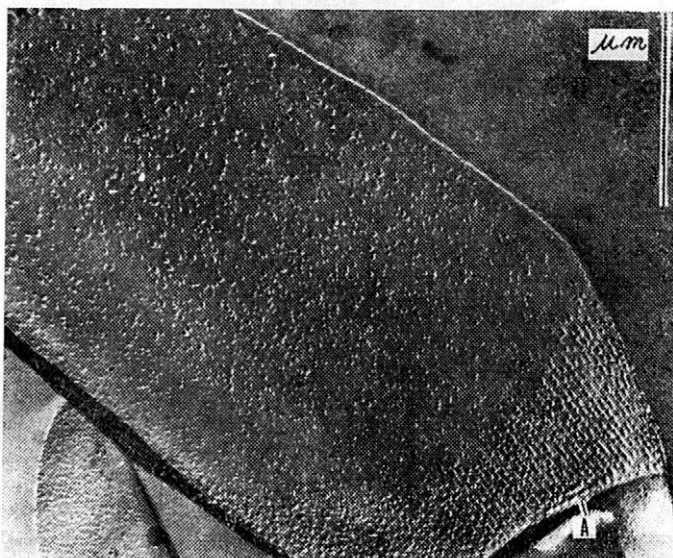
Repliky natiahnuté na vodnej hladine boli vyprané od zvyškov materiálu 70% kyselinou sírovou a 40% kyselinou chrómovou. Pri interpretácii plôch membrán sme sa pridŕžovali systému, ktorý navrhli Branton a i. (1975). Fotografie sme robili na elektrónovom mikroskope Tesla BS 500 a JEM-100 CXII. Úsečka na každom obrázku predstavuje 1 μm .

VÝSLEDKY

Na cytoplazmatickej membráne pokrývajúcej akrozóm (PF) sa dajú zisťovať redšie, nepravidelne usporiadané granuly.

Cytoplazmatická membrána v postakrozomálnej oblasti (PF), ktorá prilieha na postakrozomálnu lamínu, má charakteristické rozloženie partikul. V jej anteriornej časti sú orientované do nevýrazných terčíkovitých foriem, v ich strede sa početnosť partikul znižuje. V jej posterior-

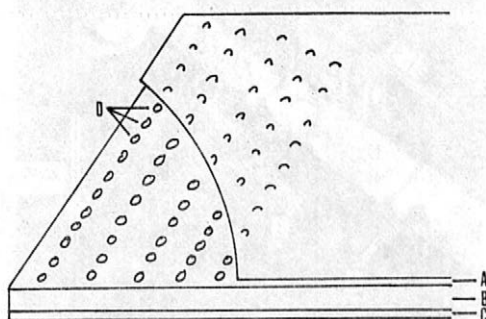
1. Postakrozomálna oblasť hlavičky pokrytá cytoplazmatickou membránou (A — posteriorny prstenec; anteriorne od neho vidieť palisádovite zoradené partikuly; najdlhšie rady sú na okraji hlavičky; smerom do stredu sa rady skracujú; dá sa pozorovať splývanie niektorých partikul; anteriorným smerom palisádovité usporiadanie prechádza do nepravidelného usporiadania partikul; za posteriorným prstencom v oblasti krčka počet partikul markantne klesá) — Postacrosomal region of the head, covered with cytoplasmic membrane (A — posterior ring; palisade arrangement of particles anterior to the ring; the longest rows are on the margin of the head; the rows shorten towards the centre; amalgamation of certain particles is visible; in anterior direction, the palisade arrangement of the particles becomes irregular; the number of particles markedly decreases behind the posterior ring in the region of the neck)

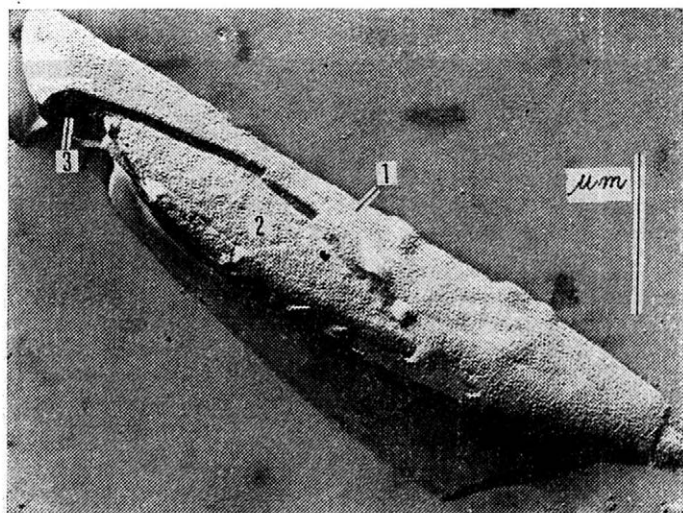


nej časti, v blízkosti posteriorneho prstenca, sa partikuly formujú palisádovite do radov. Najčastejšie sledujú anteriorno-posteriorny smer. Na niektorých miestach partikuly splývajú. Najďalej dopredu siahajú rady partikul na okrajoch hlavičky, smerom do jej stredu sa oblúkovite skracujú (obr. 1). Znázornenie membrán v postakrozomálnej oblasti je uvedené na obr. 2.

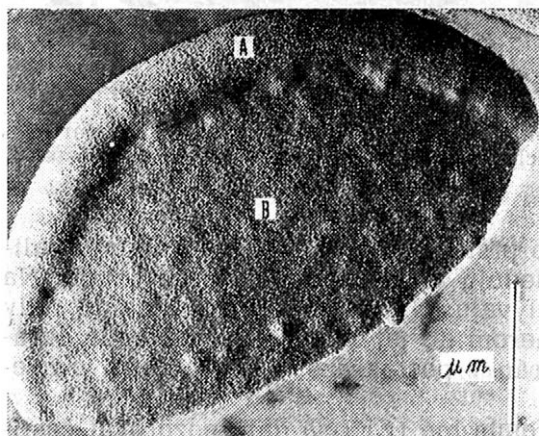
Na vonkajšej akrozomálnej membráne (EF) sa dajú pozorovať častice nepravidelne rozložené po celej ploche. Na jednotlivých častiach membrány nie je ich početnosť rovnaká, ani ich veľkosť nie je jednotná (obr. 3). Na jej PF ploche v apikálnej časti akrozómu je ich početnosť veľká, s podobnými variáciami partikul opísanými na EF ploche. Technika umožňuje zachytiť tiež zvlnenia povrchu akrozómu. Nápadné je vymiznutie partikul na rozhraní apikálneho a principiálneho segmentu akrozómu. Ich deficit má terčíkovitý charakter (obr. 4).

2. Postakrozomálna oblasť hlavičky (A — cytoplazmatická membrána; B — postakrozomálna pošva; C — jadrová membrána; D — intramembranózne partikuly) — Postacrosomal region of the head (A — cytoplasmic membrane; B — postacrosomal sheath; C — nuclear membrane; D — intramembranous particles)

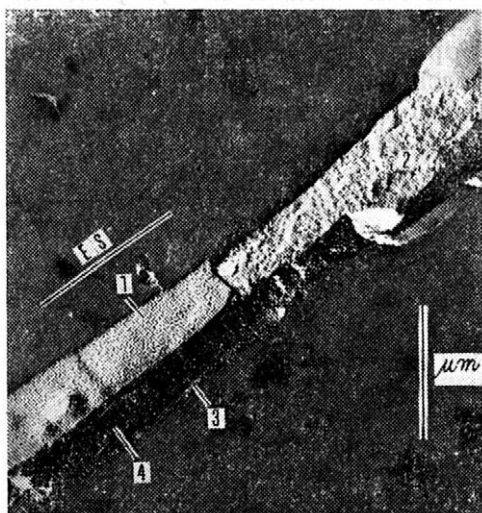




3. Oblast laterálnej časti hlavičky [1 — vonkajšia akrozomálna membrána (EF); 2 — vnútorná akrozomálna membrána (PF); 3 — akrozomálna hmota] — Region of the lateral part of the head [1 — outer acrosomal membrane (EF); 2 — internal acrosomal membrane (PF); 3 — acrosomal matter]

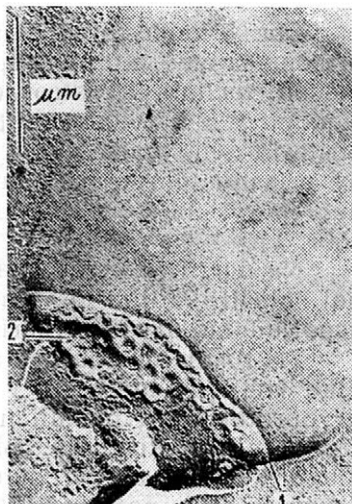


4. Apikálny segment akrozómu a jeho prechod do principiálneho segmentu; vonkajšia akrozomálna membrána (PF). Na prechode medzi oboma časťami akrozómu sú okrsy bez partikul (A — apikálny segment akrozómu; B — principiálny segment akrozómu; na niektorých miestach pozorovať zvlnenie akrozómu) — Apical segment of acrosome and its transition to principal segment; outer acrosomal membrane (PF). Areas free of particles lie on the transition between both parts of acrosome (A — apical segment of acrosome; B — principal segment of acrosome; acrosome undulation seen at some places)



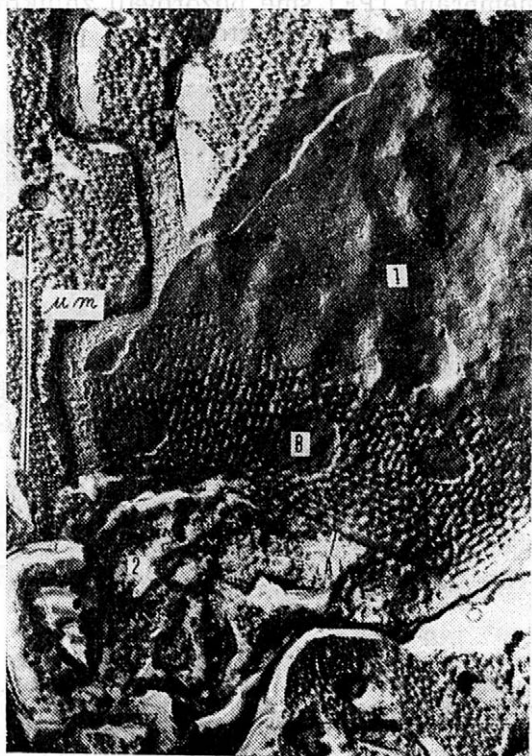
5. Lom zachytávajúci časť ekvatoriálneho segmentu akrozómu [ES — časť ekvatoriálneho segmentu; 1 — vnútorná akrozomálna membrána (PF); 2 — jadrová membrána (EF); 3 — vonkajšia akrozomálna membrána (EF); 4 — jadrová hmota; vidieť jej lamelárnu organizáciu] — Fraction catching a part of the equatorial segment of acrosome [ES — part of equatorial segment; 1 — internal acrosomal membrane (PF); 2 — nuclear membrane (EF); 3 — outer acrosomal membrane (EF); 4 — nuclear matter; its lamellar organization can be seen]

6. Oblasť krčka (1 — posteriorný prstenec; 2 — nukleárna membrána pokrývajúca posteriorný nukleárny priestor s viditeľnými pórmi) — Region of the neck (1 — posterior ring; 2 — nuclear membrane covering posterior nuclear space with visible pores)



Na vnútornej akrozomálnej membráne (PF) sme pozorovali nepravidelné rozloženie partikul veľkej početnosti (obr. 3 a 5).

V porovnaní s predchádzajúcimi opisovanými partikulami majú partikuly na jadrovej membráne (EF) rozdielnú štruktúru a veľkosť. V tvare a veľkosti varírujú. Nie je bez vedeckého záujmu a významu nález lamelózných štruktúr v sagitálnych rezoch jadrovou hmotou (obr. 5); tieto štruktúry majú paralelný priebeh s pozdĺžnou osou hlavičky.



7. Postakrozomálna oblasť. Vzorka spracovaná bez glycerínu. Vidíme podobné usporiadanie partikul ako na obr. 6 [1 — hlavička; 2 — bičík; A — posteriorný prstenec; flaky na povrchu hlavičky (B) sú zvyšky cytoplazmatickej membrány] — Post-acrosomal region. Sample processed without glycerine. Particle arrangement similar to that in Fig. 6 [1 — head; 2 — flagellum; A — posterior ring; spots on the head surface (B) are residues of cytoplasmic membrane]

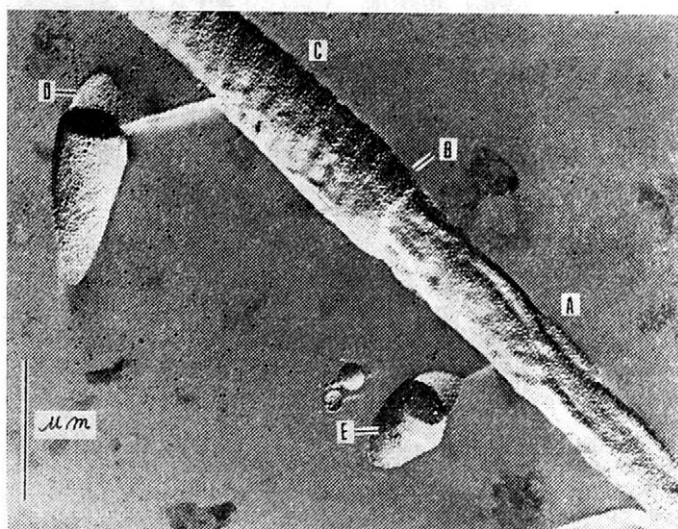
Obr. 6 zachytáva oblasť spojenia hlavičky s bičíkom. Markantná je priečna brázda, ktorá zodpovedá posteriornému prstencu opísanému pomocou techniky rastrovacej elektrónovej mikroskopie. Brázda oddeľuje povrch hlavičky od bičíka. Možno ju vidieť aj na obr. 1 a 7. Za posteriorným prstencom v oblasti krčka je uložený posteriorný nukleárny priestor, ohraničený nukleárnou membránou, ktorá ako jediná obsahuje póry. Smerom distálne od posteriorného prstenca partikul ubúda (obr. 1).

Na obr. 7 je zachytená cytoplazmatická membrána v postakrozomálnej oblasti. Vzorka je spracovaná bez glycerínu. Partikuly majú podobné usporiadanie ako u glycerínových vzoriek.

Tri rozdielne spôsoby spracovania materiálu, ako je uvedené v metódike (natívny materiál, v kryoprotektíve a s prefixáciou s následnou kryoprotekciou), nemali na obraz ultraštruktúry membrán spermíí podstatný vplyv. Rozdiely boli len v štruktúre okolitého zmrazeného média a v zachovaní či deformácii celkového tvaru spermíí. U objektov zmrazených v natívnom stave sú v okolí objektu dosť hrubé eutektické štruktúry a tiež vnútrobunkové prostredie je hrubšie zmrazené ako pri použití kryoprotektíva. Použitie glycerolu bez predchádzajúcej fixácie viedlo k čiastočnému zmrazeniu buniek vplyvom hypertonicity tohto prostredia. V zachovaní celistvosti a ultraštruktúry membrán neboli v jednotlivých postupoch pozorované rozdiely.

Iné štruktúry, ktoré by sa nám boli javili významné z hľadiska funkcie membrán na hlavičke, sme nepozorovali.

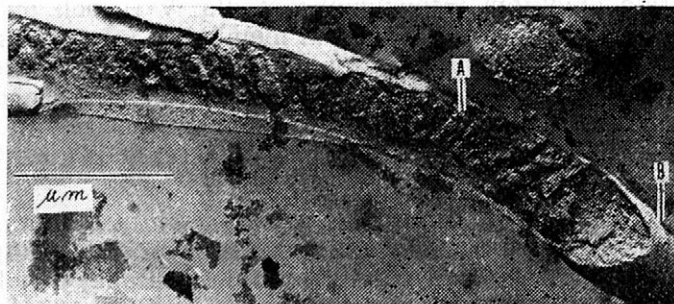
Na bičíku v oblasti mitochondriálneho oddielu na cytoplazmatickej membráne (PF) sme pozorovali zhľukovanie intramembranózných častíc v tých miestach, v ktorých sú pod ňou uložené mitochondrie. Dá sa



8. Cytoplazmatická membrána bičíka (PF) [A — oblasť mitochondriálnej špirály: partikuly sa zoskupujú do zhľukov v miestach spojenia, resp. kontaktu s mitochondriálnou membránou; B — anulus: v jeho oblasti vidieť pribúdanie partikul; C — hlavný oddiel bičíka: partikuly sú nepravidelne rozmiestnené, ich hustota je väčšia; D — cytoplazmatická membrána hlavného oddielu bičíka (EF); E — cytoplazmatická membrána hlavného oddielu bičíka (PF)] — Cytoplasmic membrane of flagellum (PF) [A — area of mitochondrial helix:

particles grouped in clusters in the places of connection or contact with mitochondrial membrane; B — annulus: increase of particles seen in its area; C — principal segment of flagellum: particles are irregularly distributed, their density is higher; D — cytoplasmic membrane of the principal segment of flagellum (EF); E — cytoplasmic membrane of the principal segment of flagellum (PF)]

9. Mitochondriálny od-
diel [A — mitochondrie
(PF); B — cytoplazma-
tická membrána (PF)]
— Middle piece [A —
mitochondria (PF); B —
cytoplasmic membrane
(PF)]



vidieť ich cirkumferenciálna orientácia v smere prebiehajúcej mito-
chondriálnej špirály. V mieste napojenia cytoplazmatickej membrány
na membrány na anulus častíc pribúda. Na hlavnom oddieli sú parti-
kuly nepravidelne roztrúsené. Ich početnosť je vyššia. Prekvapuje ich
veľká početnosť na EF ploche cytoplazmatickej membrány v tejto časti
bičíka (obr. 8).

Na obr. 9 je replika lomu mitochondrií v špirále. Ich povrchová mem-
brána (PF) obsahuje vysokú denzitu partikul.

DISKUSIA

V poslednom období sa zvýšil záujem o štúdium povrchov spermie
v súvislosti s možnosťou perspektívy prehĺbiť poznatky o ich jasnej re-
gionálnej diferenciácii. Predpokladá sa, že počet partikul je v kore-
lácii s úrovňou metabolickej aktivity membrány. Membrány v anterior-
nej časti hlavičky sa podieľajú na procese sekrécie akrozomálnych en-
zýmov. V postakrozomálnej oblasti sa zúčastňujú fúzie s vajíčkom a hra-
jú tiež úlohu pri rozpoznávaní vajíčka. Na bičíku regulujú prísun substrá-
tov a zúčastňujú sa ďalších funkcií, ktoré sú spojené s pohyblivosťou
spermie (Fawcett, 1975). Pod elektrónovým mikroskopom v tenkých
rezoch má cytoplazmatická membrána trilaminárnu štruktúru. Regionál-
ne rozdiely sa nedajú pozorovať. Cytochemicky sa demonštrovala na
uhlohydráty bohatá povrchová vrstva zvaná glykolemma, ktorá je vyvi-
nutá do rozličného stupňa na jednotlivých častiach spermie (Fle-
chon, 1974). Technikou mrazového leptania sa vizualizujú intramem-
branózne partikuly reprezentujúce proteínové zložky membrán. Sú zisťo-
vané regionálne rozdiely v počte, veľkosti a usporiadaní častíc.

Friend a Fawcett (1974) opisujú na PF ploche cytoplazma-
tickej membrány pokrývajúcej akrozóm spermie morčata kryštalicky or-
ganizované partikuly. Tieto partikuly boli aj na spermiiach potkana, ale
nezistili sa ani na hlavičkách myších spermii (Stackpole a De-
vorkin, 1974) ani na hlavičkách králičích spermii (Flechton, 1974).
My sme na hlavičkách býčích spermii takéto usporiadanie nepo-
zorovali.

