

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 34 (LXII)

PRAHA

LISTOPAD 1989

CENA 10 Kčs

CS ISSN 0390-3214

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ

PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

OBSAH

Lopatářová M., Holý L.: Možnost zvyšování superovulačního efektu u skotu transzonálním dělením embryí v praxi	641
Szabóová E., Dányi J.: Využití stanovení furazolidonu v moči telat při laboratorní diagnostice	651
Tokoš M., Arendarčík J., Laurinčík J.: Zmeny folikulárneho aparátu a populácie terciárnych folikulov u oviec po podaní PMSG v anestríckom období	659
Bíreš J.: Interakčné vzťahy medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova v pečeni oviec po experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým	665
Neuhybel P., Fintajsl A., Rychlá R.: Karyometrické rozdílnosti v tkáni lymfoidních orgánů při Markově nemoci a lymfoidní leukóze drůbeže	675
Otto M., Šnejdárková M.: Využití voňného a v bielkovinách viazaného lyzínu u prepelice japonskej	681
Hlásný J.: Minerální krmné přísady a makrominerální skladba konzervovaných objemových krmiv	689

SOUHRNNÝ PŘEHLED

Dyk V.: Z vývoje naší ekologické parazitologie	699
--	-----

KRÁTKÁ SDĚLENÍ

Jurajda P.: Nález krevních stadií myxosporidie rodu <i>Sphaerospora</i> u lipana podhorního (<i>Thymallus thymallus</i>)	703
--	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Лопатаржова М., Голы Л.: Возможность повышения эффекта суперовуляции у крупного рогатого скота путем трансоонального деления эмбриона на практике	641
Сабова Э., Дани Я.: Использование наличия фуразолидона в моче телят в лабораторной диагностике	651
Токош М., Арендарчик Й., Лауринчик Й.: Изменения фолликулярного аппарата и популяции третичных фолликулов у овец после введения PMSG в период анестра	659
Биреш Й.: Отношения взаимодействия меди, железа, цинка, арсена, кадмия и свинца в печени овец после экспериментальной интоксикации окисью меди	665
Нойхибел П., Финтайсл А., Рыхла Р.: Кариометрические различия в ткани лимфоидных органов во время болезни Марекы и лимфоидного лейкоза птицы	675
Отто М., Шнейдаркова М.: Использование несвязанного и связанного в белках лизина у японской перепелки	681
Гласны Й.: Минеральные кормовые премиксы и макроминеральный состав консервированных объемных кормов	689

MOŽNOST ZVYŠOVÁNÍ SUPEROVULAČNÍHO EFEKTU U SKOTU TRANSONÁLNÍM DĚLENÍM EMBRYÍ V PRAXI

M. Lopatářová, L. Holý

LOPATÁŘOVÁ, M. — HOLÝ, L. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Možnost zvyšování superovulačního efektu u skotu transzonálním dělením embryí v praxi*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 641-650.

Transzonálním způsobem byly děleny časně a pozdní blastocysty (D7) nejlepších kvalit. Vyvíjející se poloembrya bez zonální protekce byla přenášena synchronizovaným příjemcům-jalovicím. Po bilaterálním transferu identického páru (vždy jedno poloembryo do jednoho děložního rohu) zabřezlo 79,7 % zvířat a celkem bylo zjištěno 58,8 % březostí. Po ipsilaterálním transferu (poloviny přeneseny individuálně) byla potvrzena gravidita v 48,2 % případů. Efektivita přežívání polovin ve vztahu k počtu dělených embryí byla 117,6 % u bilaterálního transferu a snížila se na 93,3 % po přenosu ipsilaterálním. Identické gravidity dvojčet byly zaznamenány u bilaterálního transferu v 36,8 %, u ipsilaterálního přenosu přežívala identická poloembrya jen ve 20 %. Transzonální bisekcí jsme prokázali vysoké rekuperační a regenerační schopnosti sedmidenních blastocyst skotu podmíněné vhodným výběrem embrya, šetrným, sterilním zákrokem, biologicky kompatibilním kultivačním prostředím a rychlým přenosem. Lze tak dosáhnout uspokojivé úrovně přežívání poloembryí v transplantační praxi, a tím i významného zvýšení superovulačního efektu.

embryo; semiembryo; mikrochirurgie embrya; bisekce embrya

Úroveň superovulační odezvy na hormonální stimulaci dárců je významným faktorem efektivity embryotransferu (ET) v praktických podmínkách.

Přestože se počet pozitivně reagujících zvířat výrazně zvýšil až na 85 % a více (Holý aj., 1988b), další ukazatele úspěšné superovulace, tj. úroveň oplozenosti vajíček, efektivita výplachu, čili zisk embryí a jejich kvalita, jsou dosud závažným problémem ET, a tím i neustálým předmětem studia (Říha aj., 1988).

Jednou z možností, jak zvyšovat superovulační efekt, je správně hodnotit morfologické vlastnosti embryí, zvláště pak jejich vitalitu. Je to jedna z významných cest k ovlivnění ekonomického efektu ET u skotu (Kanagawa, 1979). Sami jsme zaznamenali (Holý aj., 1988a), že z 1741 disponibilních embryí odebraných v D7 bývá různými stupni morfologických změn postiženo více než 33 % zárodků, které mohou při správné selekci přežívat nejen *in vitro* (Lopatářová a Holý, 1988a), ale také *in vivo* (Holý aj., 1988a).

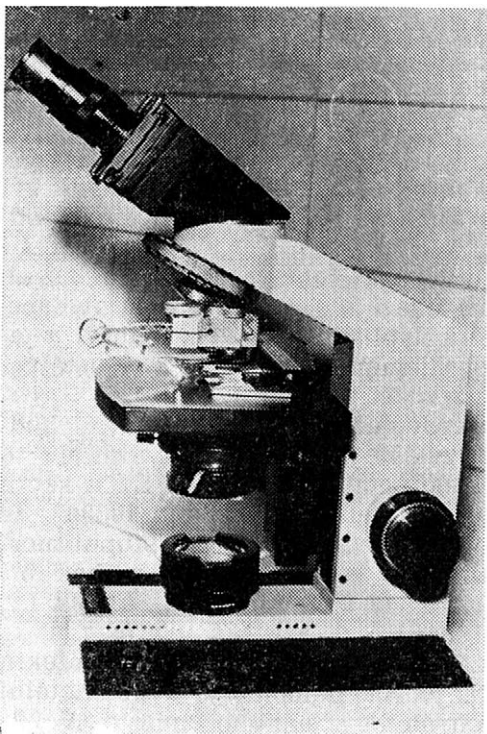
Další a velmi závažnou cestou ke zvyšování superovulačního efektu je mikrochirurgické dělení embryí, tj. tvorba poloembryí s potenciální možností zisku dvou a více identických plodů z jednoho embrya (Wil-

liams aj., 1983, 1984; Brem aj., 1983b; Baker a Shea, 1985; Kräusslich, 1985; Takeda aj., 1986; Fulka jr. a Jílek, 1987; Williams a Moore, 1988 a další).

Mikrochirurgické dělení embryí doznalo v poslední době významných změn. Místo složité mikrochirurgické techniky, představující tři až šest manipulačních jednotek (Ozil aj., 1982; Williams aj., 1983; Dankowski aj., 1983; Baker a Shea, 1985; Picard aj., 1985; Michaelis aj., 1985; Brem, 1986; Jílek aj., 1986), byly vyvinuty mnohem jednodušší bisekční techniky (Massip aj., 1985; Holý aj., 1985; Agrawala, 1987; Williams a Moore, 1988), které umožňují rozdělit embryo v běžné transplantační praxi rychlým, šetrným, snadným a efektivním způsobem. Zjednodušení spočívá především v tom, že se k sekci používají embrya pozdějších vývojových stadií, tzn. časných a expandovaných blastocyst (D7), která již dosáhla první diferenciací fáze a tvoří pevný buněčný svazek o více než 64 buňkách. Vzniklá poloembrya mohou pak již úspěšně přežívat bez zonální protekce (Massey aj., 1982; Meinecke-Tillmann a Meinecke, 1983; Warfield aj., 1986; Chesné aj., 1987).