Nami opisované lineárne usporiadanie partikul na kaudálnej časti
postakrozomálnej oblasti sa zistilo na hlavičke spermie králika (Koe-
hler, 1970) a byvola (Koebler, 1973). Uvedené štruktúry, ktoré
pravdepodobne nemajú čisto intermembranóznú lokalizáciu vzhľadom
na ich polohu (ktorá je dôležitá pre spojenie a fúziu s vajíčkom), sú

stále objektom intenzívneho štúdia. V rezoch pod elektrónovým mikroskopom má cytoplazmatická membrána v tejto časti trilaminárnu konšteláciu s podvrstvením tenkou, elektrónovo hustou vrstvou nazývanou postakrozomálna pošva. V tangenciálnych rezoch sa v nej zisťujú cirkumferenciálne orientované hrebene. Keďže ani jej chemické zloženie nie je presné definované, nové zistenia prinášajú so sebou stále viac otáznikov ako odpovedí.

Priebeh posteriorného prstenca sa uvedenou technikou veľmi dobre znázorňuje. V rezoch pod elektrónovým mikroskopom vidno, že v týchto miestach dochádza k fúzii cytoplazmatickej a jadrovej membrány (Petersen, 1972; Friend a Fawcett, 1974). Vie sa, že poškodenie cytoplazmatickej membrány zapríčiňuje okamžitú imobilizáciu a postupnú smrť bunky. Počas akrozómovej reakcie dochádza na hlavičke spermie k strate cytoplazmatickej a vonkajšej akrozomálnej membrány bez straty motility. Usudzujeme, že je to fúzia uvedených membrán. Táto fúzia oddelí perinukleárny komponent hlavičky od bičíka. Nedovolí tak zmenu prostredia bičíka, čím sa vlastne zabezpečí zachovanie v procese fertilizácie potrebnej motility spermie.

Zatiaľ čo v niektorých prácach sa uvádza, že cytoplazmatická membrána mitochondriálneho oddielu obsahuje nepravidelne rozložené častice, u myších spermíí (Stackpole a Devorkin, 1974) a u spermíí morčacích (Koehler, 1973; Friend a Fawcett, 1974) sa orientujú do cirkumferenciálne smerujúcich zoradení, aké sa popisujú aj v našej práci. Zoradenie má jasne topografický vzťah k mitochondriám priliehajúcim k cytoplazmatickej membráne. Medzi dvoma susednými mitochondriálnymi špirálami je miesto, v ktorom opisované membrány na seba nepriliehajú. Tu membranóznych partikul ubúda. Je to dôkaz, že membrána mitochondrie ovplyvňuje agregáciu partikul. To potvrdzuje existenciu transmembranózneho efektu, ktorý opísal Fawcett (1975).

Poznatok, že sa frekvencia pohyblivosti bičíka počas kapacitácie zvyšuje, vedie k predstave, že vnútorná špecializácia membrán bičíka má dôležitú funkciu pri koordinácii jeho pohyblivosti, pri kontrole prostredia ionov v okolí motorických elementov bičíka a prístupov enzýmov potrebných pre syntézu energie.

Intramembranózne „zippery“ pozdĺž jednej hrubej fibrily, ani ďalšie špecificky organizované partikuly, ktoré opísali Stackpole a Devorkin (1974), sa u býčích spermíí nezistili.

Partikuly sa vedľa premiestniť v rámci lipidovej dvojvrstvy (Singer a Nicolson, 1972) pri telesnej teplote (Leeuw, 1987 — osobné sdelenie), čo prispieva k dôkazu pravdivosti tekutého modelu membránových štruktúr.

Literatúra

AGUAS, A. P. — PINTO DE SILVA, P.: Regionalization of transmembrane glycoproteins in the plasma membrane of boar sperm head is revealed by fracture label. *J. Cell Biol.*, 97, 1983, s. 1356-1364.

AGUAS, A. P. — PINTO DE SILVA, P.: High density of transmembrane glycoproteins on the flagellar surface of boar sperm cell. *J. Cell Biol.*, 99, 1984, s. 655-660.

- BRANTON, D. — BULLIVANT, S. — GILULA, N. B. — KARNOVSKY, M. J. — MOOR, H. — MÜHLETHALER, K. — NOTHCOTE, D. H. — PACKER, L. — SATIR, B. — SATIR, P. — SPETH, V. — STAEHLIN, L. A. — STEERE, R. L. — WEINSTEIN, R. S.: Freeze-etching nomenclature. *Science*, 190, 1975, s. 54-56.
- FAWCETT, D. W.: The mammalian spermatozoon. *Dev. Biol.*, 44, 1975, s. 394-436.
- FLECHON, J. E.: La membrane du spermatozoïde de lapin. Répartition et nature des glykoproteins de la surface cellulaire. *J. Microsc. (Paris)*, 19, 1974, s. 53-54.
- FLECHON, J. E.: Freeze fracturing of rabbit spermatozoa. *J. Microsc. (Paris)*, 19, 1974, s. 59-64.
- FRIEND, D. S. — FAWCETT, D. W.: Membrane differentiations in freeze fractured mammalian sperm. *J. Cell Biol.*, 63, 1974, s. 641-664.
- KINSEY, W. H. — KOEHLER, J. K.: Cell surface changes associated with *in vitro* capacitation of hamster sperm. *J. ultrastruct. Res.*, 64, 1978, s. 1-13.
- KOEHLER, J. K.: A freeze etching study of rabbit spermatozoon with particular reference to the head structures. *J. ultrastruct. Res.*, 33, 1970, s. 598-614.
- KOEHLER, J. K.: Studies on the structure of the postnuclear sheath of water buffalo spermatozoon. *J. ultrastruct. Res.*, 44, 1973, s. 355-368.
- MOORE, H. — MÜHLETHALER, K.: Fine structure in frozen-etched yeast cells. *J. Cell Biol.*, 17, 1963, s. 609-628.
- MOORE, H. — MÜHLETHALER, K. — WALDNER, H. — FREY-WYSSLING, A.: A new freezing-ultramicrotome. *J. biophys. biochem. Cytol.*, 10, 1961, s. 1-13.
- MORTIMER, D.: The assessment of human sperm morphology in surface replica preparations for transmission electron microscopy. *Gamete Res.*, 4, 1981, s. 113-119.
- OLSON, G. E. — LIFSICS, M. — FAWCETT, D. W. — HAMILTON, D. W.: Structural specializations in the flagellar plasma membrane of opossum spermatozoa. *J. ultrastruct. Res.*, 59, 1977, s. 207-221.
- PEDERSEN, H.: Further observations on the fine structure of the human spermatozoon. *Z. Zellforsch.*, 123, 1972, s. 305-315.
- PILHAJA, D. T. — ROTH, L. E.: Bovine sperm fractionation II. *J. ultrastruct. Res.*, 44, 1973, s. 293-309.
- SINGER, S. J. — NICOLSON, G. L.: The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science*, 175, 1972, s. 720-732.
- STACKPOLE, CH. W. — DEVORKIN, D.: Membrane organization in mouse spermatozoon revealed by freeze-etching. *J. ultrastruct. Res.*, 49, 1974, s. 167-187.
- SUZUKI, F. — YANAGIMACHI, R.: Membrane changes in chinese hamster spermatozoa during epididymal maturation. *J. ultrastruct. molec. Struct. Res.*, 96, 1986, s. 91-104.
- TESÁŘÍK, J.: From the cellular to the molecular dimension: The actual changes for human fertilization research. *Gamete Res.*, 13, 1986, s. 47-89.

Došlo dňa 17. 3. 1988

МАССАНЬИ, Л. — ЯНИШ, Р. (Сельскохозяйственный институт, Нитра; Лечебный факультет Университета Яна Евангелисты Пуркине, Брно): Ультраструктура мембран бычьих спермиев препарированных травлением морозом. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4): 213-222.

Внутримембранные частицы представлены белковыми составными частями мембраны. Предполагают, что их количество и разложение находится в корреляции с уровнем метаболической активности мембран. На цитоплазматической мембране в постакрозомальной области (PF) вблизи последующего кольца частицы формируются палисадным образом в ряды. На остальных мембранах головки устанавливали частицы неправильно разложенные. Их численность на отдельных местах менялась. Их величина не была одинаковой. Также устанавливали участки без частиц. Частицы на цитоплазматической мембране жгутика (PF) группировались и обладали периметрической ориентацией по направлению расположения митохондрий. В месторасположении кольца частиц прибавлялось. На цитоплазматической мембране основной фасции частицы располагались не правильно.

интрамембранные частицы; белковые составные части мембраны; метаболическая активность мембран; цитоплазматическая мембрана

MASSANYI, L. — JANISCH, R. (University of Agriculture, Nitra; Medical Faculty of J. E. Purkyně University, Brno): *The Ultrastructure of Membranes in Bull Spermatozoa Prepared by Freeze Etching*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 213-222.

Intramembraneous particles represent protein components of the membrane. It is assumed that their number and distribution are in correlation with the level of the metabolic activity of membranes. In the cytoplasmic membrane in the post-acrosomal region (PF) near the posterior ring the particles are arranged in form of palisade rows. In the remaining membranes of the head, irregularly distributed particles were observed. Their number at individual places varied. Their size was not equal either. The areas without particles were also found out. The particles in the cytoplasmic membrane of the flagellum (PF) formed clusters and they had circumferential orientation in the direction of mitochondria. At the place of the annulus the number of particles increased. The distribution of particles was irregular in the cytoplasmic membrane of the main section.

intramembraneous particles; protein membrane components; metabolic membrane activity; cytoplasmic membrane

MASSANYI, L. — JANISCH, R. (Landwirtschaftliche Hochschule, Nitra; Medizinische Fakultät UJEP, Brno): *Ultrastruktur der Membranen der durch Frostätzung präparierten Bullenspermien*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 213-222.

Die Intramembranpartikel stellen die sog. Proteinkomponenten der Membrane dar. Es wird vorausgesetzt, dass ihre Zahl und Verteilung mit dem Niveau der metabolischen Aktivität der Membranen in Korrelation stehen. Auf der zytoplasmatischen Membrane im postakrosomalen Gebiet (PF) in der Nähe des hinteren Ringes bilden die Partikel palissadenförmige Reihen. Auf den anderen Kopfmembranen stellten wir unregelmässig verteilte Partikel fest. Ihre Häufigkeit auf einzelnen Stellen war sehr veränderlich. Auch ihre Grösse schwankte sehr. Wir konnten auch Lokalitäten ohne jede Partikel feststellen. Die Partikel auf der zytoplasmatischen Geisselmembrane (PF) häuften sich an und wiesen eine zirkumferenzielle Orientierung in Richtung des Verlaufes der Mitochondrien auf. Auf der zytoplasmatischen Membrane des Hauptteiles waren die Partikel unregelmässig verteilt.

Intramembranpartikel; Proteinkomponenten der Membrane; metabolische Aktivität der Membranen; zytoplasmatische Membrane

Adresy autorov:

Doc. MVDr. ing. Ladislav Massanyi, CSc., Vysoká škola poľnohospodárska, Lomonosovova 2, 949 76 Nitra
MUDr. Roman Janisch, CSc., Lekárska fakulta UJEP, Třída obránců míru 10, 662 43 Brno

VLIV AFLATOXINŮ NA UŽITKOVOST PRASAT A BIOLOGICKOU HODNOTU MASA

J. Drábek, A. Mikulík, A. Piskač, J. Ruprich, R. Halouzka

DRÁBEK, J. — MIKULÍK, A. — PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (Vysoká škola veterinární, Brno; Institut hygieny a epidemiologie, Praha): *Vliv aflatoxinů na užítkovost prasat a biologickou hodnotu masa*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 223-229.

V modelových pokusech s 12 prasaty byl ověřován účinek krmiva pro prasata ve výkrmu kontaminovaného aflatoxiny, a to v koncentraci 30 a 300 μg směsi aflatoxinů na kilogram krmiva (aflatoxin B₁ byl zastoupen v 55 %) po dobu zkrmování 26 dnů. Klinicky se účinek aflatoxinů na pokusných prasatech neprojevil. Výsledky potvrdily, že aflatoxiny negativně ovlivňují proteosyntézu. Snížení hmotnostních přírůstků prasat bylo provázeno snížením obsahu celkových plazmatických bílkovin a u skupiny s vyšším obsahem aflatoxinů (300 μg . kg⁻¹ krmiva) i zvýšením celkového bilirubinu v krevním séru. Histologickým vyšetřením jaterní tkáně byla prokázána perilobulární steatóza, disociace jaterních trámců a výraznější aktivace retikuloendoteliálního systému. Ve svalovině pokusných prasat byl zjištěn zvýšený obsah hydroxyprolinu. Výsledky práce dokládají, že již obsah 30 μg aflatoxinů v kilogramu krmiva (doporučovaná nejvyšší přípustná koncentrace pro ČSR) snižuje užítkovost prasat a biologickou hodnotu jejich masa.

aflatoxiny; prasata; užítkovost; biologická hodnota masa

Aflatoxiny jsou sekundární metabolity plísní *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Působí toxicky nejen na člověka, ale i na domácí a hospodářská zvířata. Mladé organismy jsou vůči aflatoxinům citlivější než organismy dospělé. Obecně proto lze říci, že u mladých organismů se účinek aflatoxinů projeví v akutní nebo perakutní formě poruchou zdravotního stavu provázenou akutním toxickým poškozením jater a hemoragickým syndromem. U organismů starších je účinek převážně chronický s toxickým poškozením jater, popřípadě po dlouhodobém příjmu může vést u některých živočišných druhů ke vzniku tumorů. Mezi nejcitlivější druhy zvířat vůči aflatoxinům patří mladá drůbež, pstruzi a prasata. Při intoxikacích aflatoxiny dochází tedy především k poruchám činnosti jater, k ikteru, inapetenci, úbytku hmotnosti a obecně ke snížení užítkovosti zvířat (Goldblatt, 1969; Moreau, 1974; Frank, 1974; Drábek aj., 1979; Piskač aj., 1982).

Aflatoxiny jsou deriváty kumarinu; dnes známe více než 15 typů nebo metabolitů aflatoxinů (Cole a Cox, 1981). Nejvýznamnější a nejtoxičtější je aflatoxin B₁ a jeho hydroxyderivát aflatoxin M₁. Molekulová

hmotnost aflatoxinů je v rozpětí 286 až 346, nemají vlastnosti antigenů (Bösenberg, 1970).

Po příjmu aflatoxinu živočišným organismem vzniká účinkem enzymů jaterních mikrosomů 2,3-oxid, který negativně ovlivňuje metabolismus nukleových kyselin (Kraybill, 1969) tím, že se váže na purinové báze. Vyvolává poruchy proteosyntézy a narušuje imunitní procesy, takže dochází k celkovému oslabení organismu. Mutagenní účinek aflatoxinu B₁ je dán schopností kovalentní vazby na nukleové kyseliny vazbou na purinové báze DNK (Wogan aj., 1971; Bárta aj., 1978), vmezežuje se mezi báze a vyvolává posunové mutace.

Smyslem této práce bylo ověřit účinek aflatoxinů na organismus prasat, a to v dávce 30 μ g v jednom kilogramu krmiva, což je nejvyšší přípustná koncentrace (NPK) aflatoxinů pro prasata ve výkrmu, a v dávce desetkrát vyšší, tj. 300 μ g v kilogramu krmiva. Byl sledován zdravotní stav prasat, jejich hmotnostní přírůstky, patologicko-anatomické a histologické změny a případné změny ve skladbě a biologické hodnotě masa.

MATERIÁL A METODY

K pokusům bylo použito celkem 12 selat, trojplemenných hybridů BU $\times$ L $\times$ X DU, pocházejících od dvou prasnic (sester). Do první skupiny (skup. I) bylo zařazeno šest prasat o průměrné živé hmotnosti 19,5 $\pm$ 3,52 kg, která dostávala kompletní krmnou směs A₁ s obsahem 30 μ g aflatoxinů (AF) na kilogram krmiva, tj. nejvyšší přípustnou koncentraci aflatoxinů v krmivu pro prasata ve výkrmu (NPK). Aflatoxin B₁ byl ve směsi ostatních typů aflatoxinů zastoupen 55 %. Do druhé skupiny (skup. II) byla zařazena tři prasata o průměrné živé hmotnosti 19,0 $\pm$ 2,18 kg, kterým byla podávána krmná směs A₁ s obsahem 300 μ g aflatoxinů, tj. desetinásobná dávka aflatoxinů proti předcházející skupině (čili dávka 10 $\times$ vyšší, než je NPK). Třetí skupinu (skup. III) tvořila tři prasata o průměrné živé hmotnosti 19,83 $\pm$ 1,84 kg; byla to skupina kontrolní, dostávala kompletní krmnou směs A₁ bez přídavku aflatoxinů.

Krmivo použité ke krmení pokusných skupin i kontrolní skupiny prasat pocházelo z jedné výrobní šarže, před použitím bylo vyšetřeno chromatograficky v tenké vrstvě silikagelu na obsah aflatoxinů a bylo zjištěno, že kilogram tohoto krmiva obsahuje méně než 1 μ g aflatoxinů. Krmivo pro pokusné skupiny prasat bylo připraveno tak, že do jeho části byl přidán chloroformový roztok aflatoxinů a po 24 hodinách odvětrání rozpouštědla bylo krmivo namícháno tak, že v kilogramu krmiva bylo 30 μ g aflatoxinů pro skupinu I a 300 μ g pro skupinu II. Skupině kontrolní bylo do krmiva přidáno pouze stejné množství chloroformu bez aflatoxinů. Krmivo bylo podáváno v suchém stavu *ad libitum* po dobu 26 dnů. Tato doba odpovídá přibližně maximální délce používání krmiva z jedné výrobní šarže v zemědělském podniku při uskladnění ve stájových zásobnících.

Zdravotní stav zvířat byl pravidelně kontrolován. Byly sledovány přírůstky hmotnosti a spotřeba krmiva. Jako doplňující bylo zařazeno základní biochemické vyšetření — aktivita enzymů AST a GMT, celková bílkovina, glukóza a močovina v krevní plazmě a celkový bilirubin v krevním séru pomocí Bio-La-testů, Lachema Brno. Ihned po ukončení pokusu byla prasata poražena a jejich orgány byly vyšetřeny patologicko-anatomicky a jaterní tkáň histologicky.

Byly použity postupy a metody jatečného hodnocení a základní rozborů masa včetně stanovení pH v příslušných časových odstupu po porážce podle Mikulíka (1984). Aminokyseliny byly stanoveny v kyselém hydrolyzátu na automatickém aminoanalyzátoru AAA 881 (Milkrotechna, Praha) postupem podle Mikulíka aj. (1980). Hydroxyprolin byl stanoven fotometricky metodou, kterou uvedli Armeth a Hamm (1971).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Na dvou pokusných skupinách prasat bylo prokázáno, že po 26denním podávání krmiva s obsahem $30 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$ na kilogram (NPK aflatoxinů v krmivu pro prasata ve výkrmu) a s obsahem desetkrát vyšším (tj. $300 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$) nedochází ke klinickým projevům poruch zdravotního stavu prasat. Snižuje se však užitkovost, což se projevuje v nižších přírůstcích hmotnosti než u kontrolní skupiny. U pokusných zvířat byla mírně snížena spotřeba krmiva. Přehled o výsledcích kontroly užitkovosti a spotřebě krmiva je uveden v tab. I.

I. Přehled o užitkovosti a spotřebě krmiva u pokusných a kontrolních prasat —
A survey of performance and feed consumption in the experimental and control pigs

	I. skupina $30 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva $n = 6$	II. skupina $300 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva $n = 3$	III. skupina kontrolní $< 1 \mu\text{g AF B}_1 \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva $n = 3$
Ø počáteční živá hmotnost (1. den) [kg]	$19,50 \pm 3,52$	$19,00 \pm 2,18$	$19,83 \pm 1,84$
Ø konečná živá hmotnost (26. den) [kg]	$35,05 \pm 4,12$	$33,53 \pm 6,77$	$39,30 \pm 1,69$
Ø denní přírůstek živé hmotnosti [kg]	0,59	0,56	0,75
Ø denní spotřeba krmiva [kg]	1,46	1,50	1,73
Celkový přírůstek živé hmotnosti jednoho prasete [kg]	15,55	14,53	19,47
Celková spotřeba aflatoxinů jedním prasetem [mg]	1,14	11,70	0,0

U I. pokusné skupiny prasat ($30 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva) se průměrný celkový přírůstek živé hmotnosti jednoho prasete snížil o 3,92 kg (20,14 %), u pokusné skupiny II ($300 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$ krmiva) o 4,94 kg (25,38 %). Průměrná denní spotřeba krmiva byla u skupiny I o 0,27 kg (15,61 %), u skupiny II o 0,23 kg (13,30 %) nižší než u skupiny kontrolních prasat.

Hodnoty biochemických ukazatelů pokusných skupin a skupiny kontrolní jsou uvedeny v tab. II. U pokusných prasat skupiny I i II byly zjištěny nižší hodnoty celkové bílkoviny krevní plazmy, v pokusné skupině II se zvýšily hodnoty celkového bilirubinu v krevním séru.

Histologickým vyšetřením jater prasat skupiny I byl zjištěn různý stupeň granulární dystrofie s mírnou disociací jaterních trámčů. Výraznější histologické změny jaterní tkáně byly prokázány u skupiny II, u níž byla zjištěna perilobulární steatóza, disociace jaterních trámčů a výraznější aktivace retikuloendoteliálního systému.

Získané hodnoty jatečných a vybraných ukazatelů biologické hodnoty masa (*m. longissimus lumborum*) a jater jsou uvedeny v tab. III až V.

II. Výsledky stanovení vybraných klinicko-biochemických hodnot v krevní plazmě pokusných a kontrolních prasat (26. den pokusu) — Results of the determination of selected clinico-biochemical values in the blood plasma of experimental and control pigs (26th day of trial)

	Celková bílkovina g.l ⁻¹	Glukóza mmol.l ⁻¹	Močovina mmol.l ⁻¹	AST μkat.l ⁻¹	GMT μkat.l ⁻¹	Celkový bilirubin μmol.l ⁻¹ *)
	$\bar{x} \pm s$					
I. pokusná skupina	51,57 3,16	5,66 0,36	4,24 0,28	0,34 0,12	0,66 0,12	3,02 1,04
II. pokusná skupina	51,53 71,2	5,90 0,42	4,37 0,50	0,27 0,06	0,68 0,21	5,85 0,51
III. kontrolní skupina	66,57 1,75	5,52 0,31	4,36 0,23	0,23 0,04	0,61 0,03	3,12 1,04

*) krevní sérum

Při hodnocení jatečných ukazatelů a pH v časových odstupech nebyly zjištěny významné rozdíly mezi pokusnými a kontrolní skupinou prasat (tab. III). Z hlediska základního složení masa došlo k výraznějším odchylkám pouze v obsahu tuku v játrech, což je v souladu s histologickým nálezem (tab. IV).

Za určitou odchylku lze považovat zvýšení obsahu hydroxyprolinu u obou pokusných skupin (tab. V). I když toto zvýšení hydroxyprolinu nekoresponduje s dávkou podávaného aflatoxinu, poukazuje na sníženou biologickou hodnotu svalových bílkovin.

III. Hodnoty vybraných jatečných ukazatelů u pokusných a kontrolních prasat — Values of the selected slaughter parameters in the experimental and control pigs

	I. skupina		II. skupina		III. skupina	
	$\bar{x} \pm s$					
Živá hmotnost na začátku pokusu [kg]	19,50	3,52	19,00	2,18	19,83	1,84
Živá hmotnost na konci pokusu [kg]	35,05	4,12	33,53	6,77	39,30	1,69
Přírůstek hmotnosti za jeden den [kg]	0,59	0,07	0,56	0,13	0,75	0,02
Hmotnost po poražení v teplém stavu včetně ledvin [kg]	26,47	4,02	25,10	6,59	27,00	3,44
Ztráta hmotnosti po vychlazení za 24 h [%]	4,18	0,88	4,63	1,47	3,37	0,15
Hmotnost jater [kg]	0,73	0,11	0,83	0,18	0,77	0,03
pH ₁ — pravá půle	6,47	0,33	6,57	0,25	6,40	0,21
pH ₁ — levá půle	6,45	0,33	6,52	0,28	6,41	0,20
pH ₂₄ — pravá půle	5,73	0,05	5,78	0,04	5,71	0,03
pH ₂₄ — levá půle	5,79	0,04	5,79	0,03	5,74	0,02

Poznámka: při vyšetření pH₄₈, 72, 96 a 168 nebyly zjištěny rozdíly mezi skupinami

IV. Základní složení masa — Basic data on the composition of meat

	I. skupina		II. skupina		III. skupina	
	$\bar{x} \pm s$					
Sušina [g. 100 ⁻¹]	23,78	1,06	23,63	1,94	23,43	1,62
Popel [g. 100 ⁻¹]	1,04	0,03	0,98	0,07	1,01	0,08
Celková bílkovina [g. 100 ⁻¹]	20,59	0,64	20,08	0,62	20,50	0,52
Tuk v mase [g. 100 ⁻¹]	1,45	0,24	1,47	0,40	1,67	0,40
Tuk v játrech [g. 100 ⁻¹]	3,17	0,67	2,83	1,33	1,93	0,47
Vitamin A v játrech jako retinol [μg. g ⁻¹]	54,34	10,08	35,15	7,44	42,71	5,82

V. Obsah aminokyselin, celkových bílkovin a dusíku — Contents of amino acids, total protein and nitrogen

	I. skupina		II. skupina		III. skupina	
	$\bar{x} \pm s$					
CB [g. 100 g ⁻¹]	20,58	0,62	20,08	0,61	20,50	0,52
N [g. 100 g ⁻¹]	3,29	0,10	3,21	0,10	3,28	0,08
Asp [g. (16 g N) ⁻¹]	7,73	0,32	7,77	0,30	7,80	0,29
Thr +	3,73	0,13	3,75	0,14	3,76	0,11
Ser	3,12	0,10	3,14	0,11	3,07	0,09
Glu	13,39	0,49	13,45	0,53	13,53	0,45
Pro	3,76	0,28	3,42	0,35	3,50	0,20
Gly	3,64	0,23	3,44	0,17	3,33	0,14
Ala +	4,69	0,12	4,66	0,16	4,67	0,20
Val +	4,22	0,14	4,31	0,16	4,41	0,12
Met +	1,79	0,32	1,78	0,12	2,03	0,14
Ile +	3,94	0,16	3,99	0,14	4,21	0,08
Leu +	6,78	0,26	6,91	0,23	7,07	0,19
Tyr	4,00	0,13	4,29	0,12	4,32	0,08
Phe	3,65	0,12	3,74	0,09	3,92	0,02
His	5,26	0,26	5,36	0,21	5,58	0,05
Lys +	9,05	0,38	9,21	0,27	9,69	0,42
Arg	5,73	0,21	5,91	0,06	6,09	0,07
Hyp	0,29	0,18	0,13	0,04	0,08	0,03
Σ AK	84,77	2,57	85,27	2,81	87,08	2,08
Σ AK esenc	33,15	1,08	33,69	1,10	35,11	0,83

Σ AK = celková suma aminokyselin Σ AK esenc = celková suma aminokyselin esenciálních +

V těchto modelových pokusech s podáváním krmiva kontaminovaného aflatoxiny prasatům byl potvrzen poznatek, že aflatoxiny negativně ovlivňují proteosyntézu [Drábek aj., 1979; Piskač aj., 1982 a další], a snižují tak užitkovost. Pokusy potvrdily, že užitkovost prasat klesá již při obsahu aflatoxinů v krmivu rovnajícím se nejvyšší přípustné koncentraci platné pro příslušná krmiva ($30 \mu\text{g AF} \cdot \text{kg}^{-1}$). Výsledky dokládají nejen nižší užitkovost, ale i velmi důležitý poznatek, kterým je nižší biologická hodnota masa při zkrmování krmiv kontaminovaných aflatoxiny.

Literatura

- ARNETH, W. — HAMM, R.: Untersuchungen zur Methodik der Hydroxyprolin-Bestimmung in Fleisch und Fleischwaren. *Fleischwirtschaft*, 51, 1971, s. 1523-1526.
- BÁRTA, J. et al.: Studium mutagenních a cytogenetických účinků aflatoxinu B₁ *in vivo*. [Výzkumná zpráva.] Praha, lékařská fakulta hygienická UK 1978. 35 s.
- BÖSENERG, H.: Untersuchungen über den Nachweis von Aflatoxinen. *Arzneim.-Forsch.*, 20, 1970, s. 1157-1167, 1521-1528.
- COLE, R. J. — COX, R. H.: Handbook of toxic fungal metabolites. New York, Academic Press 1981. 937 s.
- DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — PISKAČ, A.: Účinek vysokých dávek aflatoxinů na organismus prasat. *Veter. Med. (Praha)*, 24, 1979, s. 597-602.
- FRANK, H. K.: Aflatoxine. Hamburg, Behr's Verlag 1974. 126 s.
- GOLDBLATT, L. A.: Aflatoxin. New York, Academic Press 1969. 472 s.
- KRAYBILL, H. E.: Review of the toxicology and epidemiology of mycotoxins. *Trop. geogr. Med.*, 21, 1969, s. 1-18.
- MIKULÍK, A. — KNESEL, L. — VÁVROVÁ, M. — VRCHLABSKÝ, J.: Biologická hodnota potravin živočišného původu. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1980. 94 s.
- MIKULÍK, A.: Vlastnosti masa při některých chovatelských vlivech a objektivizace prohlídky jatečných zvířat a masa. [Doktorská disertační práce.] Brno, Vysoká škola veterinární 1984. 316 s.
- MOREAU, C.: Moisissures toxiques dans l'alimentation. Paris, Masson 1974. 471 s.
- PISKAČ, A. — DRÁBEK, J. — HALOUZKA, R. — GROCH, L.: Účinek dlouhodobého podávání aflatoxinů na zdravotní stav samců krys a prasat se zaměřením na morfologické změny varlat. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982, s. 101-111.
- WOGAN, G. N. — EDWARDS, G. S. — NEWBERNE, P. M.: Structure-activity relationship in toxicity and carcinogenicity of aflatoxins and analogs. *Canc. Res.*, 31, 1971, s. 1936-1942.

Došlo dne 16. 5. 1988

ДРАБЕК, Й. — МИКУЛИК, А. — ПИСКАЧ, А. — РУПРИХ, Й. — ГАЛОУЗКА, Р. (Ветеринарный институт, Брно; Институт гигиены и эпидемиологии, Прага): Влияние афлатоксинов на продуктивность свиней и биологическую ценность мяса. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 223-229.

В модельных опытах с 12 свиньями проверялась эффективность корма для свиней в откорме загрязненными афлатоксинами, в концентрации 30 и 300 μg смеси афлатоксинов на килограмм корма (афлатоксин В₁ был представлен в 55 %) в течение откорма 26 дней. Клинически действенность афлатоксинов на экспериментальных свиньях не проявилась. Результаты подтвердили, что афлатоксины отрицательно влияют на протеосинтез. Снижение прироста массы у свиней сопровождалось снижением содержания общего плазматического белка α у группы с большим содержанием афлатоксинов (300 $\mu\text{g/kg}$ корма) и повышением общего билирубина в сыворотке крови. При гистологическом исследовании печеночной ткани были доказаны перифолликулярное ожирение, диссоциация печеночных перекладин и более выразительная активность ретикулоэндотелиальной системы. В мышечной ткани подопытных свиней было установлено повышенное содержание гидроксипролина. Результаты работы доказывают, что уже содержание 30 μg афлатоксинов в килограмме корма (рекомен-

двумя самая высокая допустимая концентрация для ЧСР) снижает продуктивность свиней и биологическую ценность мяса.

афлатоксины; свиньи; продуктивность; биологическая ценность мяса

DRÁBEK, J. — MIKULÍK, A. — PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (University of Veterinary Medicine, Brno; Institute of Hygiene and Epidemiology, Praha): *The Effect of Aflatoxins on the Performance of Pigs and Biological Value of Pork*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 223-229.

Twelve pigs were subjected to model trials to study the effect of an aflatoxin-contaminated pig-fattening diet, administered for 26 days. Aflatoxin B₁ constituted 55 % of the aflatoxins tested. The aflatoxin concentrations used in the trials were 30 and 300 µg per 1 kg of feed. No clinical effect of aflatoxin was observed in the pigs. Aflatoxins were found to have adverse effects on proteosynthesis. A decrease in the weight gains of the pigs was accompanied by a decrease in the total plasma protein and, in the group with the higher aflatoxin dose (300 µg per 1 kg of feed), also by an increase in the total bilirubin concentration in the blood serum. Perilobular steatosis, dissociation of the liver trabeculae, and more pronounced activation of the reticuloendothelial system were demonstrated by the histological examination of liver tissue. An increase in the content of hydroxyproline was recorded in the muscle of the experimental pigs. It is documented by the results that the aflatoxin dose of 30 µg per 1 kg of feed (the recommended maximum admissible concentration for the Czech Socialist Republic) is high enough to reduce the performance of pigs and the biological value of their meat.

aflatoxins; pigs; performance; biological value of meat

DRÁBEK, J. — MIKULÍK, A. — PISKAČ, A. — RUPRICH, J. — HALOUZKA, R. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno; Institut für Hygiene und Epidemiologie, Praha): *Einfluß der Aflatoxine auf die Nutzleistung von Schweinen und den biologischen Wert des Fleisches*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 223-229.

In Modellversuchen mit 12 Schweinen wurden die Auswirkungen des durch Aflatoxine kontaminierten Schweinemastfutters geprüft u. zw. in Konzentrationen von 30 und 300 µg Aflatoxingemisch pro 1 kg Futter (Aflatoxin B₁ war mit 55 % vertreten) im Verlauf von 26 Tagen. Klinisch kam keine Aflatoxinauswirkung an den Versuchsschweinen zum Ausdruck. Die Ergebnisse bestätigten, daß Aflatoxine eine negative Wirkung auf die Proteosynthese ausüben. Der Rückgang der Massezunahmen bei den Versuchstieren war durch eine Herabsetzung des Gehalts an plasmatischen Gesamteiweißstoffen und bei der Gruppe mit dem höheren Aflatoxingehalt im Futter (300 µg.kg⁻¹) auch durch Anstieg des Gesamtbilirubins im Blutserum begleitet. Anhand histologischer Untersuchungen des Lebergewebes wurde eine perilobuläre Steatose, eine Dissoziation der Leberzellbalken und eine markantere Aktivierung des Retikuloendothelialsystems nachgewiesen. In der Muskelmasse der Versuchsschweine wurde ein erhöhter Hydroxyprolinegehalt festgestellt. Die Ergebnisse der Arbeit weisen darauf hin, daß bereits der Gehalt von 30 µg der Aflatoxine in einem kg Futter (empfohlene höchstzulässige Konzentration in der ČSR) die Nutzleistung der Schweine vermindert und den biologischen Wert ihres Fleisches beeinträchtigt.

Aflatoxine; Schweine; Nutzleistung; biologischer Fleischwert

Adresy autorů:

Doc. MVDr. Josef Drábek, CSc., prof. MVDr. Antonín Mikulík, DrSc., prof. MVDr. Alois Piskač, DrSc., MVDr. Roman Halouzka, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

MVDr. Jiří Ruprich, Institut hygieny a epidemiologie Praha, Centrum hygieny potravinových řetězců, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že do čísla 5 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být zařazeny příspěvky:

- O. Škardová: Izolace a vlastnosti nutriční varianty streptokoků animálního původu
- J. Brouček, J. Kica, A. Sommer, J. Szakács: Hormonálna reakcia býkov na podávanie zeranolu a rumensinu
- J. Raszyk, J. Pillich: Imunologické kožní testy u selat
- M. Kudweis, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidázy v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcidii *Isospora suis*
- L. Vrzgula, J. Bíreš, A. Hojerová, N. Vrzgulová: Obsah těžkých kovů v pečeni ovčec po experimentálně vyvolané intoxikaci oxidem měďnatým z průmyselné emise
- M. Dvořák: Schopnost bentonitu a přírodního zeolitu adsorbovat aflatoxin z tekutých prostředí
- M. Levkut, F. Lešník, R. Škarda: Výskyt viruózních částic vtačího sarkómového viru v sarkómovém tkanivě

POUŽITÍ TESTU REDUKCE TETRAZOLIOVÉ SOLI K PRŮKAZU FAGOCYTÁRNÍ AKTIVITY U PRASAT

M. Granátová

GRANÁTOVÁ, M. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Použití testu redukce tetrazoliové soli k průkazu fagocytární aktivity u prasat*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 231-238.

Jedním z ukazatelů nespecifické, buňkami zprostředkované imunity může být schopnost fagocytárního systému reagovat na přítomnost antigenních podnětů a stimulátorů. Fagocytární aktivita navozená tímto způsobem *in vitro* může být potom pomocí různých metod vyhodnocena kvantitativně. V této práci byla užita metoda redukce bezbarvé tetrazoliové soli (INT) na červený formazan. Byly zjišťovány optimální podmínky pro provedení tohoto testu u izolovaných periferních leukocytů prasat. Bylo stanoveno, že k vyšetření fagocytární aktivity stačí odběr 3 až 4 ml prasečí krve, ze které lze metodou sedimentace izolovat $6 \cdot 10^6$ leukocytů potřebných k provedení testu. Dále byla stanovena optimální doba inkubace 45 minut. Bylo zjištěno, že test INT je reprodukovatelný do 24 hodin po odběru krve, je-li uchována při teplotě $+4^\circ\text{C}$. Testem INT bylo vyšetřeno 38 krevních vzorků prasat před myostresem a po něm; tato zátěž má výrazný vliv jednak na snížení fagocytární aktivity, jednak na schopnost leukocytů migrovat v testu LMI. Dále bylo testem INT vyšetřeno šest prasat před podáním první vakcinační dávky inaktivované vakcíny proti viru Aujeszkyho choroby a za dva dny po něm; aplikace vakcíny výrazně zvyšovala fagocytární aktivitu.

nespecifická buňkami zprostředkovaná imunita; 3(4-jodfenyl)-2-(4-nitrofenyl)-5-fenyltetrazolium chlorid — INT; inhibice migrace leukocytů — LMI; virus Aujeszkyho choroby; myostres

Některé reakce nespecifické, buňkami zprostředkované imunity jsou umožněny schopností fagocytárního systému, tj. mononukleárními fagocyty (Furth a Cohn, 1968), monocyty (Keizer aj., 1986), tkáňovými makrofágy (Mečnikov, 1955) a mikrofágy — polymorfonukleáry (Wu aj., 1968) reagovat na přítomnost antigenního podnětu.

Tento podnět jednak aktivuje buněčný povrch fagocytů, jednak navozuje tvorbu hydrolytických enzymů (Cohn, 1968), které stimulují fagocytózu a vyznačují se baktericidními a antivirovými vlastnostmi (Osserman aj., 1974; Degórski aj., 1985).