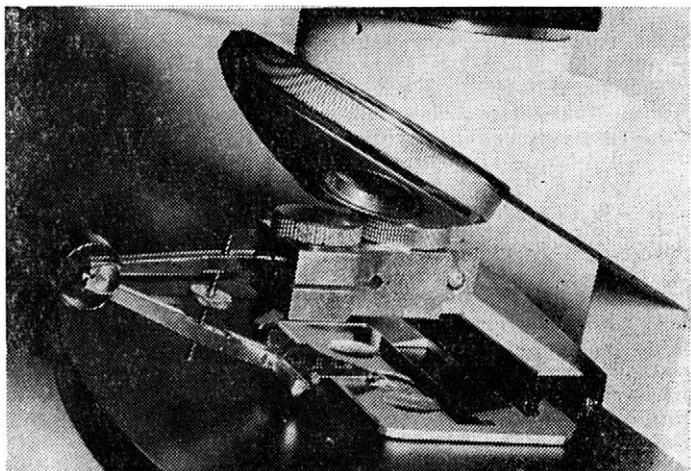
Je obecně známé, že k mikrochirurgickému dělení jsou vhodná pouze embrya vysokých kvalit. Sami jsme zjistili (Holý aj., 1988b), že k dělení můžeme použít v průměru 18 až 20 % zárodků z celkového počtu disponibilních embryí.

Předmětem této práce bylo praktické prověření intravitálního dělení embryí odebraných v D7 za použití jednoduché sekční techniky československé provenience.



1. Optický mikroskop s upevněným modifikovaným Karáčovým bisektorem (sekcce při zvětšení 60X) — Optical microscope equipped with modified bisector after Karáč (sections during 60X magnification)

2. Detail embryonálního bisektoru upevněného na objektiv mikroskopu (embryo je umístěno v PBS na sklíčku s jamkou) — Detail of the embryonic bisection instrument fixed to the objective of the microscope (the embryo is situated in PBS on a depression of glass slide)



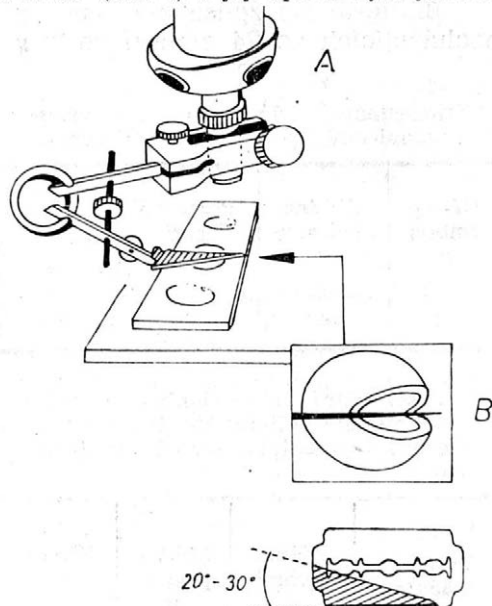
MATERIÁL A METODA

K dělení jsme používali světelný mikroskop STUDAR (obr. 1). Na jeho objektiv jsme připevnili mírně modifikovaný Karáčův bisektor (obr. 2), v němž sekční funkci vykonávalo ostří špičky žiletky.

K mikrosekci byla vybírána morfologicky bezvadná embrya ve stadiu časně až téměř vyvinuté blastocysty, získaná samospádovým výplachem dělohy za sedm dní po superovulaci vyvolané většinou FSH-P v kombinaci s luteolytiky.

Každé embryo bylo přeneseno do kapky média PBS na podložní sklíčko s jamkou a při 60násobném zvětšení bylo fixováno špičkou mikrosekčního nástroje. Pro exaktní vedení řezu jsme embryo připravili jemnými pohyby křížového stolku tak, aby byl mikrotomický nástroj nastaven ve správné středové poloze (obr. 3B).

K dělení byla použita špička fragilní žiletky domácí výroby (DIU Rapid). Žiletka byla zlomena diagonálně v úhlu 20 až 30° (obr. 4) a její špička byla jemnou mikrobruskou maximálně zúžena.



3. Schéma bisekčního přístroje (A) a vedení mikrochirurgického řezu (B) — Diagram of the bisection instrument (A) and the direction of the microsurge section (B)

4. Schéma výroby mikronože ze žiletky — Detail of microscalpel production from razor blades



Řez embryem jsme vedli transzonálně tak, že jsme se zónou pellucidou současně rozpůlili i embryonální tkáň, resp. vnitřní celulární masu (inner cell mass) — (obr. 3). Má-li být embryo rozpolceno symetricky, musí se řez vykonat pokud možno jedním tahem a rovnoměrným snížením nože tak, aby tkáň embrya byla při posunu mikroskopického stolku poškozena co nejméně. Vzhledem k tomu, že optický mikroskop přenáší do zorného pole každý malý otřes, je třeba zajistit maximální stabilitu přístroje a vyhnout se jakémukoliv chvění v laboratoři.

Vzniklé bezzonné páry poloembryí jsme mikropipetou přemístili do jednotlivých kultivačních kapek média PBS + 20 % FCS (fetal calf serum), přelili parafinovým olejem a kultivovali při pokojové teplotě po dobu dvou hodin. Pokud se u semiembryí projevovaly známky vitální rekuperace, tj. zakulacení, odlučování zákrokem poškozených buněk a později i tvorba blastocoele, byla co nejdříve využita k vlastnímu nekrvavému přenosu elastickým instrumentariem typu Brno. Poloembrya jsme přenášeli buď jednotlivě (ipsilaterální transfer), nebo v identickém páru, vždy jedno poloembryo do jednoho děložního rohu (bilaterální transfer). Jako příjemkyně sloužily dostatečně vyvinuté a dobře živěné jalovice, synchronizované s dárcem přípravkem Oestrophan. V době transferu jsme příjemkyně vybírali na základě rektálního vyšetření podle stavu a funkce pohlavních orgánů, zejména podle velikosti a morfologie žlutého tělíska.

Prežitelnost poloembryí byla ověřována rektální diagnostikou gravidity po 35. dnu po přenosu.

VÝSLEDKY

Od ledna roku 1987 bylo k přímému přenosu rozděleno celkem 89 vhodných, tj. morfologicky vynikajících a velmi dobrých blastocyst. Vzhledem k tomu, že při praktické realizaci ET máme většinou dostatek embryí a počet příjemců bývá nižší než množství využitelných zárodků, rozhodli jsme se (i z ekonomického hlediska) prověřit především přenos identických polovin bilaterálně do dělohy jednoho příjemce.

Bilaterálním způsobem jsme dosud přenesli 148 poloembryí (tab. I) pocházejících ze 74 embryí celkem na 74 příjemců. Od 59 březích zví-

I. Transzonální dělení embryí a výsledky přežívání po bilaterálním transferu — Transzonal embryo bisection and survival rates after bilateral transfer

Děleno embryí <i>n</i>	Získáno polovin <i>n</i>	Přeneseno párů <i>n</i>	Zabřezlo zvířat		Zjištěno celkem březosti		Efektivita na celá embrya %
			<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
74	148	74	59	79,7	87	58,8	117,6

II. Transzonální dělení embryí s ohledem na vývojové stadium blastocysty (D7) v době bisekce (bilaterální transfer) — Transzonal embryo bisection with respect to the developmental stage of the blastocyst (D7) in the period of bisection (bilateral transfer)

Vývojové stadium	Děleno embryí <i>n</i>	Získáno polovin <i>n</i>	Přeneseno párů <i>n</i>	Zabřezlo zvířat		Zjištěno celkem březosti		Efektivita na celá embrya %
				<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	
ČB	43	86	43	35	81,4	53	61,6	123,3
PB	31	62	31	24	77,4	34	54,8	109,7

III. Transzonální dělení embryí a výsledky přežívání po ipsilaterálním transferu — Transzonal embryo bisection and survival rates after ipsilateral transfer

Děleno embryí <i>n</i>	Získáno polovin <i>n</i>	Přeneseno polovin <i>n</i>	Zabřezlo zvířat		Efektivita na celá embrya %
			<i>n</i>	%	
15	30	29	14	48,2	93,3

IV. Podíl gravidit identických dvojčat po transzonálním dělení embryí (D7) — Proportion of identical pregnancies of twins after transzonal embryo bisection (D7)

		Bilaterální transfer			Ipsilaterální transfer
		celkem	časné blastocysty	pozdní blastocysty	
Embryí děleno	<i>n</i>	74	43	31	15
Získáno březosti identických dvojčat	<i>n</i> %	28 36,8	18 40	10 32,3	3 20

řat (79,7 %) jsme získali celkově 87, tj. 58,8 % gravidit. Efektivita přežívání polovin *in vivo* ve vztahu k celým embryím činí tedy 117,6 %. Výsledky naznačují, že existuje možnost získat 1,17 březosti z jednoho embrya použitého k dělení.