I když je fagocytóza fylogeneticky starý proces, je u obratlovců nebytná, neboť fagocytující buňky se aktivně účastní interakcí s lymfoidními buňkami v dalších imunologických reakcích (Lipsky a Rosenthal, 1973; Rosenstreich a Mizel, 1978).

Fagocytární aktivita může být *in vitro* navozena solubilními (Fornůšek aj., 1985; Freund a Pick, 1985) nebo korpuskulárními stimulatory (Köppler aj., 1980; Roth a Kaerberle, 1981; Procházková aj., 1985; Takai aj. 1986).

Fagocytující buňky reagují na tyto stimulatory zvýšenou spotřebou kyslíku a produkcí reaktivních produktů H_2O_2 a O_2^- (Chatelet,

1978; B a b i o r aj., 1978), a ty se účastní úplné nebo částečné destrukce fagocytovatelných částic (H a r p e a N a t h a n, 1985).

Na základě znalostí těchto biochemických procesů byly vypracovány kvantitativní metody hodnotící intenzitu fagocytózy měřením uvolněných kyslíkatých produktů (H_2O_2 , O_2^-). Testy musí být rychlé, protože fagocyty jsou krátce žijící buňky (R o t h a K a e b e r l e, 1981). Patří k nim např. redukce tetrazoliových solí (L o k a j a O b ů r k o v á, 1975; P i c k aj., 1981), při níž je bezbarvá tetrazolická sůl redukována na barevný formazan, redukce cytochromu c (F r e u n d a P i c k, 1985), chemiluminiscence (A l l e n aj., 1972), jodínace (B e l d i n g a K l e b a n o f f, 1979) aj.

Podle literárních údajů jsou tyto metody užívány ke stanovení fagocytární aktivity převážně v humánní medicíně. V naší práci jsme se pokusili jednak určit optimální podmínky pro provedení testu redukce tetrazoliové soli (INT) u prasečích fagocytujících buněk, jednak tímto testem stanovit změnu fagocytární aktivity u normálních a stresovaných prasat a u prasat vakcinovaných proti viru Aujeszkyho choroby.

MATERIÁL A METODA

Zvířata

V pokuse bylo použito 38 prasat plemene belgické landrase, každé o hmotnosti přibližně 60 kg a 6 prasat plemene bílé ušlechtilé X belgické landrase, každé o hmotnosti přibližně 40 kg.

Stresová zátěž

Stresová zátěž byla provedena u prasat landrase přípravkem Myostres (R o z - k o š n á aj., 1986).

Vakcinace

K vakcinaci byla užita inaktivovaná, lyofilizovaná vakcína proti ACH (Bioveta, Ivanovice na Hané) u šesti prasat. Každému praseti bylo aplikováno intramuskulárně po 5 ml vakcíny.

Izolace fagocytujících buněk

Fagocyty byly z prasečí krve izolovány podle literárních údajů (G u t e k u n s t, 1979) v této modifikaci: ke 4 ml heparinové krve (20 jedn. heparin Spofa na 1 ml krve) byly přidány 2 ml 3% roztoku želatiny v 0,85% NaCl; po 60 minutách sedimentace při teplotě 37 °C byla odtažena vrchní vrstva a změřen její objem. Zbytkové erytrocyty byly odstraněny smícháním se třemi objemovými díly 0,83% NH_4Cl po dobu 7 minut. Po odstředění a promytí ve fyziologickém roztoku byly buňky spočítány a 0,2% roztokem trypanové modři byla stanovena životnost.

Test INT

Test INT byl realizován podle literárních údajů (L o k a j a O b ů r k o v á, 1975; R o t h a K a e b e r l e, 1981) v této modifikaci: leukocyty izolované z periferní krve byly naředěny v Earlově médiu (EA) nebo PBS, pH 7,2, na hustotu $6 \cdot 10^6$ buněk na mililitr a rozděleny po 0,5 ml do dvou zkumavek. Do obou bylo přidáno 0,2 ml 0,1% roztoku INT (Lachema, Brno) v PBS; do jedné zkumavky bylo dále přidáno 0,1 ml 1% roztoku škrobu (*Amylum oryzae*, CS) v PBS jako stimulující faktor, do druhé zkumavky bylo ke kontrolním, nestimulovaným buňkám přidáno pouze 0,1 ml PBS.

Uzátkované a protřepané zkumavky byly inkubovány 45 minut při teplotě 37 °C, potom byl do každé přidán 1 ml acetonu a ten převedl vzniklý červený nerozpustný formazan do roztoku; po důkladném protřepání byly zkumavky odstředěny. Červeně zbarvený supernatant z každé zkumavky byl potom měřen na spektrometru (Spektromom MOM, 195, Budapest) při vlnové délce 485 nm.

Hodnocení

Z hodnoty extinkce E_{485} vzniklého červeného formazanu u stimulovaných a nestimulovaných leukocytů byl vypočítán index metabolické aktivity (MA):

$$MA = \frac{E_{485} \text{ stimulovaných buněk}}{E_{485} \text{ nestimulovaných buněk}}$$

Test LMI

Test inhibice migrace leukocytů byl proveden jako přímý test pod agarovým médiem (Granátová aj., 1986). V testu nebyl užít žádný antigen, neboť v tomto případě jsme chtěli zjistit, zda jsou leukocyty ovlivněny ve své schopnosti migrovat zátěžovou situací (stresem).

VÝSLEDKY

FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ PRŮBĚH TESTU INT

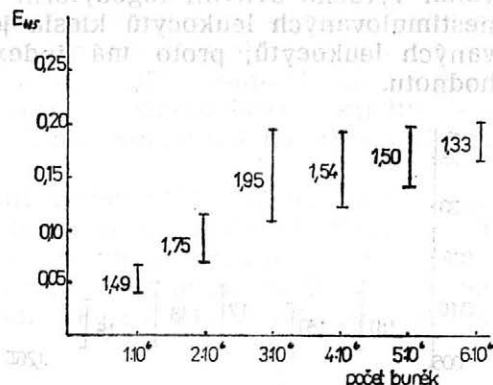
a) Počet buněk

Závislost hodnot testu INT na koncentraci leukocytů je uvedena na obr. 1. Je zřejmé, že největšího indexu metabolické aktivity bylo dosaženo při koncentraci buněk $3 \cdot 10^6$; při vyšší koncentraci vzrůstají hodnoty extinkce pomaleji a zároveň se snižuje hodnota MA.

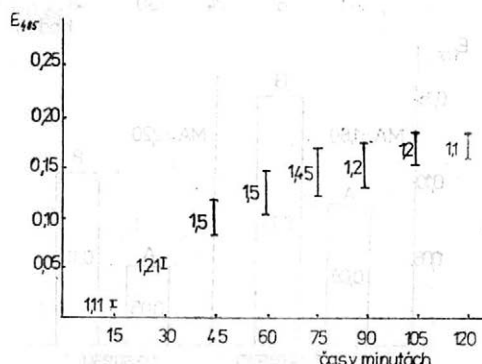
b) Doba inkubace

Na obr. 2 je uvedena závislost hodnot nestimulovaných a stimulovaných leukocytů na době inkubace; výsledky jsou vypočteny z průměru 16

1. Průměrné výsledky závislosti hodnot testu INT na koncentraci leukocytů 16 vzorků prasečí krve (nižší hodnota — E nestimulovaných leukocytů, vyšší hodnota — E stimulovaných leukocytů). V grafu jsou uvedeny hodnoty indexu metabolické aktivity — Average data on the dependence of the values of INT test on the concentration of leucocytes in 16 samples of pig blood (lower value — E of non-stimulated leucocytes, higher value — E of stimulated leucocytes). Values of the metabolic activity index are given in the diagram



2. Průměrné výsledky extinkce E 16 vzorků prasečí krve u nestimulovaných a stimulovaných leukocytů v závislosti na době inkubace (nižší hodnoty — E nestimulovaných leukocytů, vyšší hodnoty — E stimulovaných leukocytů). V grafu jsou uvedeny hodnoty indexu metabolické aktivity MA — Average data on extinction E for 16 samples of pig blood in non-stimulated and stimulated leucocytes, as depending on the time of incubation (lower values — E of non-stimulated leucocytes, higher values — E of stimulated leucocytes). Values of metabolic activity MA index are given in the diagram



hodnot vzorků. Aktivita fagocytů se zvyšuje do 45 minut inkubace, další prodloužení inkubační doby má za následek akumulaci formazanu v nepřítomnosti stimulans; tím se rozdíl mezi aktivitou nestimulovaných fagocytů stále zmenšuje, a tedy hodnota metabolické aktivity se snižuje.

c) Doba provedení testu

Dále bylo sledováno, zda jsou výsledky ovlivněny dobou, která uplyne mezi odběrem krve a jejím vyšetřením. Krev byla vyšetřována jednak ihned, jednak (po uložení při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$) za 6, 24, 30, 48 a 72 hodin po odběru; průměrné výsledky ze 16 vzorků jsou uvedeny na obr. 3.

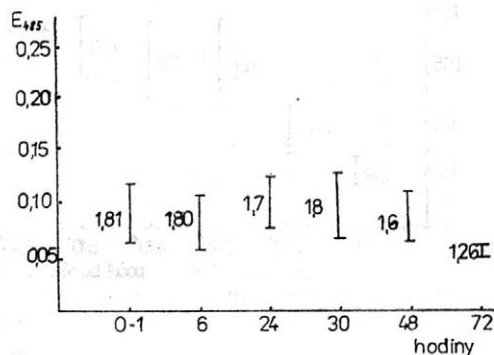
K mírnému poklesu aktivity stimulovaných i nestimulovaných fagocytů dojde za šest hodin po odběru, za 24 hodiny zůstávají hodnoty buď na stejné úrovni, nebo mohou mírně stoupnout, ale po 30 hodinách u všech vyšetřovaných vzorků hodnoty trvale poklesly.

Je tedy možné, pokud nelze vyšetřit krevní vzorky ihned, uložit je při teplotě $+4^{\circ}\text{C}$ a vyšetřit je do 24 hodin po odběru, aniž by se schopnost fagocytózy výrazně změnila.

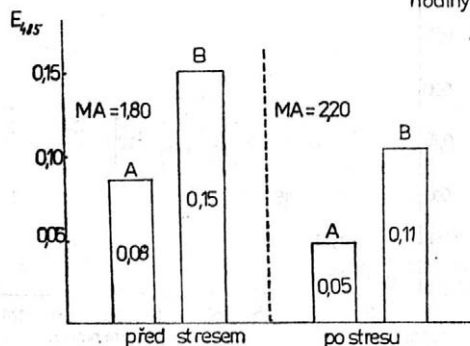
TEST INT PO MYOSTRESU

Na obr. 4 jsou uvedeny výsledky testu INT u prasat před myostresovou zátěží a za 24 hodiny po ní.

Z průměrných výsledků 38 vyšetření prasat je patrné, že myostres velmi výrazně ovlivnil fagocytární aktivitu leukocytů, přičemž aktivita nestimulovaných leukocytů klesla ještě výrazněji než aktivita stimulovaných leukocytů; proto má index (MA) po vyvolání stresu vyšší hodnotu.



3. Průměrné výsledky 16 vzorků prasečí krve u nestimulovaných a stimulovaných leukocytů v závislosti na době provedení testu INT (nižší hodnoty — E nestimulovaných leukocytů; vyšší hodnoty — E stimulovaných leukocytů). V grafu jsou uvedeny hodnoty indexu metabolické aktivity MA — Average data on 16 samples of pig blood in non-stimulated and stimulated leucocytes as depending on the time of performing the INT test (lower values — E of non-stimulated leucocytes; higher values — E of stimulated leucocytes). Values of the metabolic activity MA index are given in the diagram



4. Průměrné výsledky u 38 vzorků krve prasat před myostresem a 24 hodiny po něm (A — nestimulované leukocyty, B — stimulované leukocyty, MA — metabolická aktivita) — Average data on 38 samples of pig blood before myostress and 24 hours after exposure to stress (A — non-stimulated leucocytes, B — stimulated leucocytes, MA — metabolic activity)

U stejných krevních vzorků byla dále měřena schopnost migrace leukocytů testem LMI a bylo zjištěno, že migrace leukocytů je vlivem stresu výrazně snížena: u 38 prasat klesla po stresové zátěži schopnost leukocytů migrovat pod vrstvou agarového média v průměru o 16 %.

TEST INT PO VAKCINACI PRASAT PROTI VIRU ACH

Prasata byla vyšetřena před imunizací a potom dva dny po aplikaci vakcíny. Po imunizaci se zvýšila fagocytární aktivita u nestimulovaných i stimulovaných leukocytů; rovněž hodnoty indexu MA byly po imunizaci vyšší. Průměrné výsledky vyšetření šesti vzorků krve prasat jsou uvedeny na obr. 6.

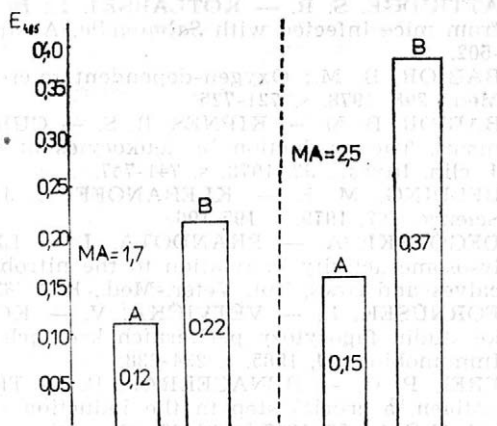
DISKUSE

Na rozdíl od většiny literárních údajů o vysoké koncentraci testovaných leukocytů — $1 - 5 \cdot 10^7$ b. ml⁻¹ (Roth a Kaeberle, 1981; Freund a Pick, 1984) jsme zjistili, že k vyšetření testem INT stačí i menší počet buněk (obr. 5); proto stačí odebrat pouze 3 až 4 ml krve. Podobně Procházková aj. (1985) uvádějí v metodice testu INT počet $4 \cdot 10^6$ humánních fagocytujících buněk.

Köppler aj. (1980) zjistili, že intenzita fagocytózy lidských polymorfonukleárů je nejvyšší do 30 minut inkubace, ale během dalších 30 minut se průběh reakcí velmi zpomalí. Pick aj. (1981) stanovili u peritoneálních morčecích makrofágů optimální dobu inkubace 60 minut. Pětaticetiminutová inkubační doba, kterou jsme určili jako optimální pro prasečí buňky, se tedy od uvedených literárních údajů v podstatě neliší. Výsledky testu INT u stresovaných prasat souhlasí s údaji z oblasti humánní medicíny. Shigeoka aj. (1979) stanovili, že u stresovaných dětí mají polymorfonukleáry sníženou metabolickou aktivitu. Souvisí to s nižší mikrobiální kapacitou těchto buněk, což indikuje sníženou funkci buněčné imunity.

Po imunizaci byly naopak hodnoty v testu INT zvýšeny (obr. 5), neboť na rozdíl od stresové zátěže, která má za následek různý stupeň imunosuprese, jsou fagocytující buňky vlastními efektoři protiinfekční obrany a pro většinu antigenních podnětů je účast těchto buněk nezbytná k navození imunitní odpovědi (Frei aj., 1965). Bylo proká-

5. Průměrné výsledky testu INT u šesti krevních vzorků prasat před a po imunizaci proti ACH a 2 dny po ní (A — nestimulované leukocyty, B — stimulované leukocyty, MA — metabolická aktivita) — Average data on the INT test for six samples of pig blood before and after immunization against ACH and two days after immunization (A — non-stimulated leucocytes, B — stimulated leucocytes, MA — metabolic activity)



záno (Rosenstreich a Mizel, 1978), že makrofágy jsou *in vitro* nezbytné pro aktivaci T lymfocytů antigeny (Seeger a Oppenheim, 1970), mitogeny (Levis a Robbins, 1970; Rosenstreich aj., 1976) a alogenními buňkami (Alter a Bach, 1970). V nespecifické stimulaci mohou fagocyty buňky vázat mitogeny (podobně jako antigen) a předkládat je lymfocytům ve stimulující formě (Rosenstreich aj., 1976).

Makrofágy produkují rozpustné faktory, které se účastní procesu aktivace lymfocytů (Rosenstreich a Mizel, 1978). Aktivované makrofágy produkují dále interleukin I (Osebold, 1982), který má mitogenní účinky na lymfocyty. Po stimulaci pomocných T lymfocytů se uvolní signály, které spolu s příslušným antigenem způsobí přeměnu B lymfocytů v plazmatické buňky, a tím dojde k tvorbě protilátek (Allison, 1979).

Reakce mezi buňkami jsou vzájemné, např. Valentine (1974) uvádí, že lymfocyty z imunizovaných morčat tvoří různé rozpustné látky, z nichž MIF (migration inhibition factor) inhibuje *in vitro* pohyb makrofágů. Byly zjištěny ještě další látky, např. chemotaktické faktory (Nelson aj., 1975) odlišné od MIF, které rovněž ovlivňují makrofágy.

Podobně Attridge a Kotlarski (1985) uvádějí, že v přítomnosti bakteriálního antigenu uvolňují některé T buňky lymfokiny a ty zvyšují počet tkáňových makrofágů a podstatně ovlivňují jejich baktericidní aktivitu.

Je tedy možno test INT zařadit k metodikám, pomocí kterých lze ověřovat stav nespecifické, buňkami zprostředkované imunity. Tato imunita ovlivňuje např. odolnost organismu vůči infekčním chorobám. Z praktického hlediska si proto tyto metody ve veterinární medicíně zaslouží další studium a ověřování.

Literatura

- ALLEN, R. C. — STJERNHOLM, R. C. — STEELE, R. H.: Evidence for the generation of an electronic excitation state in human polymorphonuclear leukocytes and its participation in bactericidal activity. *Biochem. biophys. Res. Commun.*, 47, 1972, s. 679-684.
- ALLISON, A. C.: Mode of action of immunological adjuvants. *J. reticuloendothel. Soc.*, 26, 1979, s. 619-630.
- ALTER, B. J. — BACH, F. H.: Lymphocyte reactivity *in vitro*. I. Cellular reconstitution of purified lymphocyte response. *Cell. Immunol.*, 1, 1970, s. 207-215.
- ATTRIDGE, S. R. — KOTLARSKI, I.: *In vitro* lymphokine release by lymphocytes from mice infected with *Salmonella*. *Austral. J. exp. Biol. med. Sci.*, 63, 1985, s. 489-502.
- BABIOR, B. M.: Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes. *New Engl. J. Med.*, 298, 1978, s. 721-725.
- BABIOR, B. M. — KIPNES, R. S. — CURNUTTE, J. T.: Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide a potential bactericidal agent. *J. clin. Invest.*, 52, 1978, s. 741-747.
- BELDING, M. E. — KLEBANOFF, S. J.: Peroxidase-mediated viricidal systems. *Science*, 167, 1979, s. 195-196.
- DEGÓRSKI, A. — PRANDOTA, J. — LECHOWSKI, R. — MIERNIK, E.: Serum lysosome activity in relation to the nitroblue tetrazolium reduction test in newborn calves and cows. *Zbl. Veter.-Med., R. A.*, 32, 1985, s. 241-248.
- FORNŮSEK, L. — VĚTVICKÁ, V. — KOPEČEK, J. — PEŠEK, M.: Nová metoda ke studiu fagocytózy periferních krevních leukocytů. *Českoslov. Epidem. Mikrobiol. Immunobiol.*, 34, 1985, s. 234-238.
- FREI, P. C. — BENACERRAF, B. — THORNBECKE, G. J.: Phagocytosis of the antigen, a crucial step in the induction of the primary response. *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.*, 53, 1965, s. 20-26.

- FREUND, M. — PICK, E.: Biochemistry of lymphokine action on macrophages modulation of macrophage superoxide production by lymphokine. In: GOLDSTEIN, A. L. (Ed.): Thymic hormones and lymphokines. New York, Plenum Press 1984.
- FREUND, M. — PICK, E.: The mechanism of action of lymphokines. VIII. Lymphokine — enhanced spontaneous hydrogen peroxide production by macrophages. *Immunology*, 54, 1985, s. 35-45.
- FURTH, R. — COHN, Z. A.: The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. *J. exp. Med.*, 128, 1968, s. 415-433.
- GRANÁTOVÁ, M. — TOMAN, M. — PŠIKAL, I. — MENŠÍK, P.: Hodnocení buňkami zprostředkované imunity. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1986. 29 s.
- GUTEKUNST, D. E.: Cellular immunity shown in *Pseudorabies* virus infected pigs by leukocyte migration — inhibition procedure. *Amer. J. veter. Res.*, 40, 1979, s. 66-68.
- HARPE, J. — NATHAN, C. F.: A semi-automated micro-assay for H_2O_2 release by human blood monocytes and mouse peritoneal macrophages. *J. immunol. Meth.*, 78, 1985, s. 323-336.
- CHATELET de, L. R.: Initiation of the respiratory burst in human polymorphonuclear neutrophils. A critical review. *J. reticuloendothel. Soc.*, 24, 1978, s. 73-79.
- KEIZER, D. G. — FIGDOR, C. G. — De VRIES, J. E.: Sensitive and quantitative determination of monocyte adherence. *J. immunol. Meth.*, 95, 1986, s. 141-147.
- KÖPPLER, H. — GROPE, C. — HAVEMANN, K.: A modified spectrophotometric test for nitroblue tetrazolium reduction of granulocytes and monocytes and its application for testing inhibition of monocytes by serum components in tumor paries. *Immunobiol.*, 157, 1980, s. 320-330.
- LEVIS, W. R. — ROBBINS, J. H.: Function of glass-adherent cells in human mixed lymphocyte cultures. *Transplantation*, 9, 1970, s. 515-521.
- LIPSKY, P. E. — ROSENTHAL, A. S.: Macrophage-lymphocyte interaction. *J. exp. Med.*, 1, 1973, s. 900-924.
- LOKAJ, L. — OBŮRKOVÁ, P.: Stanovení tetrazolium reduktázové aktivity leukocytů. *Imunol. Zprav.*, VI, 1975, s. 42-44.
- MEČNIKOV, I. I.: Otázky imunity. Praha, ČSAV 1955, s. 457-490.
- NELSON, R. D. — QUIE, P. G. — SIMMONS, R. L.: Chemotaxis under agarose: a new and simple method for measuring chemotaxis and spontaneous migration of human polymorphonuclear leukocytes and monocytes. *J. immunol.*, 115, 1975, s. 1650-1656.
- OSEBOLD, J. W.: Mechanism of action by immunologic adjuvants. *J. Amer. veter. med. Assoc.*, 1982, s. 983-987.
- OSSERMAN, E. F. — CANFIELD, R. E. — BEYCHOP, S.: Lysosome. New York and London, Academic Press 1974.
- PICK, E. — CHARON, J. — MIZEL, D.: A rapid densitometric microassay for nitroblue tetrazolium reduction and application of the microassay to macrophages. *J. reticuloendothel. Soc.*, 30, 1981, s. 35-42.
- PROCHÁZKOVÁ, J. — MAREČEK, D. — ZAYDLAR, K.: A microassay for tetrazolium reductase activity of polymorphonuclear leukocytes — comparison with a test tube technique. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.*, 29, 1985, s. 447-455.
- ROSENSTREICH, D. J. — MIZEL, S. B.: The participation of macrophages and cell lines in the activation of T lymphocyte by mitogens. *Immunol. Rev.*, 40, 1978, s. 102-135.
- ROSENSTREICH, B. J. — FARRAR, J. J. — DONGHERTY, S.: Absolute macrophage dependence of T lymphocyte activation by mitogens. *J. Immunol.*, 116, 1976, s. 131-139.
- ROTH, J. A. — KAEBERLE, M. L.: Evaluation of bovine polymorphonuclear leukocyte function. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 2, 1981, s. 157-174.
- ROZKOŠNÁ, A. — BÄRTL, M. — LOJDA, L.: Nové možnosti v diagnostice zářezových myopathií prasat. [Výzkumná zpráva.] Brno, Výzkumný ústav veterinárního lékařství 1986. 85 s.
- SEEGER, R. C. — OPPENHEIM, J. J.: Synergistic interaction of macrophages and lymphocytes in antigen-induced transformation of lymphocytes. *J. exp. Med.*, 132, 1970, s. 44-49.
- SHIGEOKA aj. 1979 — autorka doplní v korektuře —
— blokovat —
- TAKAI, S. — MOROZUMI, Y. — HIGYSHIYAMA, S. — TSUBAKI, S.: Nitroblue tetrazolium reduction by neutrophils of newborn foals, adult horses, and a foal

infected with *Rhodococcus (Corynebacterium) equi*. Jap. J. veter. Sci., 48, 1986, s. 405-408.

VALENTINE, F. T.: Soluble factors produced by lymphocytes. Ann. N. Y. Acad. Sci., 221, 1974, s. 317-323.

WU, A. M. — TILL, J. E. — SIMINOVITH, L. — McCULLOCH, B. A.: Cytological evidence for a relationship between normal hematopoietic colony-forming cells and cells of the lymphoid system. J. exp. Med., 127, 1968, s. 455-461.

Došlo dne 3. 6. 1988

ГРАНАТОВА, М. (Научно-исследовательский институт ветеринарии, Брно): **Использование редукции тетразолиновой соли для доказательства фагоцитарной активности у свиней.** Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 231-238.

Одним из показателей неспецифического, клетками не обусловленного иммунитета можно назвать способность фагоцитарной системы реагировать на присутствие антигенных импульсов и стимуляторов. Фагоцитарная активность, вызванная данным способом *in vitro* затем может подвергаться количественной оценке при помощи разных методов. В данной работе использовали метод редукции безцветной тетразолиновой соли (INT) до красного формазана. Устанавливали оптимальные условия для проведения данного теста у изолированных периферических лейкоцитов свиней. Определили, что для обследования фагоцитарной активности достаточно взять для анализа 3—4 мл крови свиней, из которой можно методом осаждения изолировать $6 \cdot 10^6$ лейкоцитов, которые понадобятся для проведения теста. Затем определили оптимальный срок инкубации 45 минут. Установили, что тест INT воспроизводим до 24 часов после взятия крови на анализ, в том случае, если она хранится при температуре +4 °C. Тестом INT обследовали 38 образцов крови свиней до стресса сердечной мышцы и после него. Данная нагрузка отчетливо влияет во-первых на снижение фагоцитарной активности, во-вторых на способность лейкоцитов передвигаться в тесте LMI. Затем тестом INT обследовали шесть свиней до подачи первой дозы инактивированной вакцины против вируса болезни Ауески и в течении двух дней после него. Применение вакцины значительным образом повышало фагоцитарную активность неспецифических клетками обусловленного иммунитета; 3 (4 йодфенил)-2-(4-нитрофенил)-5 фенилтетразолиум хлорид — INT; ингибция миграции лейкоцитов — LMI; вирус болезни Ауески; стресс сердечной мышцы

GRANÁTOVÁ, M. (Veterinary Research Institute, Brno): **The Use of Tetrazolium Salt Reduction Test for Detecting Phagocytic Activity in Pigs.** Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 231-238.

One of the indicators of non-specific, cell-mediated immunity can be the ability of phagocytic system to react to the presence of antigenic impulses and stimulators. The phagocytic activity induced in this way *in vitro* can be evaluated quantitatively by help of different methods. In this study the method of the reduction of colourless tetrazolium salt (INT) to the red formazane was used. The optimum conditions for carrying out this test in isolated peripheral pig leucocytes were determined. It was stated that 3—4 ml samples of pig blood, from which $6 \cdot 10^6$ leucocytes necessary for the test can be isolated, were sufficient for the examination of phagocytic activity. Further, 45 minutes were determined as the optimum time of incubation. It was found that the INT test can be reproduced by 24 hours after blood sampling provided the blood is kept at the temperature of +4 °C. The INT test was used for examining 38 pig blood samples before and after myostress; this stress has a significant effect both on a decrease of phagocytic activity and on the ability of leucocytes to migrate in the LMI test. The INT test was further used for examining pigs before the administration of the first dose of the inactivated vaccine against the Aujeszky's disease virus and two days after; the application of the vaccine significantly increased the phagocytic activity.

non-specific cell-mediated immunity; 3(4 iodophenyl)-2-(4-nitrophenyl)-5 phenyl-tetrazolium chloride — INT; leucocytes migration inhibition — LMI; Aujeszky's disease virus; myostress

Adresa autorky:

RNDr. Marta Granátová, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

REZIDUA CHLÓROVANÝCH PESTICIDŮ A POLYCHLÓROVANÝCH BIFENYLŮ V RYBÁCH POCHÁZEJÍCÍCH Z RŮZNÝCH LOKALIT ČR

F. Kredl, J. Svobodník, Z. Svobodová

KREDL, F. — SVOBODNÍK, J. — SVOBODOVÁ, Z. (Státní veterinární ústav, Jihlava; Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, Vodňany): *Rezidua chlórovaných pesticidů a polychlórovaných bifenyli v rybách pocházejících z různých lokalit ČR*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 239-250.

V letech 1984 až 1986 jsme vyšetřili celkem 175 vzorků 14 druhů ryb na rezidua chlórovaných pesticidů a polychlórovaných bifenyli. Rezidua sledovaných látek byla zjištěna ve všech vyšetřených vzorcích. Hladiny reziduí chlórovaných uhlovodíků ovlivňuje u ryb zejména potravní spektrum, dále kontaminace prostředí, ve které ryby žijí, ale i věk ryb a množství tuku v jejich těle, ve kterém jsou lipofilní chlórované uhlovodíky obsaženy. Pro rezidua chlórovaných uhlovodíků v rybách nejsou v ČSSR navrženy tolerance, s výjimkou sumy DDT = 2,000 mg.kg⁻¹ tuku. Při použití nejvyšších množství povolených pro chlórované pesticidy v rybách v NSR a nejvyšších množství povolených v rybách pro PCB v USA, vztažených na hmotu svaloviny, nevyhovují z námi vyšetřených vzorků ryb pouze ryby pocházející z Vltavy pod Prahou. Všechny vyšetřené ryby pocházející z ostatních lokalit vyhovují limitům pro chlórované pesticidy v NSR a limitu pro PCB platnému v USA. Vzhledem k velmi rozdílnému obsahu tuku ve svalovině jednotlivých druhů ryb je vyjádření výsledků na kilogram hmoty svaloviny z hlediska hygienicko-potravinářského průkaznější a je konkrétním ukazatelem obsahu těchto látek v rybách jako poživatině.

ryby; nejvyšší povolená množství reziduí; potravní spektrum; kontaminace prostředí

Chlórované pesticidy, intenzívně užívané v minulých desetiletích proti škůdcům kulturních plodin, jsou ubikvitární kontaminanty životního prostředí. Jsou-li jimi exponovány ryby, děje se tak jejich kontaktem s kontaminovanou vodou, nebo prostřednictvím kontaminované potravy. Všeobecně závisí koncentrace reziduí cizorodých látek v rybách na úrovni expozice, její délce, na povaze cizorodé látky, na její rozpustnosti ve vodě, na druhu ryb a jejich schopnosti metabolizovat nebo vylučovat kontaminanty.

Podle literatury jsou např. hladiny sumy DDT v rybách ve srovnání s hladinami nalezenými ve vodě až 80 000násobné. Proto mohou být ryby, ale i mnoho jiných vodních organismů, využity jako „indikátorové organismy“ pro sledování znečištění vody chlórovanými uhlovodíky i dalšími látkami a pro sledování jejich případného působení na vodní prostředí.

Předkládaná práce uvádí hladiny reziduí chlórovaných pesticidů a PCB v rybách pocházejících z různých míst ČR, analyzovaných v letech 1984 až 1986 na SVÚ Jihlava, a porovnává zjištěné výsledky s výsledky uvedenými v odborné literatuře.

O problematice reziduí chlórovaných pesticidů ve sladkovodních a mořských rybách existuje rozsáhlá literatura. Již dlouhodobě jsou tato rezidua sledována v Kanadě a v USA. Gilbertson (in: Harris a Milles, 1975) sledoval rezidua DDT v rybách Erijského jezera. Reinert aj. (1972) uvádějí obsah DDT v rybách z Michiganského jezera až 10 mg.kg^{-1} . Harris a Milles (1975) našli u sumců v oblasti Velkých jezer v Kanadě sumu DDT v rozmezí 645 až $955 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$. Osama a Badawy (1984) sledovali hladiny reziduí chlórovaných pesticidů u ryb v Nilu. Nalezli nejvyšší hladinu sumy DDT = $223,8 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$, HCB v rozmezí 0,5 až $30,0 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ a γ -HCH v rozmezí 0,6 až $18,6 \text{ } \mu\text{g.kg}^{-1}$ (všechny výsledky jsou udány ve hmotě svaloviny).

Od počátku 80. let nabyla na důležitosti otázka reziduí PCB v potravinách a v životním prostředí. Většina prací zabývajících se reziduí chlórovaných pesticidů udává současně i rezidua PCB. Toxicitu PCB vůči rybám sledovali Stalling a Mayer (1972). Uvádějí, že toxicita PCB vůči rybám je nepřímo úměrná procentu chlorace. Prímá expozice PCB vodou představuje pro ryby větší nebezpečí než expozice dietetická. Hynutí ryb následkem otravy PCB nastává při chronickém působení při nálezech 500 až 600 mg.kg^{-1} v tkáni.

Schüler aj. (1985) sledovali hladiny reziduí chlórovaných pesticidů a PCB u ryb v řece Lahn v NSR. Hladiny reziduí PCB vzrůstaly v průmyslových oblastech, v zemědělských oblastech na horním toku řeky byly nízké. Monod a Keck (1982) vyšetřovali různé druhy ryb z Ženevského jezera. Pokud se výsledky vyjadřují na hmotu, vysvětlují autoři značné rozdíly zjištěné mezi obsahem PCB v různých orgánech rozdílem obsahu tuku. Pokud se výsledky vztáhnou na tuk, jsou rozdíly malé. Terán a Sierra (1987) analyzovali 22 pstruhů ze čtyř řek ve Španělsku. Vysoké nálezy sumy DDT vysvětlují vysokou koncentrací DDT v půdě, kde rezidua dlouho perzistují a odkud se přenášejí do vody a do vodních živočichů.

Hurlbert (1975) ve své studii věnoval pozornost druhotným vlivům pesticidů na vodní ekosystém. Pesticidy se nejen hromadí ve tkáních ryb, ale působí i na fotosyntézu fytoplanktonu, zvyšují úhyn zooplanktonu a snižují reprodukční schopnost bezobratlých. Tak ubývá přirozená potravní základna ryb, protože organismy, které ji tvoří, jsou v mnoha případech k pesticidům citlivější než ryby.

Z našich autorů Palúšová a Sackmauerová (1977) sledovali dynamiku reziduí chlórovaných pesticidů v biocenóze Dunaje v období let 1971 až 1974. Kačmár aj. (1978) našli výrazně zvýšenou hladinu DDT a jeho metabolitů v rybách na území Východoslovenského kraje.

Gajdůšková a Matyáš (1979) analyzovali rezidua chlórovaných pesticidů v rybníční vodě a v kaprech z oblasti Státního statku Pohořelice. Ve svalovině kaprů našli tyto průměrné hladiny pesticidů v mg.kg^{-1} tuku: HCB = 0,172; $\alpha + \beta$ -HCH = 0,160; γ -HCH = 0,155; DDE = 0,375 a DDT = 0,383.

Svobodová aj. (1983a) považují za nejlepší bioindikátor parmu obecnou. Dalšími vhodnými bioindikátory jsou dravé ryby (bolen dravý a štika obecná). Vzhledem k značné rozdílnému obsahu tuku ve svalovině jednotlivých druhů ryb doporučují tyto autoři vyjadřovat hodnoty reziduí chlórovaných uhlovodíků u ryb na kilogram svaloviny.

Svobodová aj. (1983b) našli nejvyšší hodnoty reziduí chlórovaných uhlovodíků v sedimentech dna, potom je pořadí ryby, zooplankton a fytoplankton. Nejnížší hodnoty našli v rybníční vodě. Ve vodě a v sedimentech dna převažují rezidua HCB a izomérů HCH, v rybách, zooplanktonu a v zoobentosu rezidua DDT a jeho metabolity.

Svobodová aj. (1985) sledovali rezidua chlórovaných pesticidů v jednotlivých složkách vodního prostředí. V rybách převažují rezidua DDT. Nálezy ostatních sledovaných pesticidů klesají v pořadí: lindan, α -HCH, HCB.

Jelínek (1985) udává výsledky vyšetření 25 ryb ulovených v oblasti Tiché a Divoké Orlice na obsah reziduí PCB. Výsledky jsou dosti vysoké a pohybují se v rozmezí 2,786 až 162 mg.kg^{-1} PCB v tuku.

MATERIÁL A METODA

Na obsah reziduí chlórovaných pesticidů (HCB, α -HCH, β -HCH, γ -HCH, sumy DDT = $(p,p'DDE + p,p'DDT)$) a PCB byly vyšetřeny vzorky ryb dodané v letech 1984 až 1986 Státnímu veterinárnímu ústavu v Jihlavě:

a) v souvislosti s jejich exportem do zahraničí, popř. před jejich převedením do obchodní sítě u nás,

b) jako bioindikátory znečištění vod sledovanými chlórovanými uhlovodíky,
c) v rámci spolupráce s Výzkumným ústavem rybářským a hydrobiologickým ve Vodňanech.

Ve sledovaném období bylo vyšetřeno celkem 175 vzorků 14 druhů ryb pocházejících z různých lokalit ČSR. Šlo zejména o jihočeské a západočeské rybníky, vzorky z oblasti Tiché a Divoké Orlice, z údolní nádrže Želivka, z povodí Jizery, z údolní nádrže Podhora na řece Teplé, z Vltavy pod Prahou v Dole u Libčic a z některých dalších míst.

Pro stanovení reziduí chlórovaných pesticidů a PCB byly zpracovány homogenáty svaloviny ryb. K izolaci reziduí z biologického materiálu a čištění extraktů bylo použito metody, kterou popsali Hruška a Kociánová (1978). Postup byl rozšířen o metodu na stanovení reziduí PCB, kterou popsali Kredl a Breyl (1984). Princip izolace reziduí spočívá v extrakci tuku ze vzorku společně s rezidui lipofilních pesticidů a PCB směsí aceton-petroléter a v odstranění tuku a koextra-hovaných znečištěnin na sloupci florisilu.

Pro stanovení reziduí HCB, α -HCH, β -HCH a γ -HCH byl použit plynový chromatograf HP 5730A s ECD, s integrátorem HP 3390A, se skleněnou kolonou o délce 5 stop (152 cm), vnitřní průměr 2 mm, s náplní 1,5% OV-17 + 1,95% QF-1 na Chromosorbu W, 80/100 mesh; teplota: injektor 200 °C, kolona 170 °C, detektor 300 °C; průtok nosného plynu (N_2) = 40 ml. min⁻¹.

Pro stanovení reziduí sumy DDT a PCB byl použit plynový chromatograf HP 5880A, s ECD se skleněnou kolonou o délce 5 stop (152 cm), vnitřní průměr 2 mm, s náplní 10% OV-101 na Gas-Chrom Q, 80/100 mesh. Teplota: injektor 270 °C, kolona 225 °C, detektor 300 °C; průtok nosného plynu (N_2) = 45 ml. min⁻¹.