U bilaterálního přenosu jsme sledovali výši koncepce ve vztahu k transferu poloembryí pocházejících z časných a pozdních (tab. II) blastocyst (ČB a PB). Časných blastocyst jsme rozdělili celkem 43 a přenesli jsme 86 polovin (43 páry). Diagnostikováno bylo 35 zabřezlých zvířat (81,4 %), přičemž bylo zjištěno 61,6 % (53/86) březostí. Zaznamenali jsme tedy 123,3 % efektivitu přežívání poloembryí ve vztahu k děleným embryím.

Pozdní blastocysty jsme dělili v 31 případech, přenesli jsme 62 poloviny (31 pár). Zabřezávání bylo zjištěno u 24 (77,4 %) zvířat a celkem bylo potvrzeno 34 (54,8 %) gravidit. Prokázali jsme tedy 109,7 % efektivitu přežívání polovin v přepočtu na celá embrya (tab. II).

Dále jsme k bisekci použili 15 embryí (tab. III), získali jsme 30 polovin, z nichž 29 bylo schopných přenosu. Tato poloembrya jsme přenesli individuálně, resp. ipsilaterálně. Po tomto ipsilaterálním přenosu zabřezlo celkem 14 příjemců, tj. 48,2 %, což ve vztahu k celkovému počtu dělených embryí představuje 93,3 % efektivitu. Znamená to, že z jednoho děleného embrya jsme dosáhli 0,93 gravidity.

Pokud jde o frekvenci identických gravidit dvojčat po ipsilaterálním a bilaterálním přenosu, jsou výsledky shrnuty v tab. IV. Dosavadní podíl — 28 párů gravidit identických dvojčat — zjištěný po bilaterálním transferu představuje 36,8 % z počtu embryí k dělení použitých. Po přenosu dělených časných blastocyst činila frekvence identických gravidit dvojčat 40 % (18/45), po přenosu pozdních blastocyst 32,3 % (10/31). U ipsilaterálního přenosu byla přežitelnost identických párů prokázána ve 20 % (3/15).

Výsledky naší práce potvrzují, že bovinní blastocysty (D7) mohou být rychle a šetrně děleny při realizaci ET v provozních podmínkách.

Úroveň zabřezávání poloembryí skotu kolísá od 16,6 % (Lambeth aj., 1983) do 79,0 % (Willadsen aj., 1981). My jsme dosáhli 48,2% koncepce po ipsilaterálním přenosu a 58,8% koncepce po přenosu bilaterálním. Tyto výsledky jsou v souladu s všeobecně tradovaným 50% zabřezáváním poloembryí u skotu (Kräusslich, 1985).

Mnoho studií dokazuje, že bisekcí sedmidenního embrya lze významně zvýšit nejen efekt superovulace, ale i počet březostí na výchozí počet embryí (Brem aj., 1983b; Williams aj., 1984; Kräusslich, 1985; Michaelis aj., 1985; Baker a Shea, 1985; Takeda aj., 1986; Williams a Moore, 1988; Lopatářová a Holý, 1988b). Sami jsme dosáhli 93,3%, resp. 117,6% efektivnosti přežívání polovin v přepočtu na celá embrya u ipsilaterálního, resp. bilaterálního přenosu.

Přežijí-li obě poloviny mikrochirurgický zásah i přenos, vznikají monozygotické březosti, resp. dvojčata. Identické páry gravidity jsme potvrdily u bilaterálního přenosu v 36,8 % a u ipsilaterálního transferu v 20 % případů z počtu embryí použitých k dělení. Průměrně jsou dvojčata získávána v 25 %, i když nechybí údaje, že jejich výskyt může být vyšší — od 51 do 70 % (Willadsen aj., 1981; Baker aj., 1984).

Je známo, že mikrochirurgickým zákrokem je zničeno 9 % (Nibbard aj., 1988) až 12 % (Brem aj., 1987) embryonálních buněk. Snažili jsme se tedy vybírat jen nejlepší embrya, aby každé poloembryo mělo kvalitní a početně dostatečný buněčný základ (Heyman, 1985). Jak uvádějí Brem aj. (1983a), je kvalita embryí a vzniklých poloembryí prioritní otázkou celkového efektu dělení. Po bisekcí a přenosu nejlepších embryí (kvalita 1) dosahovala březost na jedno celé embryo 140 % a po přenosu méně kvalitních zárodků (kvalita 2 a 3) 100 % a pouze 17 %.

Poznotek, že přítomnost intaktní zóny pellucidy není pro přežívání blastocyst (D7) *in vivo* (Massey aj., 1982 a další) na rozdíl od časnějších vývojových stadií (Meinecke—Tillmann a Meinecke, 1983) nutná, podstatně zjednodušil doposud složitou dělicí techniku. Pozdější údaje o úspěšném přenosu bezzonných poloembryí pocházejících z kompaktních morul (Massip aj., 1985; Chesné aj., 1987; Říha aj., 1989) potvrdily, že sedmidenní poloembrya mohou být přenášena bez zonální protekce. Dělicí technika tak nevyžaduje drahé mikromanipulační zařízení (Williams a Moore, 1988). V současné době došlo zjednodušení embryonálního dělení tak daleko, že se dokonce může dělat manuálně pod mikroskopickou kontrolou (Shie aj., 1988).

V mnoha studiích se srovnává výše koncepce po přenosu poloembryí bez zóny pellucidy a s ní. Voelkel aj. (1984) zjistili, že přítomnost zóny pellucidy neovlivnila zabřezávání polovin (37 % gravidity se zónou pellucidou a 42 % gravidity bez ní). Také Warfield aj. (1986) připouštějí absenci zóny pellucidy. Po přenosech polovin bez zóny a se zónou dosáhl 40%, popř. 33% gravidity. Agrawala (1987) dělil časně a expandované blastocysty, které bez zóny přežívaly ve 40 % a se zónou v 50 %. Úspěšné přenosy bezzonných poloembryí získaných transzonální dělicí technikou uskutečnili Massip aj. (1985) a Ho-

lý aj. (1985). Oba kolektivy zaznamenaly zabřezávání v 50 % případech. K podobným výsledkům, již na početnějším materiálu, dospěli i Říha aj. (1989). Rovněž Williams a Moore (1988) použili rychlý a jednoduchý způsob pro dělení embryí získaných v D7. Po přenosu polovin jednotlivě dosáhli 45% koncepce, po přenosu identických párů unilaterálně 38%. Nemohli však prokázat počet vyvíjejících se poloembryí přenesených do jednoho rohu.

Willadsen aj. (1981) dosáhli 79% zabřezávání po přenosu obou polovin na jednoho příjemce. Ozil (1983) a Lambeth aj. (1983) zjistili velký rozdíl mezi koncepcí po přenosu jednoho poloembrya (45 %, resp. 16,6 %) a identického páru (72,7 %, resp. 62,5 %) jednomu příjemci. K podobným výsledkům dospěli i Massip aj. (1985). Naproti tomu Picard aj. (1986) neprokázali odlišnost v zabřezávání po přenosu jednoho (57,5 %) či dvou (60,0 %) poloembryí. Agrawala (1987) zaznamenal po bilaterálním přenosu 67% zabřeznutí, po unilaterálním transferu identického páru 60% a po přenosu jednotlivých polovin ipsilaterálně 40% zabřeznutí. Také Říha aj. (1989) referují o 59,1% březosti po přenosu jednotlivých polovin ipsilaterálně. Po bilaterálním transferu zaznamenali 47,1 % zabřezlých při 100% přežívání obou polovin a po unilaterálním přenosu dvou poloembryí byla efektivita gravidity 75 %. Ze zvýšené koncepce po párovém transferu lze podle Willadsena aj. (1981) vyvodit, že hormonální antiluteolický stimul děleného embrya není vždy dostačující pro zachování funkce žlutého tělíska. Tato domněnku potvrzují i naše pozorování, podle nichž jsme po bilaterálním transferu dosáhli zabřezávání v 79 % případů a po ipsilaterálním transferu pouze ve 48,2 %.