Bylo použito metody absolutní kalibrace. Standardy chlórovaných pesticidů pocházely od firmy Polyscience Corp., Illinois, USA. Jako standard PCB byl použit Aroclor 1260 od firmy Supelco, Inc. USA.

Citlivost stanovení pro rezidua chlórovaných pesticidů je 0,001 mg. kg⁻¹ tuku, u PCB 0,030 mg. kg⁻¹ tuku.

VÝSLEDKY

Tab. I obsahuje nálezy hladin reziduí chlórovaných pesticidů a PCB v mase ryb, seřazené podle klesajícího množství sumy sledovaných reziduí bez ohledu na místo jejich odlovení. V tab. II je uvedeno potravní spektrum vyšetřených ryb, rovněž v sestupném pořadí zjištěných hladin reziduí chlórovaných uhlovodíků.

Tab. III udává hodnoty reziduí chlórovaných pesticidů a PCB v rybách ulovených v různých lokalitách v roce 1986:

- a) údolní nádrž Želivka — Borovsko,
- b) údolní nádrž Podhora (řeka Teplá u Mariánských Lázní),
- c) Vltava pod Prahou — v Dole u Libčic.

Tab. IV obsahuje výsledky vyšetření hladin reziduí sledovaných chlórovaných uhlovodíků u tříletých pstruhů obecných, ulovených v různých místech v oblasti Tiché a Divoké Orlice, povodí Jizery a z údolní nádrže Rozkoš u České Skalice, spolu s výsledky vyšetření svaloviny kaprů z rybníků Jihočeského a Západočeského kraje.

Tab. V udává hodnoty sledovaných reziduí v rybách pocházejících z Vltavy pod Prahou (z tab. III), ale přepočtené na substanci svaloviny (mg. kg⁻¹).

DISKUSE

Rezidua chlórovaných uhlovodíků byla zjištěna ve všech vyšetřených vzorcích. V tab. I jsou jednotlivé druhy ryb seřazeny podle klesajících nálezů sumy chlórovaných pesticidů a PCB. Z tabulky je zřejmé, že v horní části — s vyšší sumou reziduí — jsou zejména ryby dravé,

I. Rezidua sledovaných pesticidů a PCB v masě ryb podle klesajícího množství sumy sledovaných reziduí, bez ohledu na místo jejich odlovení (výsledky v mg.kg⁻¹ tuku) — Residues of the monitored pesticides and PCB in fish flesh, according to a decreasing sum of the residues, irrespective of the place where the fish were caught (the results in mg per kg of fat)

Druh	Počet	HCB	$\alpha + \beta - \text{HCH}$	$\gamma - \text{HCH}$	$\Sigma \text{ DDT}$	PCB	suma reziduí
Bolen dravý	2	0,545 0,051—1,039	5,555 0,108—11,001	0,114 0,054—0,174	38,241 9,494—66,988	22,559 1,296—43,822	67,014
Jelec proudník	2	0,572 0,524—0,620	4,940 4,883—4,997	0,353 0,315—0,391	28,818 24,948—32,687	12,668 12,614—12,722	47,351
Úhoř říční	3	0,063 stopa—0,160	0,229 0,013—0,495	0,244 stopa—0,464	5,538 2,364—9,094	27,527 0,601—79,194	33,601
Jelec tloušť	3	0,429 0,106—0,678	3,083 0,071—4,928	0,199 0,161—0,263	21,050 1,324—32,908	8,470 4,434—10,899	33,231
Štika obecná	6	0,465 0,114—1,164	2,505 0,124—7,863	0,658 0,223—1,767	13,069 0,694—34,497	12,177 0,412—34,497	28,874
Pstruh obecný	99	0,225 neg.—1,926	0,277 neg.—2,130	0,327 neg.—5,914	11,707 0,208—193,891	13,724 0,233—371,039	26,260
Plotice obecná	4	0,236 0,025—0,728	1,526 stopa—5,911	0,227 0,085—0,416	12,084 2,036—37,254	8,119 0,340—24,270	22,192
Okoun říční	10	0,266 0,028—1,065	1,454 0,177—8,602	0,405 0,181—1,180	8,790 5,541—12,512	6,619 0,502—24,156	17,534
Lipan podhorní	4	0,618 0,346—0,856	0,108 0,053—0,120	0,294 0,169—0,358	2,837 1,654—5,368	9,095 4,636—15,820	12,952
Síh peleď	6	0,033 0,018—0,050	0,263 0,017—0,630	0,107 0,052—0,155	3,299 1,623—1,815	0,283 0,125—0,470	3,985
Lín obecný	4	0,064 neg.—0,119	0,137 neg.—0,284	0,335 0,163—0,806	2,338 1,084—3,596	0,484 0,063—0,972	3,358
Cejn velký	7	0,028 0,016—0,043	0,106 0,048—0,306	0,159 0,089—0,216	2,739 0,717—5,570	0,308 0,179—0,597	3,340
Kapr obecný	23	0,087 0,004—0,531	0,058 0,006—0,276	0,068 neg.—0,372	1,324 0,389—5,168	0,209 stopa—0,805	1,746
Tolstolobik bílý	2	0,035 0,033—0,037	0,112 0,090—0,152	0,136 0,074—0,198	0,634 0,165—0,653	0,084 0,075—0,092	1,010

II. Potravní spektrum vyšetřených ryb v sestupném pořadí zjištěných hladin reziduí chlórovaných pesticidů a PCB — Food spectrum of the examined fish in a descending order of the concentrations of chlorinated pesticides and PCB residues

Druh	Latinský název	Hlavní složky potravy
Bolen dravý	<i>Aspius aspius</i>	drobné ryby (ouklej, plotice, okoun), náletová potrava (hmyz spadlý na hladinu)
Jelec proudník	<i>Leuciscus leuciscus</i>	bentos, náletová potrava (hmyz spadlý na hladinu)
Úhoř říční	<i>Anguilla anguilla</i>	bentos, uhynulé a nemocné ryby, drobné živé ryby
Jelec tloušť	<i>Leuciscus cephalus</i>	bentos, zooplankton, náletová potrava (hmyz spadlý na hladinu), rostliny, drobné živé ryby
Štika obecná	<i>Exos lucius</i>	živé ryby (plotice, okoun, ouklej, kapr, lín)
Pstruh obecný	<i>Salmo trutta</i>	bentos, náletová potrava (hmyz spadlý na hladinu), drobné ryby (střevle, vranka)
Plotice obecná	<i>Rutilus rutilus</i>	zooplankton, bentos
Okoun říční	<i>Perca fluviatilis</i>	zooplankton, bentos, větší jedinci, také malé ryby (plotice, okoun a plůdek ostatních druhů)
Lipan podhorní	<i>Thymallus thymallus</i>	náletová potrava (hmyz spadlý na hladinu), bentos, větší jedinci, také drobné ryby
Síh peleď	<i>Coregonus albula</i>	zooplankton, částečně bentos
Lín obecný	<i>Tinca tinca</i>	zooplankton, bentos (včetně např. měkkýšů)
Cejn velký	<i>Abramis brama</i>	zooplankton, bentos
Kapr obecný	<i>Cyprinus carpio</i>	zooplankton, bentos
Tolstolobik bílý	<i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	fytoplankton, zooplankton

zatímco u ryb živících se hmyzem atd. jsou hodnoty sumy sledovaných reziduí nižší. Nejnižší hladiny reziduí má podle našich sledování býložravá ryba tolstolobik.

Jsme si vědomi, že zařazení ryb podle průměrných hodnot reziduí v tab. I ovlivňují rovněž místa jejich odběrů, tj. kontaminace lokality. Např. oba vzorky jelce proudníka pocházejí ze silně znečištěné Vltavy pod Prahou, proto obsahují relativně vysoké hladiny reziduí. Nejkontaminovanější rybou z námi vyšetřených je bolen, a to nejen průměrnou celkovou hodnotou reziduí, ale i v obou skupinách ryb podle místa odběru (tj. v čisté vodě nádrže Želivka a ve znečištěné vodě Vltavy). Je tedy zřejmé, že hladiny reziduí v rybách silně ovlivňuje jejich potravní spektrum.

Naše nálezy hladin reziduí PCB v rybách pocházejících z Vltavy pod Prahou jsou srovnatelné s nálezy hladin reziduí PCB v rybách ze Ženevského jezera, jak je udávají Monod a Keck (1982):

druh	mg . kg ⁻¹ tuku	
	samci	samice
losos	22,0—41,0	13,0—22,0
plotice obecná	5,7—15,0	7,0—11,0
okoun říční	10,0—12,0	12,0—17,0
síh peleď	2,4	4,4

III. Obsah reziduí chlórovaných pesticidů a PCB v rybách pocházejících z různých lokalit (výsledky v mg.kg⁻¹ tuku) —
 Contents of chlorinated pesticides and PCB residues in fish coming from different localities (the results in mg per 1 kg of fat)

Datum	Místo odběru	Druh	Počet	HCB	$\alpha + \beta$ - HCH	γ - HCH	Σ DDT	PCB	Suma reziduí	DDT/PCB
16. 7. 1986	Želivka — Borovsko	bolen	1	0,051	0,108	0,174	9,494	1,296	11,123	7,326
		okoun	1	0,028	0,189	0,181	5,723	0,502	6,623	11,400
		síh	3	0,030 0,026—0,036	0,281 0,108—0,537	0,099 0,064—0,155	4,904 3,042—6,076	0,359 0,108—0,470	5,673	13,660
		plotice	2	0,038 0,025—0,050	0,096 0,069—0,122	0,203 0,115—0,291	4,503 4,047—4,959	0,376 0,340—0,412	5,216	11,976
		cejn	4	0,022 0,010—0,043	0,070 0,058—0,090	0,144 0,089—0,260	4,025 3,265—5,570	0,347 0,249—0,547	4,608	11,599
		úhoř	1	0,030	0,013	stopa	5,156	0,601	5,800	8,579
30. 10. 1986	Podhora — řeka Teplá	štika	3	0,148 0,114—0,177	0,339 0,300—0,376	0,367 0,315—0,403	3,710 2,732—4,861	0,801 0,412—1,150	5,365	4,632
		lín	2	0,051 neg.—0,102	0,142 neg.—0,284	0,485 0,163—0,806	3,495 3,393—3,596	0,718 0,463—0,972	4,891	4,868
		síh	3	0,036 0,018—0,050	0,244 0,017—0,630	0,114 0,052—0,152	1,694 1,623—1,815	0,207 0,125—0,252	2,295	8,184
		cejn	3	0,033 0,028—0,039	0,155 neg.—0,215	0,172 0,129—0,216	1,026 0,717—1,594	0,257 0,179—0,315	1,643	3,992
		tolstolobik	2	0,035 0,033—0,037	0,121 0,090—0,152	0,136 0,074—0,198	0,634 0,615—0,653	0,084 0,075—0,092	1,010	7,549
30. 10. 1986	Vltava — Dol u Libčic	bolen	1	1,039	11,001	0,054	66,988	43,822	122,904	1,529
		plotice	1	0,728	5,911	0,416	37,254	24,270	68,579	1,535
		štika	2	0,818 0,472—1,164	5,863 3,863—7,863	1,175 0,582—1,767	28,529 22,478—34,579	20,944 17,490—24,497	57,329	1,362
		okoun	2	0,799 0,533—1,065	6,964 5,325—8,602	0,957 0,733—1,180	30,948 23,727—38,169	11,995 9,976—14,013	51,663	2,580
		tloušť	2	0,588 0,502—0,678	4,590 4,251—4,928	0,212 0,161—0,263	30,914 28,919—32,908	10,488 10,076—10,899	46,792	2,948
		proudník	2	0,572 0,524—0,620	4,940 4,883—4,997	0,353 0,315—0,391	28,818 24,948—32,687	12,668 12,614—12,722	47,351	2,275

IV. Obsah sledovaných reziduí u pstruhů obecných z různých míst oblasti Tiché a Divoké Orlice, z povodí Jizery a z údolní nádrže Rozkoš u České Skalice spolu s výsledky vyšetření svaloviny kaprů obecných z rybníků Jihočeského a Západočeského kraje (výsledky v mg.kg⁻¹ tuku) — Contents of the monitored residues in brown trout coming from different sites in the Tichá and Divoká Orlice region, from the watershed of the Jizera, and from the Rozkoš artificial lake near Česká Skalice. Results of the examination of the muscle of common carp caught in the ponds of South and West Bohemia (the results in mg per 1 kg of fat)

Datum	Místo odběru	Počet	HCB	$\alpha + \beta$ — HCH	γ — HCH	Σ DDT	PCB
29. 5. 1986	Bartošovice	7	0,017 0,003—0,047	0,019 0,006—0,043	0,031 0,007—0,083	0,343 0,208—0,415	0,358 0,233—0,495
	Kláštorec nad Orlicí	7	0,083 0,042—0,113	0,050 neg.—0,115	0,082 0,030—0,235	11,355 5,302—17,783	5,844 2,504—12,025
	Nekoř	7	0,232 neg.—0,576	0,151 neg.—0,809	neg. neg.—neg.	9,694 6,940—13,305	5,945 4,957—8,018
	Žamberk	7	0,139 neg.—0,330	0,095 neg.—0,237	0,222 neg.—0,751	20,147 16,658—21,552	10,170 3,965—16,077
	Vysoký potok	7	0,041 0,027—0,114	0,055 0,033—0,086	0,101 0,035—0,279	6,083 2,774—8,350	2,665 0,592—5,286
27. 11. 1986	Jablonné nad Orlicí	7	0,206 0,104—0,283	0,165 0,154—0,234	0,073 0,038—0,110	3,295 2,710—4,606	2,209 1,597—3,030
	Ústí nad Orlicí	7	0,929 0,428—1,926	0,282 0,066—0,775	0,073 0,053—0,099	12,483 6,298—23,680	3,005 1,502—6,365
	Kláštorec	7	0,194 0,123—0,291	0,104 0,072—0,241	0,036 0,026—0,042	3,711 2,923—4,438	1,503 1,177—1,822
	Nekoř	7	0,149 0,061—0,477	0,298 0,087—0,585	2,990 1,859—5,914	11,625 5,967—25,110	4,380 3,018—5,336
	Žamberk	7	0,181 0,093—0,275	1,455 0,539—2,130	0,161 0,043—0,666	6,994 4,503—8,967	2,699 1,837—3,074
28. 11. 1986	povodí Jizery	5	0,331 neg.—0,870	0,002 neg.—0,010	0,017 neg.—0,040	14,432 5,773—22,832	6,975 4,844—10,184
16. 8. 1985	údolní nádrž Rozkoš	7	0,030 0,014—0,056	0,050 0,018—0,084	0,103 0,056—0,177	0,769 0,288—1,134	0,337 0,246—0,421
3. 10. 1984— —17. 10. 1986	kapři — jihočeské a západočeské rybníky	23	0,087 0,004—0,531	0,058 0,006—0,276	0,068 neg.—0,312	1,324 0,389—5,168	0,209 stopa—0,805

Datum	Místo odběru	Druh	Počet
30. 10. 1986	Vltava — Dol u Libčic	bolen dravý	1
		plotice obecná	1
		štika obecná	2
		okoun říční	2
		jelec tloušť	2
		jelec proudník	2

Vliv potravního spektra na hladiny reziduí chlórovaných uhlovodíků je zřejmý i z tab. II. V této tabulce jsou druhy ryb seřazeny podle klesající hodnoty sumy sledovaných reziduí a jsou zde uvedeny i hodnoty poměru DDT/PCB, který je do určité míry charakteristický pro jednotlivé lokality, bez velkého vlivu, zda jde o ryby dravé, či nikoliv. Zatímco u ryb z čisté vodní nádrže Želivka, z řeky protékající převážně zemědělskou oblastí, je poměr DDT/PCB v průměru 11,19, ryby z Vltavy pod Prahou, tj. po průtoku silně průmyslovou oblastí, mají tento poměr 2,03. Mezi těmito hodnotami je průměrná hodnota poměru DDT/PCB u ryb z Podhory, údolní nádrže na řece Teplé, 6,46. Tyto hodnoty potvrzují údaje, o kterých se zmiňuje Edwards (1971). Tento autor uvádí, že poměr DDT/PCB má v průmyslových oblastech hodnoty kolem 2, ale může být i nižší, zatímco v oblastech vzdálených od průmyslových center vzrůstá na více než 10.

Tab. III obsahuje výsledky vyšetření hladin reziduí sledovaných chlórovaných uhlovodíků v tuku ze svaloviny pstruhů obecných, ulovených v různých místech v povodí Tiché a Divoké Orlice. Místa odběrů jsou patrna z mapky (obr. 1). Obr. 2 znázorňuje hladiny PCB v tuku svaloviny pstruhů obecných v uvedených místech. V tab. III jsou pro srovnání uvedeny i hladiny reziduí zjištěné u pstruhů obecných z povodí Jizery a z údolní nádrže Rozkoš u České Skalice, spolu s výsledky vyšetření vzorků kaprů z rybníků Jihočeského a Západočeského kraje.

Průměrné hladiny reziduí chlórovaných pesticidů a PCB v tuku svaloviny kaprů jihočeských a západočeských rybníků jsou relativně velmi nízké. Porovnáme-li průměrné hladiny zjištěných reziduí u kaprů z těchto rybníků s hladinami reziduí nalezenými u kaprů z oblasti Státního rybářství Pohořelice, jak je uvádějí Gajdůšková a Matyáš (1979), zjistíme, že pokud jde o rezidua HCB, $\alpha + \beta$ -HCH a γ -HCH, jsou naše nálezy nižší, v případě sumy DDT vyšší, vcelku však dobře srovnatelné.

Pro rezidua pesticidů v rybách nejsou v ČSSR stanoveny tolerance, s výjimkou hodnoty 2,000 mg . kg⁻¹ tuku pro sumu DDT, uvedené ve Směrnici č. 50 MZd ČSR/78. Tato hodnota je však příliš nízká a většina ryb ulovených v řekách ji překračuje. Potvrzují to i práce, které uveřejnili Svobodová aj. (1983a, b) o rybách z Berounky. Vzhledem k tomu, že obsah tuku ve svalovině jednotlivých druhů ryb je velmi roz-

pod Prahou (výsledky v mg.kg⁻¹ substance svaloviny) — Contents of chlorinated (the results in mg per 1 kg of muscle)

	HCB	$\alpha + \beta - \text{HCH}$	$\gamma - \text{HCH}$	$\Sigma \text{ DDT}$	PCB
	0,023	0,242	0,001	1,474	0,964
	0,021	0,177	0,012	1,118	0,728
	0,015	0,106	0,021	0,514	0,378
	0,008—0,021	0,070—0,142	0,010—0,032	0,405—0,622	0,315—0,441
	0,011	0,097	0,014	0,433	0,168
	0,007—0,015	0,075—0,120	0,010—0,017	0,332—0,534	0,140—0,196
	0,041	0,331	0,016	2,226	0,755
	0,032—0,049	0,306—0,355	0,012—0,019	2,082—2,369	0,725—0,785
	0,022	0,188	0,014	1,095	0,481
	0,020—0,024	0,186—0,190	0,012—0,015	0,948—1,242	0,479—0,483

dílný (0,7—25,0 %) a u dravých ryb poměrně nízký, je z hygienicko-potravinářského hlediska důležitější vyjadřovat hladiny reziduí chlórovaných uhlovodíků u ryb na kilogram hmoty svaloviny.