Vliv vývojového stadia dělených embryí (D7) na výšku koncepce sledoval Brem (1986). K nejlepším výsledkům dospěl u časných a středních blastocyst. S jejich použitím zvýšil koncepci na 103,7 %, resp. 100,0 %, zatímco u morul a pozdních blastocyst potvrdil březost v 60,8 %, resp. v 66,7 % případů z počtu dělených embryí. Lepší výsledky po přenosu blastocyst než po přenosu morul přičítá pevnějšímu buněčnému svazku, který zůstává zachován i během manipulace. Dalším důvodem pak je, že embryo, které dosáhlo první diferenciační fáze. Lze opticky lépe rozlišit, a tím i lépe rozdělit jednotlivé embryonální útvary. Naproti tomu Říha aj. (1989) zaznamenali 50,6% zabřezávání bezzonných polovin pocházejících z kompaktních morul. 50% po přenosu velmi časných blastocyst a pouze 15,4% po přenosu časných blastocyst. Nízké zabřezávání časných blastocyst však bylo prokázáno na malém počtu těchto vývojových forem (12). Sami jsme zjistili, že po přenosu bezzonných poloembryí z časných, resp. pozdních blastocyst lze dosáhnout uspokojivé úrovně koncepce — 61,6 %, resp. 54,8 %.

Literatura

- AGRAWALA, P.: Untersuchung zur Teilung von Mäuse- und Rinderembryonen und zur Tiefgefrierkonservierung geteilter Rinderembryonen. [Diss.] Hannover 1987. — Tierärztliche Hochschule.
- BAKER, R. D. — SHEA, B. F.: Commercial splitting of bovine embryos. Theriogenology, 23, 1985, s. 3-12.
- BAKER, R. D. — EBERHARD, B. K. — LEFFEL, R. E. — ROHDE, R. F. — HENSCHEN, T. J.: Pregnancy rates following surgical transfer of bovine demiembryos. Proc. 10th Internat. Congr. anim. Reprod. Illinois (USA), II, 1984. 220 s.

- BREM, G.: Mikromanipulation an Rinderembryonen und deren Anwendungsmöglichkeiten in der Tierzucht. Stuttgart, P. Enke Verlag 1986.
- BREM, G. — NIEMANN, H. — SACHER, B. — SCHMIDT, D.: Zum tiefgefrorenen mikrochirurgisch geteilten Rinderembryonen und der Erstellung zeitgleich gebohrer monozygoter Zwillingspaare. Dtsch. tierärztl. Wschr., 94, 1987, č. 4, s. 195-197.
- BREM, G. — FRAHM, K. — KRUFF, B. — MEYER, J. — SZILVASSY, B. — TENHUMBERG, H.: (Un-)ähnlichkeit künstlich erzielter eineiiger Rinderzwillinge. 32. Internat. Fachtagung Fortpflanzung und Besamung, Wels 1983a.
- BREM, G. — KRÄUSSLICH, H. — SZILVASSY, B. — KRUFF, B. — LAMPETER, W. W. — GRAF, F.: Zur Erzeugung eineiiger Rinderzwillinge durch Embryo-Mikrochirurgie. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 96, 1983b, s. 153-157.
- DANKOWSKI, K. R. — ROSELIUS, R. — HAHN, J.: Ergebnisse zur Erstellung monozygoter Rinderzwillinge auf der Embryotransferstation der RPN in Nüchel Bremerhaven. Dtsch. tierärztl. Wschr., 90, 1983, s. 414-418.
- FULKA, J. Jr. — JÍLEK, F.: Dělení embryí a uplatnění této metody v praxi. Náš Chov, 1987, č. 1, s. 11-14.
- HEYMAN, Y.: Factors affecting the survival of whole and halfembryos transferred in cattle. Theriogenology, 23, 1985, s. 63-75.
- HOLÝ, L. — LOPATÁŘOVÁ, M. — KRONTORÁD, P.: Kvalita a studium vývoje embryí ve vztahu k jejich přežívání *in vivo* po ipsilaterálním nekrvavém přenosu. Veter. Med., (Praha), 33, 1988a, s. 577-588.
- HOLÝ, L. — BABUŠÍK, P. — KADĚRA, J. — LOPATÁŘOVÁ, M. — CAHEL, F.: Mikrochirurgické dělení embryí a jeho význam pro zvyšování počtu potomstva a tvorbu identických dvojčat. Veterinářství, 35, 1985, č. 11, s. 510-511.
- HOLÝ, L. — LOPATÁŘOVÁ, M. — KRONTORÁD, P. — HOLÝ, J. — KROUPA, L. — KLÍMEŠ, V. — ŠTELAR, P. — VEPŘEK, Z. — KADĚRA, J. — ŘEHÁNEK, J. — KEJÍK, P. — URBÁNKOVÁ, Z. — CENEK, M.: Výběr a hodnocení příjemců a dárců embryí a zdokonalení metod produkce dvojčat u skotu. [Dílčí zpráva výzkumného úkolu.] Brno, Vysoká škola veterinární 1988b.
- CHESNÉ, P. — COLAS, G. — COGNIE, Y. — GUÉRIN, Y. — SÉVELEC, C.: Lamb production using superovulation, embryo bisection, and transfer. Theriogenology, 27, 1987, s. 751-757.
- JÍLEK, F. — PETELÍKOVÁ, J. — FULKA, J.: Produkce identických jedinců u skotu a její význam při realizaci přenosu embryí. Náš Chov, 7, 1986, s. 282-283.
- KANAGAWA, H.: Some aspects of bovine ova culture *in vitro*. Jap. J. veter. Res., 27, 1979, s. 49-54.
- KRÄUSSLICH, H.: Neue Techniken in der Tierzucht und ihre Anwendungsmöglichkeiten. Züchtungskde, 57, 1985, s. 381-393.
- LAMBETH, V. A. — LOONEY, C. R. — VOELKEL, S. A. — JACKSON, D. A. — HILL, K. G. — GODKE, R. A.: Microsurgery on bovine embryos at the morula stage to produce monozygotic twin calves. Theriogenology, 20, 1983, s. 85-95.
- LOPATÁŘOVÁ, M. — HOLÝ, L.: Kvalita embryí ve vztahu k jejich přežívání *in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988a, s. 651-658.
- LOPATÁŘOVÁ, M. — HOLÝ, L.: Möglichkeiten der Erhöhung des Superovulations-effektes durch Embryonenteilung. Wiss. Tagung: Fortschritte auf dem Gebiet der Zuchthygiene und Reproduktionsmedizin. Berlin 1988b.
- MASSEY, J. M. — ANDERSON, J. G. — ELLIS, W. C. — SORENSSEN, A. M. Jr. — KRAEMER, D. C.: Development of bovine embryos following enzymatic removal of the zona pellucida. Theriogenology, 17, 1982, s. 99.
- MASSIP, A. — ZWALMEN, P. van der — ECTORS, F.: Production de jumeaux monozygotes par duplication d'embryons chez les bovins. Ann. Méd. vét., 129, 1985, s. 53-57.
- MEINECKE-TILLMANN, S. — MEINECKE, B.: Mikrochirurgische Eingriffe am Embryo — biologische Bedeutung und Konsequenzen für Forschung und Praxis. 32. Internat. Fachtagung Fortpflanzung und Besamung, Wels 1983.
- MICHAELIS, U. — RENG, G. — ROSELIUS, R. — HAHN, J.: Erstellung identischer Zwillinge beim Rind. Embryotransfer beim Rind. Symp., Brno-Slušovice 1985.
- NIBARD, M. — SRIPONGPUN, S. — CEDDEN, F. — MECHEKOUR, F. — GUIENNE, B. le — THIBIER, M.: Histological study of bovine intact and demi-embryos. Theriogenology, 29, 1988, s. 283.
- OZIL, J. P.: Production of identical twins by bisection of blastocyst in the cow. J. Reprod. Fertil. 69, 1983, s. 463-468.
- OZIL, J. P. — HEYMAN, Y. — RENARD, J. P.: Production of monozygotic twins by micromanipulation and cervical transfer in the cow. Veter. Rec., 110, 1982, s. 126-127.

- PICARD, L. — KING, W. A. — BETTERIDGE, K. J.: Production of sexed calves from frozen-thawed embryos. *Veter. Rec.*, 117, 1985, s. 603-608.
- PICARD, L. — GREVE, T. — KING, W. A. — BETTERIDGE, K. J. — HOLM JORGENSEN, P.: Bisection of post-compaction bovine embryos: The difference in viability between the two monozygotic halves. *Acta veter. scand.*, 27, 1986, s. 33-48.
- ŘÍHA, J. — KNEISEL, J. — ŘEHORČKA, V. — ŘÍHA, J.: Zhodnocení některých vlivů působících na výsledek superovulace a časný vývoj embryí u skotu. *Živoč. Vyr.*, 33, 1988, s. 11-22.
- ŘÍHA, J. — KLOUČEK, Z. — KNEISEL, J. — VALEČEK, V. — LANDA, V.: Vývoj púlených a celých embryí skotu po kultivaci *in vitro* a po jejich přenosu příjmkyním. *Živoč. Vyr.*, 34, 1989, s. 97-111.
- SHIE, J. — LI, Z. — YUDING, Z.: A simple technique of sheep embryo bisection. *Theriogenology*, 29, 1988, s. 305.
- TAKEDA, T. — HALLOWELL, S. V. — McCAULEY, A. D. — HASLER, J. F.: Pregnancy rates with intact and split bovine embryos transferred surgically and non-surgically. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 204.
- VOELKEL, S. A. — HUMES, P. E. — GODKE, R. A.: Pregnancy rates resulting from non-surgical transfer of micromanipulated bovine embryos. 10th Internat. Congr. Anim. Reprod. Urbana 1984, s. 251-253.
- WARFIELD, S. J. — SEIDEL, S. E. Jr. — ELSDEN, R. P.: Transfer of bovine demi-embryos with and without zona pellucida. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 212.
- WILLADSEN, S. M. — LEHN-JENSEN, H. — FEHILLY, C. B. — NEWCOMB, R.: The production of monozygotic twins of preselected parentage by micromanipulation of non-surgically collected cow embryos. *Theriogenology*, 15, 1981, s. 23-29.
- WILLIAMS, T. J. — MOORE, L.: Quick-splitting of bovine embryos. *Theriogenology*, 29, 1988, s. 477-484.
- WILLIAMS, T. J. — ELSDEN, R. P. — SEIDEL, G. E.: Bisecting, bovine embryos: methods, applications and success rates. *Proc. Workshop, Ann. Conf. Art. Ins. Embryo Transfer in Beef Cattle*. Denver, Colorado, 1983, s. 45-49.
- WILLIAMS, T. J. — ELSDEN, R. P. — SEIDEL, G. E. Jr.: Pregnancy rates with bisected bovine embryos. *Theriogenology* 22, 1984, s. 521-531.

Došlo dne 9. 2. 1989

ЛОПАТАРЖОВА, М. — ГОЛЫ, Л. (Институт ветеринарии, Брно): Возможность повышения эффекта суперовуляции у крупного рогатого скота путем транзонального деления эмбриона на практике. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11) : 641-650.

Транзональным способом разделяли ранние и поздние бластоцисты (D7) самых лучших качеств. Развивающиеся эмбрионы без зональной защиты пересаживали синхронизированным реципиенткам. В результате двустороннего трансфера идентичной пары (всегда по одному полуэмбриону в рог матки) зачали 79,7 % коров, всего отмечено 58,8 % стельности. После ипсилатерального трансфера (половины пересаживались в индивидуальном порядке) гравидность подтверждена у 48,2 % случаев. Эффективность выживания половин 117,6 % у двустороннего трансфера, после ипсилатерального же — 93,3 %. Идентичные пары двоен отмечены в размере 36,8 % у билатерального и 20 % у ипсилатерального трансферов. С помощью транзональной бисекции мы доказали высокую рекуперационную и регенеративную способность 7-дневных бластоцист, обусловленную подходящим отбором эмбриона, как и щадящим стерильным вмешательством, биосовместимой средой и быстрой пересадкой. Таким образом можно добиться удовлетворительного выживания полуэмбрионов в пересадочной практике и, значит, значительного роста суперовуляционного эффекта.

эмбрион; полуэмбрион; микрохирургия эмбриона; бисекция эмбриона

LOPATÁŘOVÁ, M. — HOLÝ, L. (Veterinary University, Brno): Possibility of Increasing the Superovulation Effect in Cattle by means of Transzonal Embryo Bisection in Practice. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11) : 641-650.

Early and late blastocysts (D7) of excellent quality were bisected by the transzonal method. The developing semiembryos without zonal protection were transferred to synchronised recipients — heifers. After bilateral transfer of the identical pair (always one semiembryo into one uterine cornu) 79.7 % of the heifers were impregnated.

ated. The total gravidity was 58.8 %. After ipsilateral transfer (the halves transferred individually) gravidity was confirmed in 48.2 % of the cases. The survival efficiency of the halves with respect to the number of bisected embryos was 117.6 % in bilateral transfer and it decreased to 93.3 % after ipsilateral transfer. Identical pregnancies of twins were recorded in 36.8 % of the bilateral transfers and in ipsilateral transfers only 20 % of the identical pairs survived. We demonstrated the high recuperative and regenerative ability of the bovine 7 day old blastocyst by means of transzonal bisection. This was dependent on the selection of the appropriate embryo, careful manipulation aseptically, biologically compatible cultivation medium and rapid transfer. It is possible to attain satisfactory semiembryo survival levels in transplantation work and by means of this a significant increase of the superovulation effect.

embryo; semiembryo; embryonic microsurgery; embryo bisection

LOPATÁŘOVÁ, M. — HOLÝ, L. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Möglichkeiten einer Erhöhung des Superovulationseffekts beim Rind durch transzonale Embryoteilung in der Praxis*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 641-650.

Auf transzonale Weise wurden frühe und späte Blastozysten (D7) von bester Qualität geteilt. Die sich entwickelnden Halbembryonen ohne zonale Protektion wurden an synchronisierte Empfängerinnen-Färsen übertragen. Nach bilateralem Transfer eines identischen Paares (jeweils ein Halbembryo in ein Gebärmutterhorn) wurden 79,7 % der Tiere trächtig und insgesamt wurden 58,8 % Trächtigkeiten festgestellt. Nach ipsilateralem Transfer (die Hälften wurden individuell übertragen) wurde die Trächtigkeit in 48,2 % der Fälle bestätigt. Die Effektivität des Überlebens der Hälften in bezug auf die Zahl der geteilten Embryonen betrug 117,6 % beim bilateralen Transfer und sank auf 93,3 % nach ipsilateralem Transfer. Identische Zwillingssgraviditäten wurden beim bilateralen Transfer in 36,8 % verzeichnet, beim ipsilateralen Transfer überlebten identische Halbembryonen nur in 20 %. Durch transzonale Bisektion konnten wir hohe Rekuperations- und Regenerationsfähigkeiten der sieben-tägigen Rinderblastozysten nachweisen, die allerdings durch geeignete Embryonenauswahl, einen schonenden und sterilen Eingriff, biologisch kompatibles Kulturmedium und eine rasche Übertragung bedingt sind. Auf diese Weise ist ein befriedigendes Niveau der Überlebensrate der Halbembryonen in der Transferpraxis und dadurch auch eine beträchtliche Erhöhung des Superovulationseffekts zu erreichen.

Embryo; Semiembryo; Embryonen-Mikrochirurgie; Embryobisektion

Adresa autorů:

MVDr. Miloslava Lopatářová, prof. MVDr. Luboš Holý, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

VYUŽITIE STANOVENIA FURAZOLIDONU V MOČI TELIAT PRI LABORATÓRNEJ DIAGNOSTIKE

E. Szabóová, J. Dányi

SZABÓOVÁ, E. — DÁNYI, J. (Štátny veterinárny ústav, Nitra; Okresná veterinárna správa, Nové Zámky): *Využitie stanovenia furazolidonu v moči teliat pri laboratórnej diagnostike*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 651-658.