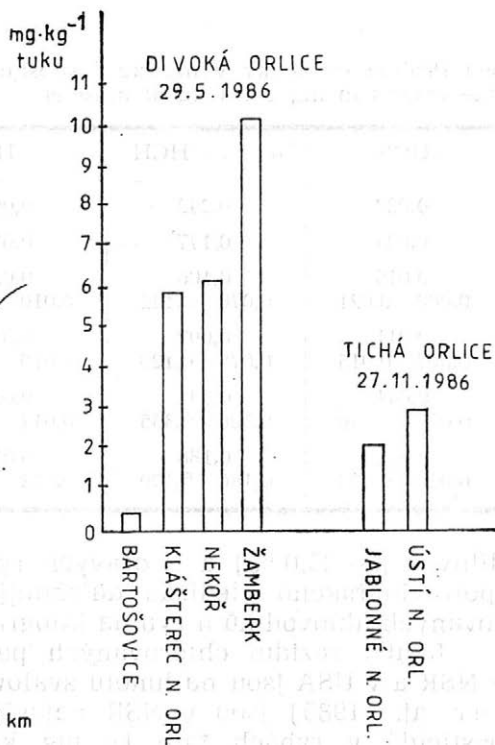
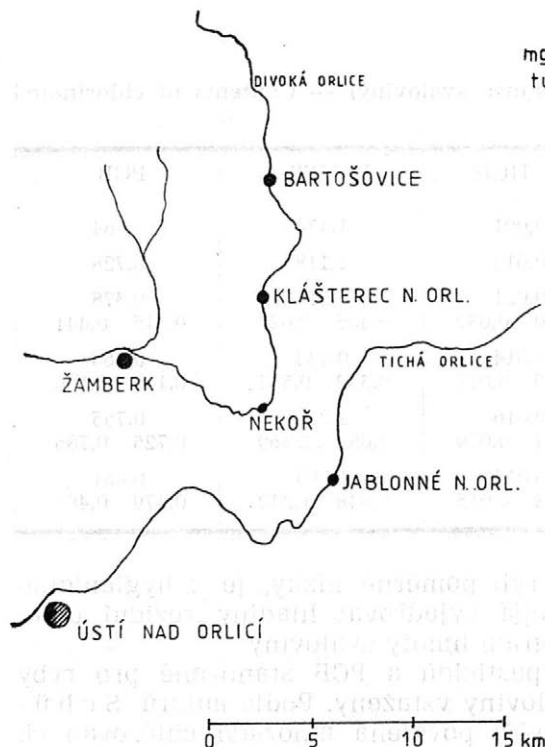
Limity reziduí chlórovaných pesticidů a PCB stanovené pro ryby v NSR a v USA jsou na hmotu svaloviny vztaženy. Podle autorů S c h ü l e r a j. (1985) jsou v NSR nejvyšší povolená množství chlórovaných pesticidů v rybách tato (v mg.kg⁻¹ svaloviny): HCB = 0,050; $\alpha + \beta - \text{HCH}$ = 0,200; suma DDT = 2,000, pro PCB není stanoveno. Nejvyšší povolené množství PCB v rybách platné pro USA je 2,000 mg.kg⁻¹ svaloviny (B r u n n, 1982).

Pro srovnání našich výsledků udaných v mg.kg⁻¹ extrahovaného tuhu s uvedenými tolerancemi v mg.kg⁻¹ svaloviny je třeba naše výsledky přepočítat. Po přepočtu nejkontaminovanějších vzorků ryb z Vltavy pod Prahou na mg.kg⁻¹ hmoty svaloviny získáme výsledky uvedené v tab. IV.

Porovnáme-li tyto výsledky s uvedenými tolerancemi, zjistíme, že všechny hladiny HCB, $\gamma - \text{HCH}$ a PCB leží pod stanovenými limity. Naopak, všechny vzorky odebrané ve Vltavě pod Prahou překračují (a to některé značně) limity pro $\alpha + \beta - \text{HCH}$. Pokud jde o sumu DDT, překročil stanovenou toleranci tloušť. Toto hodnocení se týká pouze ryb ze silně kontaminované vody Vltavy pod Prahou. Všechny vyšetřené ryby pocházející z ostatních lokalit vyhovují limitům pro chlórované pesticidy v NSR i limitu pro PCB platnému v USA.

Domníváme se, že i u nás by měly být limity reziduí chlórovaných uhlovodíků vztahovány na hmotu svaloviny. Jak již bylo zdůvodněno (S v o b o d o v á j., 1983a), je takové vyjádření výsledků z hlediska hygienicko-potravinářského průkaznější a je konkrétním ukazatelem obsahu těchto látek v rybách jako poživatině.

Z výsledků práce, která má plošně široký záběr a která zahrnuje různé druhy ryb, vyplývá, že problematika chlórovaných pesticidů a PCB v rybách je v našich podmínkách velmi aktuální a vyžaduje další sledování zahrnující vedle ryb i jejich biotop v jeho jednotlivých složkách. Práce zabývající se tímto problémem mohou sloužit jako podklady pro stanovení nejvyšších přípustných množství cizorodých látek v rybách u nás. Proto chceme v této práci i nadále pokračovat.



1. Mapa oblasti Tiché a Divoké Orlice s vyznačenými místy, odkud byly odebrány vzorky pstruhů k vyšetření — Map of the Tichá and Divoká Orlice region with the indication of the sites from where the samples of trout were taken for examination

2. Hladiny reziduí PCB v tuku svaloviny pstruhů odchycených v povodí Tiché a Divoké Orlice — PCB residue contents in the muscular fat of trout caught in the watershed of the Tichá Orlice and the Divoká Orlice

Literatura

- BRUNN, H.: Höchstmengenverordnung für PCB in tierischen Rohstoffen und darauf hergestellten Nahrungsmitteln. *Fleischwirtschaft*, 62, 1982, s. 1178-1181.
- EDWARDS, R.: The PCBs their occurrence and significance, a review. *Chemistry and Industry*, 20, 1971, s. 1340-1348. In: EL DIB, M. A., BADAWY, M. I.: Organochlorine insecticides and PCBs in water sediment and fish from the Mediterranean Sea. *Bull. Environm. Contam. Toxic.*, 34, 1985, s. 216-227.
- GAJDÚŠKOVÁ, V. — MATYÁŠ, Z.: Rezidua pesticidů ve sladkovodních rybách. *Veter. Med. (Praha)*, 24, 1979, s. 115-120.
- HARRIS, C. R. — MILLES, J. R.: Pesticide residues in the Great Lakes region of Canada. *Res. Rev.*, 1975, s. 27-75.
- HRUŠKA, J. — KOCIÁNOVÁ, M.: Stanovení reziduí chlorovaných pesticidů v potravinách, biologickém materiálu a vodě metodou plynové chromatografie. *Prům. Potrav.*, 29, 1978, s. 49-51.
- HURLBERT, S.: Secondary effect of pesticides on aquatic ecosystems. *Res. Rev.*, 57, 1975, s. 82-140.
- JELÍNEK, K.: Zpráva o výsledcích činnosti pracovní skupiny odborníků jmenovaných ředitelem SVS MZVZ ČSR a hlavním hygienikem MZd ČSR k řešení problematiky výskytu PCB v povodí Tiché a Divoké Orlice za rok 1984. Praha 1985.
- KACMÁR, P. — ŠAMO, A. — BLOCHOVÁ, K.: Rezidua některých chlorovaných pesticidů u volně žijících zvířat a ryb. *Veter. Med. (Praha)*, 23, 1978, s. 737-745.
- KREDL, F. — BREYL, I.: Rychlá provozní metoda na stanovení PCB v masě a masných výrobcích. *Acta hyg., epidem. microbiol.*, 1984, č. 10, příloha, s. 59-62.
- MONOD, G. — KECK, G.: PCBs in the Lake Geneva fish. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 29, 1982, s. 570-576.

- OSAMA, A. A. — BADAWY, M. I.: Organochlorine residues in fish from the river Nile, Egypt. Bull. envir. Contam. Toxicol., 33, 1984, s. 246-252.
- PALÚSOVÁ, O. — SACKMAUEROVÁ, M.: Problematika stanovenia biocidných látok vo vodách, rybách a vodných rastlinách. Voda — životné prostredie. In: Zbor. Ref. Košice, 1977, s. 223-238.
- REINERT, R. E. — STEWART, D. — SEAGRAN, L. M.: Effect of dressing and cooking on DDT concentrations in certain fish from Lake Michigan. J. Fish. Res. Bd Canada, 29, 1972, s. 525-529.
- SCHÜLER, W. — BRUNN, H. — MANZ, D.: Pesticides and PCBs in fish from the Lahn River. Bull. envir. Contam. Toxicol., 34, 1985, s. 608-616.
- Směrnice MZD ČR č. 50/78: Směrnice o cizorodých látkách v poživatinách. Hygienické předpisy, svazek 43/1978.
- STALLING, D. L. — MAYER, F. L.: Toxicities of OCB to fish and environment. Hlth Perspect., 1972, s. 159-164.
- SVOBODOVÁ, Z. — HRBKOVÁ, M. — VOSTRADOVSKÝ, J.: Rezidua chlorovaných uhlovodíků v rybách odebraných z údolní nádrže Lučina a z povodí řeky Beřounky. Bull. Výzk. Úst. ryb. hydrobiol. Vodňany, 19, 1983a, s. 8-16.
- SVOBODOVÁ, Z. — HRBKOVÁ, M. — FARINA, R. — MÁCHOVÁ, J.: Rezidua chlorovaných uhlovodíků v rybách a ostatních složkách vodního prostředí vybraných rybníků. Bull. Výzk. Úst. ryb. hydrobiol. Vodňany, 19, 1983b, s. 15-23.
- SVOBODOVÁ, Z. — HRBKOVÁ, M. — FARINA, R. — MÁCHOVÁ, J.: Rezidua chlorovaných pesticidů v rybách odlovených z vybraných rybníků a tekoucích vod na území ČR. In: Sbor. Pesticidy v životním prostředí. Praha 1984.
- TERÁN, M. T. — SIERRA, M.: Organochlorine insecticides in trout, *Salmo trutta fario* L., taken from four rivers in León, Spain. Bull. envir. Contam. Toxicol., 38, 1987, s. 247-253.

Došlo dne 24. 5. 1988

КРЕДЛ, Ф. — СВОБОДНИК, Я. — СВОБОДОВА, З. (Государственный ветеринарный институт, Йиглава; Научно-исследовательский институт рыбоводства и гидробиологии, Водняны): Остатки хлорированных пестицидов и полихлорированных бифенилов в рыбах, происходящих из разных мест ЧСР. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 239-250.

От 1984 до 1986 года было исследовано в общем 175 образцов 14 видов рыб на остатки хлорированных пестицидов и полихлорированных бифенилов. Остатки наблюдаемых веществ были найдены во всех исследованных образцах. Уровни остатков хлорированных углеводородов зависят у рыб, главным образом, от продовольственного спектра, далее контаминации среды, в которой рыбы находятся, также от возраста рыб и количества жира в их теле, в котором липофильные хлорированные углеводороды содержатся. Для остатков хлорированных углеводородов в рыбах в ЧССР не существуют предложенные толерантности, исключая DDT = 2,000 мг/кг жира. При использовании самых больших позволенных количеств в рыбах для РСВ в США и самых больших количеств для хлорированных пестицидов в рыбах в ФРГ, относящихся к массе мышечной ткани, не отвечают нами исследованным образцам рыб лишь рыбы происходящие из Влтавы под Прагой. Все остальные рыбы происходящие из других областей отвечают лимитам для хлорированных пестицидов в ФРГ и лимиту РСВ действующему на территории США. Учитывая разное содержание жира в мышцах отдельных видов рыб показание результатов на килограмм веса мышечной ткани с точки зрения гигиеническо-продовольственной является более доказательным и является конкретным показателем содержания этих веществ в рыбах как продукте питания.

рыбы; самые большие допустимые количества остатков; продовольственный спектр; контаминация среды

KREDL, F. — SVOBODNÍK, J. — SVOBODOVÁ, Z. (State Veterinary Institute, Jihlava; Fisheries and Hydrobiology Research Institute, Vodňany): Residues of Chlorinated Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Fish Coming from Different Localities in the Czech Socialist Republic. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 239-250.

Samples of 14 fishes (175 samples on the whole) were examined in 1984 to 1986

for residues of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls. Residues of the given substances were present in all the samples. The contents of chlorinated pesticide residues in fish are influenced mainly by the food spectrum; significant influence was also exerted by the contamination of the environment where the fish lived, by the age of the fish, and by the amount of their body fat in which the lipophile chlorinated carbohydrates are stored. No tolerance limits have been proposed in Czechoslovakia for the residues of chlorinated carbohydrates in fish bodies, except for the sum of DDT = 2.00 mg per kg of fat. When the data on the fish samples were compared with the highest admissible content of chlorinated pesticides per unit mass of fish muscle tissue tolerated in the FRG and the content of PCB tolerated in the USA, the fish from the Vltava river downstream of Prague fail to comply with these FRG and US regulations; all fish from all other places comply with them. Owing to large differences in the contents of fat in muscle between different fishes, it is more conclusive from the point of view of food hygiene to express the results as data per 1 kg of muscular tissue; these data represent real contents in fish as foodstuff.

fish; highest permitted amount of residues; food spectrum; contamination of environment

KREDL, F. — SVOBODNÍK, J. — SVOBODOVÁ, Z. (Staatliches Veterinärinstitut, Jihlava; Forschungsinstitut für Fischerei und Hydrobiologie, Vodňany): *Residuen chlorierter Pestizide und polychlorierter Biphenyle in aus verschiedenen Lokalisationen der ČSR stammenden Fischen*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 239-250.

In den Jahren 1984 bis 1986 untersuchten wir insgesamt 175 Proben von 14 Fischarten auf Residuen chlorierter Pestizide und polychlorierter Biphenyle. Residuen der verfolgten Substanzen wurden in allen untersuchten Proben festgestellt. Die Residuenspiegel der chlorierten Kohlenwasserstoffe waren bei Fischen insbesondere durch das Nahrungsspektrum beeinflusst, ferner durch die Kontamination der Umwelt, in der die Fische lebten, aber auch durch das Alter der Fische und die Menge des Fetts in ihrem Körper, in dem die lipophilen chlorierten Kohlenwasserstoffe enthalten sind. Für Residuen der chlorierten Kohlenwasserstoffe in Fischen sind in der ČSSR keine zugelassenen Toleranzen festgesetzt, mit Ausnahme der Summe an DDT = 2,000 mg.kg⁻¹ Fett. Unter Anwendung der in der BRD geltenden höchsten zugelassenen Mengen für chlorierte Pestizide in Fischen sowie der höchsten zugelassenen Mengen für PCB in Fischen, wie sie in den USA gelten, in beiden Fällen bezogen auf die Muskelmasse, waren von den von uns untersuchten Fischproben ausschließlich die von den aus der Moldau unterhalb von Prag stammenden Fischen nicht vorschriftsgerecht. Sämtliche untersuchten Fische, die aus anderen Lokalisationen als der oben angeführten stammten, entsprachen den Limits für chlorierte Pestizide der BRD sowie in den USA geltenden PCB-Limits. Mit Bezug auf den höchst unterschiedlichen Fettgehalt in der Muskelmasse der einzelnen Fischarten ist das Formulieren der Ergebnisse pro Kilogramm Muskelmasse vom hygienisch-lebensmittelwirtschaftlichen Gesichtspunkt aussagekräftiger und es ist ein konkreter Parameter des Gehalts dieser Stoffe im Fisch als Lebensmittel.

Fische; höchstzulässige Residuenmenge; Nahrungsspektrum; Umweltkontamination

Adresy autorů:

RNDr. František Kredl, ing. Jan Svobodník, Státní veterinární ústav, Rantířovská 93, 586 05 Jihlava
MVDr. Zdeňka Svobodová, CSc., Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický, 389 25 Vodňany

KOLÍSANIE HLADINY PROGESTERÓNU V PERIFÉRNEJ KRVI NUTRIÍ POČAS GRAVIDITY

I. Jakubička, M. Barta, J. Nitray, O. Szeleszczuková

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. — NITRAY, J. — SZELESZCZUKOVÁ, O. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra; Vysoká škola poľnohospodárska, Krakow, PLR): *Kolísanie hladiny progesterónu v periférnej krvi nutrií počas gravidity*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (4) : 251-256.

Sledovali sme kolísanie hladiny progesterónu v periférnej krvi troch intaktných nutrií a troch nutrií po prirodzenom párení počas štyroch mesiacov. Bezprostredne po párení sú hodnoty progesterónu nízke ($1,5-2,4 \text{ ng.ml}^{-1}$), maximálne hodnoty dosahujú u gravidných samíc vrchol medzi 14. až 15. týždňom gravidity ($12,50-20,72 \text{ ng.ml}^{-1}$), zatiaľ čo u intaktných samíc sa ťažko nemia. V posledných dňoch gravidity hodnoty progesterónu prudko klesajú a v deň pôrodu sú veľmi nízke ($1,0-2,5 \text{ ng.ml}^{-1}$). Hladina progesterónu v krvnej plazme intaktných samíc v sledovanom období je nízka ($0,09-3,18 \text{ ng.ml}^{-1}$).

nutrie gravidné; nutrie intaktné; rádioimunologické stanovenie (RIA) progesterónu

Hormonálne profily kolísania hladiny progesterónu počas ontogenézy a pohlavného cyklu boli študované u rôznych druhov hlodavcov (Leavitt a Blaha, 1970; Hau a i., 1980; Soares, 1982). Avšak s výnimkou morčiat (Heap a Deanesly, 1967; Challis a i., 1971) bola malá pozornosť venovaná hormonálnej sekrécii počas gravidity hlodavcov z podradu *Hystriidae* (dikobrazovité), ktoré sú charakterizované dlhou dobou gravidity (Weir, 1966; Rowlands a i., 1970) s pomerne nízkou fertilitou (Weir, 1966; Jarosz a Rzewski, 1969).

Problémy súvisiace so zložitou mnohonásobnou odberu krvi u nutrií (patria do spomínaného podradu) spôsobili nedostatočné rozpracovanie týchto otázok. V dostupných literárnych údajoch sme sa doposiaľ nestretli s bližšou charakteristikou endokrinné stránky reprodukčného procesu nutrií. Avšak vyriešenie vhodného spôsobu odberu krvi u nutrií (Barta a Jakubička, 1983; Mouka a Konrád, 1985) spolu s využitím rádioimunologických metód otvára v tejto oblasti nové možnosti vo vzťahu k riešeniu otázok intenzifikácie reprodukčného procesu nutrií.

Cieľom našej práce bolo sledovať kolísanie hladiny progesterónu v periférnej krvi nutrií počas gravidity.

MATERIÁL A METÓDY

V pokuse sme použili šesť pohlavne dospelých samíc nutrií; tri sme napárili z ruky (pokusná skupina) a tri zostali intaktné (kontrolná skupina). Počas experimentu sme nutrie krmili a ošetrovali rovnakým spôsobom a za rovnakých podmienok. Boli ustajnené v experimentálnej hale v jednopodlažných celokovových klietkach a krmené kompletnou tvarovanou krmnou zmesou (KK) pre králiky. Vodu mali k dispozícii v automatických napájačkách. V pokusnej skupine sme nultý deň gravidity určili na základe vytvorenia vaginálnej zátky bezprostredne po párení. Vzorky krvi sme u oboch skupín získavali každých sedem dní počas štyroch mesiacov, pričom posledný odber u pokusnej skupiny bol uskutočnený v deň pôrodu.