Vyšetřili sme 41 vzoriek moču teliat za účelom zistenia vylučovania furazolidonu močom. Furazolidon vo forme Terapeutanu T bol podávaný 26 teľatám v terapeutickej dávke 5 g individuálne *per os*, čo predstavuje približne 3 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti a deň po dobu piatich dní. Dávka dvojnásobná vzhľadom na liečebnú, t. j. 6 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti, bola aplikovaná 11 teľatám tiež päť dní. Trojnásobnú dávku sme podávali dvom teľatám a po dvoch i troch dňoch aplikácie sme sledovali vylučovanie furazolidonu v moči. Dynamiku vylučovania furazolidonu v moči jedného teľata sme zisťovali aj po päťnásobnej dávke oproti dávke terapeutickkej, podávanej dva dni následne po dvojnásobnej dávke aplikovanej štyri dni. Pri dávke 3 mg furazolidonu a 6 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti a deň sa furazolidon vylučoval močom minimálne a ojedinele (7,6 ‰). Pri vyšších dávkach sme furazolidon v moči zisťovali u všetkých jedincov. Najvyššie koncentrácie furazolidonu v moči teliat sme zistili po aplikácii päťnásobnej dávky oproti terapeutickkej, t. j. 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti, po štvrtej hodine od odberu moču (23,0 mg furazolidonu na liter moču). Táto dávka podávaná dva dni nevyvolala klinické príznaky ochorenia. Ukazuje sa opodstatnené zisťovať hladinu furazolidonu v moči teliat pri laboratórnej diagnostike. Vyšetřenie prispieva k posúdeniu podávanej dávky furazolidonu teľatám. Hodnoty koncentrácie furazolidonu v moči vyššie ako 1,0 mg.l⁻¹ moču poskytujú varovné signály z predávkovania tohto chemoterapeutika. Na stanovenie furazolidonu v moči sme použili fotometrickú metódu, ktorú popísali Herret a Buzard (1960).

chemická diagnostika otravy furazolidonom; rôzne dávky furazolidonu; vylučovanie furazolidonu močom; hodnotenie nálezu furazolidonu v moči teliat

Furazolidon je jednou z najúčinnjších antibakteriálnych zlúčenín zo skupiny derivátov 5-nitrofuránu. Pridáva sa do 11 druhov veterinárnych prípravkov, ktoré sa vyrábajú na domácom trhu. Známe sú Galacid, Terapeutan T, Vibriogal, Tylan, Colentrin, Vubivet, Vitalakty a ďalšie. Mnohé z nich sa často používajú k prevencii a terapii gastroenteritídnych porúch, najmä u teliat (S p o f a, 1983).

Pri predávkovaní prípravkom môže u zvierat dôjsť k syndrómu hemoragickej diatézy. Dokumentujú to prípady otráv furazolidonom u teliat, ktoré v domácich podmienkach popísali Slanina a i. (1974) a Sokol (1979). V zahraničí rozoberajú intoxikácie furazolidonom u teliat Hoffmann a i. (1974), Dirksen a Hoffmann (1974), Pietsch a i. (1975), Fankhauser a i. (1981) a Postema (1983).

V súčasnej dobe sa diagnóza otravy furazolidonom stanovuje na základe podrobnej anamnézy klinických prejavov ochorenia, patologic-

ko-anatomického obrazu a histologického vyšetrenia orgánov, doplnenej analýzou krvi na biochemické ukazovatele. Ďalej je potrebné diferenciálne diagnosticky vylúčiť pasterelózu, stachybotryotoxikózu, avitaminózu E, aflatoxikózu a otravu kumarínom (Sokol, 1979; Alexandrovová, 1984; Ševcová, 1985).

Stanovením furazolidonu v orgánoch teliat i v biologických tekutinách z hľadiska rezíduí sa zaoberali Pietsch a i. (1978), Kalim (1985) a Goran (1985).

Chemická diagnostika otravy furazolidonom u hospodárskych zvierat nie je rozpracovaná, a preto je určenie intoxikácie furazolidonom u teliat z chemického aspektu problematické. Údaje o koncentráciách furazolidonu v biologickom materiáli, ktoré by svedčili o otrave týmto chemoterapeutikom, sa v dostupnej literatúre temer neobjavujú.

Zisťované pozitívne nálezy furazolidonu v moči uhynutých zvierat vyšetrovaných pre podozrenie na otravu nás viedli k preskúmaniu možnosti, ako využiť stanovenie koncentrácie furazolidonu v moči teliat na posúdenie jeho predávkovania.

MATERIÁL A METÓDY

Aby sme zistili vylučovanie furazolidonu v moči, vyšetrili sme 41 vzoriek moču teliat. Išlo o jednomesačné teľatá na mliečnej výžive. Ráno a večer boli zvieratá napájané roztokom Laktavitu v celkovom množstve šesť až osem litrov. Bola im predkladaná krmná zmes TKŠ i sušená ďatelina. K napájacej vode mali teľatá voľný prístup.

Furazolidon vo forme Terapeutanu T v terapeutickú dávku 5 g individuálne *per os*, čo predstavuje približne 3 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti a deň, sme podávali 26 teľatám po dobu piatich dní. Dvojnásobnú dávku furazolidonu oproti liečebnej, t. j. 6 mg $\cdot$ kg⁻¹ živej hmotnosti, sme aplikovali v dvoch dielčích dávkach 11 teľatám tiež päť dní.

Moč sme odoberali pri spontánnom močení, štyri hodiny po raňajšom nakŕmení v piatom dni od aplikácie furazolidonu.

V ďalšom sledovaní sme dvom teľatám podávali trojnásobnú dávku oproti terapeutickú, tiež v dvoch dielčích dávkach. Hľad'nu vylučovaného furazolidonu v moči sme stanovovali po druhom a treťom dni aplikácie.

Ďalej sme biologickému pokusu podrobili jedno štvortýždňové teľa o hmotnosti 45 kg s príznakmi bronchopneumónie a akútnej gastroenteritídy infekčného pôvodu. Liečba spočívala v perorálnej aplikácii dvojnásobnej dávky furazolidonu (vzhľadom na terapeutickú dávku po dobu štyroch dní). V piatom dni bola dávka furazolidonu zvýšená na päťnásobok, t. j. na 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti; táto dávka bola aplikovaná dva dni. Dynamiku vylučovania furazolidonu močom sme sledovali v priebehu dvoch dní.

Odber moču sme robili pri spontánnom močení tak, že po získaní celého množstva jednotlivého močenia bola odobratá vzorka moču a analyzovaná ihneď po odbere na obsah furazolidonu. Moč bol odobieraný v intervaloch 0,45 — 1,20 — 2,00 — 2,55 — 4,00 — 5,20 — 9,05 — 25,00 — 26,00 — 27,30 — 30,00 a 37,45 hodín po poslednej aplikácii. Ďalej sme v moči zisťovali aktuálnu kyslosť a mernú hmotnosť.

Kvantitatívne stanovenie furazolidonu v moči bolo vykonávané metódou, ktorú popísali Herrett a Buzard (1960). Princíp fotometrickej metódy spočíva v reakcii furazolidonu s fenyldrazidom v kyslom prostredí za zvýšenej teploty. Po extrakcii do toluénu sa vzorka podrobuje chromatografickému čisteniu na stĺpci oxidu hlinitého za účelom odstránenia interferujúcich zložiek. Červený hydrazónový derivát sa z chromatografického stĺpca postupne eluuje zmesou rozpúšťadiel. Eluát sa po zahutnení fotometruje pri vlnovej dĺžke $\lambda = 445$ nm oproti porovnávacej vzorke. Medza stanovenia: 0,2 mg furazolidonu na liter moču. Citlivosť stanovenia možno zvýšiť zahutnením vzorky moču.

Aktuálna kyslosť moču bola zisťovaná potenciometricky a merná hmotnosť urometrom. Koncentrácie furazolidonu v moči boli prepočítané na hodnotu mernej hmotnosti moču 1005 g $\cdot$ l⁻¹.

VÝSLEDKY

Hladiny furazolidonu v moči teliat pri dávke 3 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti sa pohybovali v rozpätí od 0,0 do 0,242 mg . l⁻¹ a pri dávke dvojnásobnej oproti terapeutickej, 6 mg . kg⁻¹ živej hmotnosti, boli koncentrácie furazolidonu v moči v rozmedzí od 0,0 do 0,867 mg . l⁻¹. Výsledky sú uvedené v tab. I.