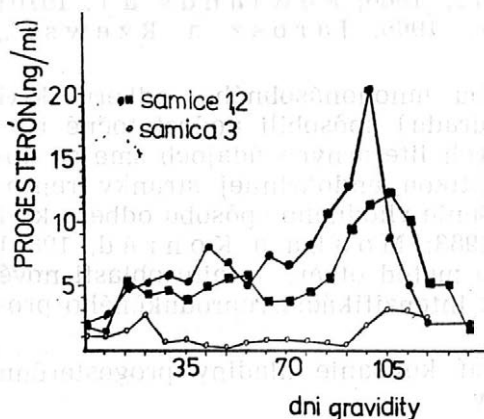
Krv k rádioimunologickému stanoveniu progesterónu sme získavali u nutrií z prstového žilového oblúka panvových končatín (*Arcus venosus digitalis dorsalis*) podľa metodického postupu, ktorý popísali Barta a Jakubička (1983). Chybám, ktoré mohli pri odbere vzniknúť (hemolýza, tvorba krvných zrazenín), sme zabráňovali štandardizáciou podmienok techniky a doby odberu. Proti zrážaniu krvi sme využívali antikoagulačný účinok prípravku Heparín SPOFA.

Krvnú plazmu sme po 10-minútovej centrifugácii (2800 otáčok za minútu) stiahli do uzatvárateľných skúmaviek o objeme 1,5 cm³ (výrobca KOH-I-NOOR Hardtmuth) a uskladnili v mrazničke pri teplote -23 °C až po rádioimunologické stanovenie progesterónu.

Koncentrácia progesterónu v krvnej plazme nutrií bola stanovená v RIA laboratóriu Výskumného ústavu živočíšnej výroby v Nitre podľa metodického postupu autorov Píchová a Pícha (1980).

VÝSLEDKY

Koncentrácia progesterónu (ng . ml⁻¹) v periférnej krvi troch nutrií po koite a počas obdobia gravidity v sedemdňových intervaloch je uvedená v tab. I. U všetkých samičiek pokusnej skupiny bola bezprostredne po párení vytvorená vaginálna zátka, čo je kritériom plnohodnotného prirodzeného párenia u nutrií. V porovnaní so samicami č. 1 a 2 má samica č. 3 v 14. až 21. dni výrazne zníženú hladinu progesterónu v krvnej plazme a v 28. dni sa u nej hladina sledovaného hormónu znížila na úroveň intaktných samíc kontrolnej skupiny. Z uvedených údajov o koncentrácii progesterónu v krvnej plazme možno predpokladať, že u samice č. 3 nedošlo k nidácii oplodnených vajíčok. Od 35. dňa pozorujeme u gravidných samíc mierny vzostup hladiny progesterónu, pričom maximálne hodnoty dosahuje medzi 91. až 105. dňom (8,63—20,72 ng . ml⁻¹). V posledných dňoch gravidity hladina progesterónu v krvnej plazme postupne klesá, pričom v deň pôrodu dosahuje hodnoty 1,0 až 2,5 ng . ml⁻¹.



1. Koncentrácia progesterónu v periférnej krvi nutrií počas gravidity — Progesterone concentration in the peripheral blood of coypus during pregnancy

I. Koncentrácia progesterónu v periférnej krvi gravidných nutrií — Progesterone concentrations in the peripheral blood of pregnant coypus

Deň gravidity	Koncentrácia progesterónu (ng.ml ⁻¹)			$\bar{x} \pm s$
	1	2	3	
0	1,52	1,91	1,50	1,71 $\pm$ 0,27
7	1,30	2,40	1,01	1,85 $\pm$ 0,77
14	5,30	4,63	1,57	4,96 $\pm$ 0,47
21	4,34	4,71	2,74	4,52 $\pm$ 0,26
28	4,53	5,38	0,69	4,95 $\pm$ 0,60
35	3,88	4,94	0,78	4,41 $\pm$ 0,74
42	5,19	7,93	0,35	6,56 $\pm$ 1,93
49	5,89	6,13	0,26	6,01 $\pm$ 0,16
56	5,99	4,64	0,70	5,31 $\pm$ 0,95
63	3,93	7,27	0,81	5,60 $\pm$ 2,36
70	4,18	6,10	0,93	5,14 $\pm$ 1,35
77	4,86	7,61	0,80	6,23 $\pm$ 1,94
84	6,10	10,41	0,71	8,25 $\pm$ 3,04
91	9,85	12,45	0,71	11,15 $\pm$ 1,83
98	11,52	20,72	2,15	16,12 $\pm$ 6,50
105	12,50	8,63	3,18	10,56 $\pm$ 2,73
112	10,16	4,75	3,10	7,45 $\pm$ 3,82
119	5,26	2,29	2,56	3,77 $\pm$ 2,10
121	5,19	2,53	1,84	3,86 $\pm$ 1,98
129	1,06			

Priebeh kolísania hladiny progesterónu v periférnej krvi nutrií počas gravidity uvádzame na obr. 1. Údaje v obr. 1 sú rozdelené na 18 sedemdnových období, nultý deň je dňom prirodzeného párenia. Je zrejmé, že u gravidných samíc má vzostup dva vrcholy, pričom hodnoty progesterónu sú maximálne medzi 98. až 105. dňom, zatiaľ čo u negravidných samíc k výraznému vzostupu hladiny progesterónu prakticky nedochádza.

V tab. II uvádzame záznam o kolísaní hladiny progesterónu v periférnej krvi intaktných nutrií. Z tabuľky vidno, že absolútne množstvo progesterónu v sledovanom období sa pohybuje medzi 0,2 až 1,5 ng .ml⁻¹ bez výraznejších zmien.

DISKUSIA

Nutrie patria do skupiny hlodavcov *Hystriidae* (dikobrazovité) (Rowlands a i., 1970; Roberts, 1971; Weir, 1973), pre ktoré je typická dlhá doba gravidity (viscacha 154 dní, nutria 132 dní, činčila 112 dní, morča 68 dní). Dlhá doba gravidity je spôsobená extrémne pomalým rastom plodu, zvlášť v rannom štádiu gravidity. Buleca a i.

II. Koncentrácia progesterónu v periférnej krvi intaktných nutrií — Progesterone concentrations in the peripheral blood of intact coyups

Deň odberu	Koncentrácia progesterónu (ng. ml ⁻¹)			$\bar{x} \pm s$
	1	2	3	
1	0,45	0,28	0,76	0,49 $\pm$ 0,24
7	0,23	0,29	0,47	0,33 $\pm$ 0,12
14	0,56	0,40	0,72	0,56 $\pm$ 0,16
21	0,76	0,56	0,75	0,69 $\pm$ 0,11
28	0,26	0,63	1,56	0,81 $\pm$ 0,66
35	0,68	0,79	0,45	0,64 $\pm$ 0,17
42	0,67	0,43	0,09	0,39 $\pm$ 0,29
49	0,35	0,62	0,43	0,46 $\pm$ 0,13
56	0,46	0,66	0,18	0,43 $\pm$ 0,24
63	0,35	0,31	0,11	0,25 $\pm$ 0,12
70	0,56	0,57	0,63	0,58 $\pm$ 0,03
77	0,36	0,44	0,31	0,37 $\pm$ 0,06
84	0,56	1,52	1,63	1,23 $\pm$ 0,58
91	0,88	0,84	1,16	0,96 $\pm$ 0,17
98	0,49	1,17	0,68	0,78 $\pm$ 0,35
105	0,75	1,93	1,51	1,39 $\pm$ 0,59
112	0,49	0,86	0,21	0,52 $\pm$ 0,32
119	1,57	0,33	0,51	0,80 $\pm$ 0,67

(1985) zistili, že v 30. dni prenatalného rastu je priemerná hmotnosť embryí 0,2 g a priemerná dĺžka 2 mm. Ako uvádza Roberts (1971), bol u činčíl v počiatočnom štádiu gravidity zaznamenaný rýchlejší rast placenty než samotného embrya. U nutrií, podobne ako u činčíl, dochádza k popôrodnej ruji, k ovulácii a k formovaniu nových žltých teliesok. Popôrodné vaječníky nutrií obsahujú teda staré žlté telieska gravidity, ale i nové, líšiace sa od nich nielen veľkosťou, ale i histologickými zmenami, podobne ako u činčíl (Weir, 1966) a morčiat (Challis a i., 1971). Je pravdepodobné, že u nutrií — podobne ako u činčíl (Tam, 1972) — je intersticiálne tkanivo vaječníkov schopné syntetizovať progesterón a estrogén ako hlavné produkty, a tak môže hrať dôležitú úlohu v regulácii pohlavného cyklu a udržiavaní gravidity svojou schopnosťou produkovať oba steroidné hormóny. Tiež vaječníky zeleného aguti (green acouchi) majú dva až päť veľkých žltých teliesok (skutočných) po ovulácii a veľké množstvo prídavných žltých teliesok, ktoré sú však podstatne menšie. Skutočné žlté telieska dosahujú u tohto druhu maximálnu veľkosť na konci druhého týždňa 100-dňovej gravidity a k ich regresii dochádza s postupujúcou graviditou (Rowlands a i., 1970). Nutrie, podobne ako ďalšie hlodavce z podradu *Hystriidae* (dikobrazovité), majú pomerne nízku hladinu progesterónu v počiatočných fázach gravidity. Ako uvádzajú Challis a i. (1971), koncentrácia progesterónu u morčiat stúpa z 15 ng. ml⁻¹ v 15. dni po párení, vrchol —

329 ng.ml⁻¹ — dosahuje medzi 30. až 45. dňom. Koncentrácia progesterónu klesá medzi 51. až 56. dňom (160 ng.ml⁻¹), tesne pred pôrodom stúpa na 258 ng.ml⁻¹. V rannej gravidite u aguti zeleného (green acouchi) sa zasa hladina progesterónu prudko zvyšuje a jej hodnoty sú štyrikrát vyššie než u nezabreznutých samíc, zatiaľ čo u činčíl (Gromadzka a i., 1985) dosahuje vrchol 7,67 ng.ml⁻¹ v 29. až 30. dni gravidity, pričom aj v počiatočnom štádiu gravidity je hladina progesterónu pomerne vysoká (6,85 ng.ml⁻¹). U nutrií, podobne ako u morčiat (Heap a Deanesly, 1967) a aguti zeleného (Rowlands a i., 1970), je u negravidných samíc hladina progesterónu veľmi nízka (0,35 až 3,1 ng.ml⁻¹); u gravidných dosahuje vrchol medzi 14. až 15. týždňom gravidity, čo naznačuje, že rast pravých žltých teliesok pravdepodobne dosahuje maximum v spomínanom období.

Literatúra

- BARTA, M. — JAKUBIČKA, I.: Metóda odberu krvi u nutrií. [Zlepšovací návrh č. 26/83.] Nitra, VÚŽV 1983.
- BULECA, J. — GÁBRIŠ, J.: Rast a vývin nutrií v prenatalnom období. In: Zbor. prednášok: Produkcia a zdravie v chove kožušinových zvierat, 1985, s. 79-81.
- GROMADSKA, ZALEWSKA, B. — SZYLARSKA, E.: Peripheral plasma progesterone concentration and haematological indices during normal pregnancy of chinchillas. Comp. Biochem. Physiol., 82, Pt A, 1985, s. 661-665.
- HAU, J. — SVENDSEN, P. — REISNER, B. — THOMSEN-PEDERSEN, G.: Immunochemical characterization and serum concentration of pregnancy associated serum proteins in mice. J. Reprod. Fertil., 58, 1980, s. 389-393.
- HEAP, R. B. — DEANESLY, R.: The increase in plasma progesterone levels in the pregnant guinea pigs and its possible significance. J. Reprod. Fertil., 14, 1967, s. 339-341.
- CHALLIS, J. R. — HEAP, R. B. — ILLINGWORTH, D. V.: Concentration of oestrogen and progesterone in the plasma of non-pregnant, pregnant and lactating guinea pig. J. Endocrinol., 51, 1971, s. 333-345.
- JAROSZ, S. — RZEWSKI, W.: Chov szynszyli. Warszawa, PZWIL 1969, s. 23-59.
- LEAWIT, W. W. — BLAHA, G. C.: Progesterone levels in the ovary of the hamster during oestrus cycle, pregnancy and lactation. Biol. Reprod., 3, 1970, s. 353-361.
- MOUKA, J. — KONRÁD, J.: Technika odběru krevních vzorků u nutrií. Českoslov. Kožešinář, 20, 1985, s. 24-30.
- PÍCHOVÁ, D. — PÍCHA, J.: Spolehlivost progesteronového testu a jeho využití v reprodukci dojníc. [Závěrečná zpráva.] Uhřetěves, Výzkumný ústav živočišné výroby 1980.
- ROBERTS, C. M.: The early development of some hysticomorph rodents with particular reference to *Chinchilla laniger*. J. Reprod. Fertil., 27, 1971, s. 488-489.
- ROWLANDS, I. W. — TAM, W. H. — KLEIMAN, D. G.: Histological and biochemical studies on the ovary and of progesterone levels in the systemic blood of the green acouchi (*Myoprocta pratti*). J. Reprod. Fertil., 22, 1970, s. 535-545.
- SOARES, M. J.: Placental and serum hormone changes during the second half of pregnancy in the hamster. Biol. Reprod., 27, 1982, s. 523-529.
- TAM, W. H.: Progesterone levels during the oestrus cycle and pregnancy in the cuis (*Galea musteloides*). J. Reprod. Fertil., 35, 1973, s. 105-114.
- WEIR, B. J.: The induction of ovulation and oestrus in the chinchilla. J. Reprod. Fertil., 33, 1973, s. 61-68.
- WEIR, B. J.: Aspects of reproduction in chinchilla. J. Reprod. Fertil., 12, 1966, s. 405-411.

Došlo dňa 15. 6. 1988

ЯКУБИЧКА, И. — БАРТА, М. — НИТРАЙ, Й. — ШЕЛЕЩУК, О. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра; Сельскохозяйственный институт, Краков, ПНР): Колебание уровня прогестерона в периферической крови нутрий в период беременности. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 251-256.

Изучали колебание уровня прогестерона в периферической крови трех нутрий без случки и трех нутрий после естественной случки в течении четырех месяцев. Непосредственно после случки значения прогестерона низкие ($1,5-2,4 \text{ нг.кг}^{-1}$), максимальные значения достигают у беременных самок вершины между 14-ой—15-ой неделей беременности ($12,50-20,72 \text{ нг.мл}^{-1}$), в то время как у нутрий без случки фактически не меняется. В последние дни беременности значения прогестерона резко падают и в день родов они очень низкие ($1-2,5 \text{ нг.мл}^{-1}$). Уровень прогестерона в кровяной плазме самок без случки за изучаемый период низок ($0,9-3,18 \text{ нг.мл}^{-1}$).

беременные нутрии; нутрии без случки; радиоиммунологическое определение (RIA) прогестерона

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. — NITRAY, J. — SZELESZCZUK, O. (Research Institute of Animal Production, Nitra; University of Agriculture, Krakow, Polish People's Republic): *Fluctuations in the Concentration of Progesterone in the Peripheral Blood of Coypus during Gravidity*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 251-256.

The fluctuations in the concentrations of progesterone in peripheral blood of three intact coypus and three coypus after natural mating were investigated for the period of four months. Immediately after mating the concentrations of progesterone are low ($1,5-2,4 \text{ ng.ml}^{-1}$), the maximum values reach the peak between the 14th and 15th week of gravidity ($12,50-20,72 \text{ ng.ml}^{-1}$), whilst there is almost no change in the intact females. On the last days of gravidity the values of progesterone decrease rapidly and they are very low on the day of parturition ($1,0-2,5 \text{ ng.ml}^{-1}$). The concentration of progesterone in the blood plasma of intact females in the test period is low ($0,09-3,18 \text{ ng.ml}^{-1}$).

gravid coypus; intact coypus; progesterone radioimmunoassay

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. — NITRAY, J. — SZELESZCZUK, O. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra; Landwirtschaftliche Hochschule, Krakow, VRP): *Schwankung des Progesteronspiegels im Peripherblut der Nutrias während der Gravidität*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (4) : 251-256.

Wir untersuchten die Schwankung des Progesteronspiegels im Peripherblut von drei intakten Nutrias und von drei Nutrias nach natürlicher Paarung während 4 Monate. Unmittelbar nach der Paarung sind die Progesteronwerte niedrig ($1,5-2,4 \text{ ng.ml}^{-1}$), die maximalen Werte erreichen bei graviden Weibchen ihren Gipfel zwischen der 14. und 15. Graviditätswoche ($12,50-20,72 \text{ ng.ml}^{-1}$), während bei den intakten Weibchen die Werte fast konstant bleiben. In den letzten Graviditätstagen fallen die Progesteronwerte steil ab und sind am Tage des Wurfens sehr niedrig ($1,0-2,5 \text{ ng.ml}^{-1}$). Der Progesteronspiegel im Blutplasma der intakten Weibchen ist in der untersuchten Periode sehr niedrig ($0,09-3,18 \text{ ng.ml}^{-1}$).

trächtige Nutrias; intakte Nutrias; radioimmunologische Festlegung des Progesterons (RIA)

Adresy autorov:

Ing. Ivor Jakubička, CSc., ing. Milan Barta, ing. Jozef Nitray, CSc., Výskumný ústav živočišnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra
Dr. Olga Szeleszczuk, Wysoká škola poľnohospodárska, Krakow, PLR

CONTENTS

Struháriková J., Slivka P., Slanina L., Soták D., Elbertová A., Polahár P.: Oral Administration of Zinc Sulphate to Pregnant Cows and its Effect on Selected Metabolic Parameters in the Dam-Calf Line	193
Uhrín V., Kica J.: The Effect of Zeranól on the Structure of Muscles and Development of Bull Testicles	203
Massanyi L., Janisch R.: The Ultrastructure of Membranes in Bull Spermatozoa Prepared by Freeze Etching	213
Drábek J., Mikulík A., Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: The Effect of Aflatoxins on the Performance of Pigs and Biological Value of Pork	223
Granátová M.: The Use of Tetrazolium Salt Reduction Test for Detecting Phagocytic Activity in Pigs	231
Kredl F., Svobodník J., Svobodová Z.: Residues of Chlorinated Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Fish Coming from Different Localities in the Czech Socialist Republic	239
Jakubička I., Barta M., Nitray J., Szeleszczuková O.: Fluctuations in the Concentration of Progesterone in the Peripheral Blood of Cows during Gravidity	251

INHALT

Struháriková J., Slivka P., Slanina L., Soták D., Elbertová A., Polahár P.: Perorale Applikation von Zinksulfat an trächtige Kühe und dessen Einfluß auf ausgewählte Stoffwechselformen in der Linie Mutter — Junges	193
Uhrín V., Kica J.: Einfluß von Zeranól auf die Muskelstruktur und die Entwicklung der Bullenhoden	203
Massanyi L., Janisch R.: Ultrastruktur der Membranen der durch Frostätzung präparierten Bullenspermien	213
Drábek J., Mikulík A., Piskač A., Ruprich J., Halouzka R.: Einfluß der Aflatoxine auf die Nutzleistung von Schweinen und den biologischen Wert des Fleisches	223
Granátová M.: Anwendung des Tests der Tetrasol Salzreduktion zum Nachweis der phagozytären Aktivität bei Schweinen	231
Kredl F., Svobodník J., Svobodová Z.: Residuen chlorierter Pestizide und polychlorierter Biphenyle in aus verschiedenen Lokalitäten der CSR stammenden Fischen	239
Jakubička I., Barta M., Nitray J., Szeleszczuková O.: Schwankung des Progesteronspiegels im Peripherblut der Nutrias während der Gravidität	251

Rukopisy odevzdány k tisku 4. 1. 1989 — Podepsáno k tisku 27. 2. 1989

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1989

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, administrace vývozu tisku, Kovpalkova 26, 160 00 Praha 6.