I. Koncentrácia furazolidonu v moči teliat po aplikácii Terapeutanu T v dávke 3 mg furazolidonu a 6 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po piatich dňoch — Furazolidone concentration in calf urine after Terapeutan T administration at a dose of 3 mg furazolidine and 6 mg furazolidine per kg live weight after 5 days

Dávka furazolidonu mg.kg ⁻¹ živej hmotnosti	Počet močov	Furazolidon mg.l ⁻¹		Merná hmotnosť g.l ⁻¹		Aktuálna kyslosť log mol c	
		min	max	min	max	min	max
3,0	27	0,0	0,242	1001	1017	5,50	7,65
6,0	11	0,0	0,867	1001	1007	5,68	6,98

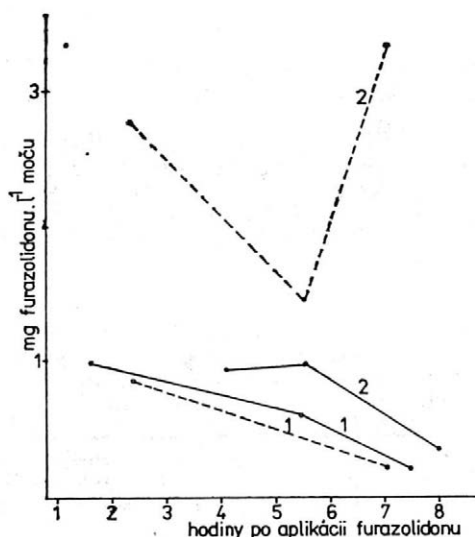
Koncentrácie furazolidonu v moči teliat pri dávke 9 mg . kg⁻¹ živej hmotnosti (trojnásobnej oproti liečebnej) po dvoch dňoch aplikácie sme zisťovali v rozpätí od 0,23 do 1,01 mg furazolidonu na liter moču. Najvyššia hodnota sa dosiahla po 5,30 hodine po aplikácii. Obsah furazolidonu v moči teliat po troch dňoch podávania tejto dávky prípravku bol v rozmedzí od 0,23 do 3,32 mg furazolidonu na liter moču. Najvyššiu hodnotu koncentrácie furazolidonu v moči sme zistili po siedmej hodine od podania prípravku. Výsledky sú zhrnuté v tab. II a znázornené na obr. 1.

U teľaťa, ktoré prijímalo dávku 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti, t. j. pätnásobnú oproti dávke terapeutickej, sme zisťovali koncentrácie furazolidonu v moči po dvojdennej aplikácii v rozpätí od 2,75 do 23,0 mg . l⁻¹ moču. Táto najvyššia hladina furazolidonu bola zistená po štvrtej hodine od aplikácie. Výsledky sú uvedené v tab. III a na obr. 2.

DISKUSIA

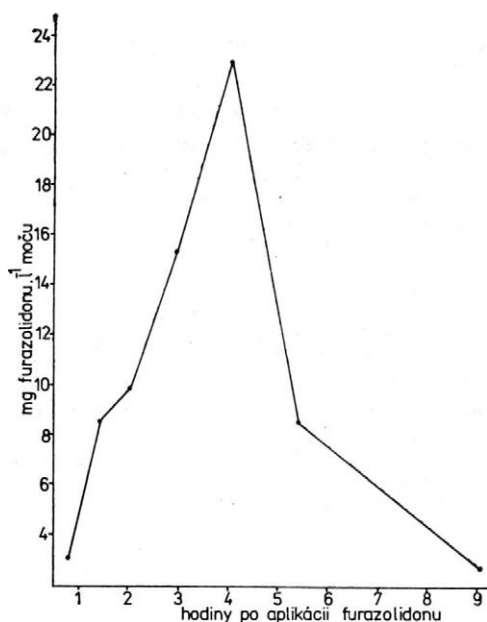
Po aplikácii terapeutickej dávky (3 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti) boli hladiny furazolidonu v moči teliat na veľmi nízkej úrovni — až 92,5 % vzoriek moču vykazovalo koncentrácie nulové. Pri dvojnásobnej dávke oproti terapeutickej (6 mg furazolidonu na kilogram hmotnosti) sa dosiahli približne rovnaké výsledky ako pri dávke liečebnej, 90,9 % teliat furazolidon močom nevylučovalo.

Minimálne koncentrácie furazolidonu vylučované u teliat je možno zdôvodniť rýchlymi metabolickými premenami furazolidonu po perorálnom príjme do zažívacieho traktu. Biotransformácia furazolidonu sa deje redukciou nitroskupiny v polohe 5-furánového kruhu, potom hydroxy-



1. Hladiny furazolidonu v moči teliat pri dávke 9 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po dvoch a troch dňoch podávania Terapeutanu T — Furazolidone levels in calf urine during the administration of 9 mg furazolidone per kg live weight after 2 and 3 days of Terapeutan administration

1, 2 — teľa č. 1, č. 2
 ————— po dvoch dňoch
 - - - - - po troch dňoch



2. Dynamika vylučovania furazolidonu v moči teľaťa pri dávke 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po dvoch dňoch aplikácie — Dynamics of furazolidone excretion in calf urine at dose of 15 mg furazolidone per kg live weight after 2 days administration

II. Koncentrácia furazolidonu v moči teliat pri dávke 9 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po dvoch a troch dňoch podávania prípravku — Furazolidone concentration in calf urine at a dose of 9 mg furazolidone per kg live weight after 2 and 3 days of the preparation administration

Čas od začiatku aplikácie		Čas po aplikácii furazolidonu		Furazolidon mg.l ⁻¹	Merná hmotnosť log mol c
		hodiny	minúty		
Dva dni	teľa č. 1	1	30	1,00	1013
		5	30	0,62	1007
		7	30	0,23	1006
	teľa č. 2	4	00	0,94	1010
		5	30	1,01	1004
		8	00	0,36	1004
Tri dni	teľa č. 1	2	20	0,96	1008
		7	00	0,23	1005
	teľa č. 2	2	15	2,76	1003
		5	30	1,44	1005
		7	00	3,32	1002

III. Dynamika vylučovania furazolidonu močom u teľaťa pri dávke 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti aplikovanej dva dni — Dynamics of furazolidine excretion in urine of a calf with a dose of 15 mg per kg live weight, administered over 2 days

Čas po aplikácii		Furazolidon mg.l ⁻¹	Merná hmotnosť g.l ⁻¹	Aktuálna kyslosť log mol c
hodiny	minúty			
0	45	3,16	1003	5,90
1	20	8,55	1002	5,85
2	00	9,80	1002	5,85
2	55	15,30	1002	—
4	00	23,03	1003	5,90
5	20	8,50	1005	5,90
9	05	2,75	1009	—
25	00	0,0	1003	5,85
26	00	0,0	1002	—
27	30	0,0	1002	—
30	00	0,0	—	—
37	45	0,0	—	—

láciou a tvorbou metabolických produktov, ako sú nitrofuraldehyd, kyselina nitrofuranová, nitrofuraldehyddiacetát, zisťovaných v moči teliat. Prispievajú k tomu mnohé enzýmy (monooxidázy, cytochrómoxidázy — NADPH-cytochrom-c-reduktáza, oxidázy — xantínoxidáza i dehydrogenázy (Kalim, 1985; Goran, 1985).

Koncentrácie furazolidonu v moči pri terapeutickej dávke nie sú v dostupnej odbornej literatúre zachytené. Problematika je rozoberaná až pri vyšších dávkach. Kalim (1985) zistil po dvoch dňoch podávania 10 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti medzi tretou až štvrtou hodinou od aplikácie u dvoch teliat, teda v čase, kedy sme aj my odoberali vzorky moču na vyšetrenie, hodnotu koncentrácie furazolidonu 0,874 a 2,34 mg.l⁻¹. Mernú hmotnosť moču autor neudáva, preto pravdepodobne aj tieto hodnoty nie sú prepočítané na jednotnú mernú hmotnosť moču, ako je to v našich výsledkoch sledovaní. Nami stanovená hladina furazolidonu v moči teľaťa pri dávke 9 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po dvoch dňoch po 5,30 hodine od odberu bola blízka hodnote koncentrácie furazolidonu, ktorú zistil citovaný autor.

Najvyššia hladina furazolidonu v moči pri dávke 15 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti bola zistená po štvrtej hodine od aplikácie. Podobný výsledok dosiahol aj Kalim (1985).

Resorbcia a exkrécia furazolidonu je u rôznych druhov zvierat rozdielna a je závislá od prijatej dávky. Po perorálnej aplikácii 10 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti po troch dňoch u teliat zistili Pietsch a i. (1978) maximálne koncentrácie v krvi v prvých dvoch hodinách po aplikácii. Po 24 hodinách po podaní sa koncentrácie furazolidonu nezistili. Pri kombinácii furazolidonu s kyselinou humínovou

sa resorbcia znížila a potom sa maximálne hladiny furazolidonu v krvi posunuli z druhej na šiestu hodinu po poslednej dávke.

V našom sledovaní sme u teľaťa, ktoré dostávalo 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti, po 25 hodinách od poslednej aplikácie furazolidon v moči nezistili. Vylučovanie na takejto úrovni zotrvalo i v ďalších vyšetrovaných časových intervaloch, to znamená až do 37,45 hodiny. Získané výsledky sú v súlade s výsledkami pokusov, ktoré uverejnil Kalim [1985].

Teľatá sú citlivé na furazolidon. Z tohto dôvodu sa doporučuje terapeutická dávka 3 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti a deň po dobu piatich dní. Už dávka 4 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti po siedmich týždňoch vyvoláva syndróm hemoragickej diatézy. Množstvá vyššie, od 7 do 15 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti, podávané 7 až 50 dní, spôsobujú klinickú formu ochorenia končiacu obyčajne letálne [Hoffmann a i., 1974; Dirksen a Hoffmann, 1974; Sokol, 1979]. Podobne Slanina a i. [1974] pri dávke 8 až 12 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti popísal otravu teliat s patologickým obrazom hemoragickej diatézy. Rovnaké výsledky dosiahla aj Ševcová [1985]. Lilja [1976 — cit. Alexandrovová a i., 1984] pozoroval klinické príznaky pri dávke 16 až 20 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti a deň už po siedmich dňoch podávania prípravku. K intoxikácii furazolidonom u teliat došlo pri dávke 30 mg.kg⁻¹ živej hmotnosti po druhej až piatej dávke a pri 60 mg.kg⁻¹ po štvrtej aplikácii [Fankhauser a i., 1981 — cit. Kalim, 1985]. Ani jeden autor neuvádza hladiny furazolidonu v moči pri otrave.

V priebehu našich pokusov a sledovaní sme nepozorovali klinické symptómy ani iné zmeny v chovaní teliat.

Z výsledkov vyšetrenia vyplýva:

Furazolidon v moči teliat sa vylučoval v závislosti od prijatej dávky. Pri dávke 3 mg [terapeutická] a 6 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti so furazolidon vylučoval močom minimálne a ojedinele (7,6 %). Pri vyšších dávkach sa zisťoval v moči všetkých jedincov.

V priebehu dňa sa furazolidon močom vylučoval rozdielne. Najvyššie hladiny sme zisťovali v období medzi 1,30 až 7,00 hodinou po podaní prípravku.

Po príjme dvojnásobnej dávky oproti terapeutickej (6 mg furazolidonu na kilogram živej hmotnosti a deň) po dobu piatich dní ešte nehrozilo nebezpečenstvo z intoxikácie týmto chemoterapeutikom. Dávka päťnásobná oproti liečebnej, aplikovaná dva dni, nevyvolala klinické príznaky ochorenia.

Využitie stanovenia furazolidonu v moči teliat sa ukazuje ako opodstatnené pri laboratórnej diagnostike. Vyšetrenie moču na obsah furazolidonu prispieva k posúdeniu podávanej dávky furazolidonu do organizmu teliat. Hodnoty koncentrácie furazolidonu vyššie ako 1,0 mg.l⁻¹ moču poskytujú varovné signály z jeho predávkovania. Z tohto dôvodu je účelné vyšetriť moč teliat po troch dňoch aplikácie medzi treťou až piatou hodinou po podaní prípravku.

Diagnózu otravy furazolidonom u teliat je potrebné určovať komplexne, a to na základe klinických príznakov, priebehu ochorenia, patologicko-anatomického nálezu, doby podávania prípravku a hodiny odberu biologického materiálu na laboratórne vyšetrenie.

Literatúra

- ALEXANDROVOVÁ, E. — GOROVÁ, J. — DZÚROV, A.: Patomorfológia akútnej otravy teliat furazolidonom. *Veter. Sci.*, XXI, 1984, č. 7-8, s. 119-126.
- DIRKSEN, G. — HOFFMANN, W.: Neuere Gesundheitsprobleme bei Aufzucht und Mast von Kälbern; eine Übersicht. *Veter.-med. Nachr.*, 1, 1974, s. 3-21.
- FANKHAUSER, J. A. — BIEN, B. — COTTINGHAM, R.: Nitrofurazone toxicity in dairy calves. *Veter. Med. small anim. Clin.*, 76, 1981, s. 861-862.
- GÖRAN, H.: Untersuchung von Furazolidon und Furaltadon auf radikalbildende Eigenschaften *in vivo*. [Dizertačná práca.] München 1985.
- HERRETT, R. — BUZARD, J. A.: Determination of furazolidone and nitrofurazone in chicken tissues. *Analyt. Chem.*, 32, 1960, s. 1676-1678.
- HOFFMANN, W. — HOFFMANN, R. — HOFFMANN-FEZER, G.: Untersuchungen über die chronische Furazolidon-Vergiftung beim Kalb. 1. Mitteilung: Klinische, hämatologische und morphologische Untersuchungen. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 81, 1974, č. 3, s. 53-58.
- KALIM, H.: Zum Nachweis von Furazolidonrückständen in Körpergeweben und Flüssigkeiten von Kalb und Schwein mittels Hochdruckflüssigkeits-Chromatografie. [Dizertačná práca.] München 1985.
- LILJA, C. G.: Akute Furazolidonvergiftung bei Kälbern. *Sven. Veter.-Tidn.*, 27, 1976, s. 699-702.
- PIETSCH, W. — RÜFFLE, E. — RUMBER, H.: Zur Furazolidon-Intoxikation beim Kalb. *Mh. Veter.-Med.*, 30, 1975, č. 33, s. 855-859.
- PIETSCH, W. — BELITZ, B. — TROLLDENIER, H.: Untersuchung zur Resorption von Furazolidon beim Saukalb. *Mh. Veter.-Med.*, 33, 1978, č. 10, s. 366-369.
- POSTEMA, H. J.: Nitrofurzanvergiftiging bij vleekalveren. *Tijdschr. Diergeneesk.*, 1983, č. 6, s. 238-240.
- SPOFA, Seznam veterinárních přípravků. Praha 1983.
- SLANINA, L. — LEHOCKÝ, J. — SOKOL, J.: Toxická hemoragická diatéza u teliat. *Veterinářství*, 24, 1974, č. 6, s. 244-246.
- SOKOL, J.: Toxická hemoragická diatéza — otrava furazolidonom. In: Zbor. Ref. Semin.: Hromadné intoxikácie hospodárskych zvierat. Bratislava, Ústav veterinárnej osveti 1979, s. 25-27.
- SEVCOVÁ, U. H.: Nitrofurantoin toxikoz teliat. *Veterinarija*, 1985, č. 5, s. 68-69.

Došlo dňa 26. 1. 1989

САБОВА, Э. — ДАНИ, Я. (Государственный ветеринарный институт, Нитра; Райветуправление, Нове Замки): Использование наличия фуразолидона в моче телят в лабораторной диагностике. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11) : 651-658.

Мы исследовали 41 образец мочи телят, чтобы установить выделение фуразолидона, который вводили в форме Терапевтана Т 26 телятам в дозе 5 г индивидуально через рот, или около 3 мг фуразолидона/кг живого веса в сутки в течение 5 дней. Двойную его дозу, 6 мг, вводили 11 телятам тоже в течение 5 дней, а тройную — 2 телятам в течение 2 и 3 дней. Динамику выделения фуразолидона мы определяли у телят также после 5-кратной дозировки через два дня после 2-кратной, вводимой 4 дня. При 3 и 6 мг фуразолидона/кг ж. веса в сутки он выделялся с мочой в минимальном количестве и не у всех (7,6%), а при повышенных дозировках — у всех, причем наибольшая его концентрация отмечена при 5-кратной дозе (15 мг), начиная с 4-го часа после взятия мочи (23,0 мг фур./л мочи). Эта доза в течение 2 дней не вызвала клинических признаков заболевания. Представляется целесообразным определять уровень фуразолидона в лабор. диагностике. Исследование помогает правильно подытожить подаваемую дозу фуразолидона телятам. Если он превышает 1,0 мг. л⁻¹ в моче, то это свидетельствует о передозировке этого хемотерапевтического препарата. Для такого определения мы пользовались фотометрическим методом, описанным авторами Херрет и Бузард (1960).

химическая диагностика отравления фуразолидоном; разные дозы фуразолидона; выделение фуразолидона мочей; оценка наличия фуразолидона в моче телят

SZABÓOVÁ, E. — DÁNYI, J. (State Veterinary Institute, Nitra; District Veterinary Board, Nové Zámky): Utilization of Furazolidone Determination in Calf Urine in Laboratory Diagnostics. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11) : 651-658.

We examined 41 samples of calf urine in order to determine the urinary furazolidone excretion. 26 calves were administered furazolidone in the form of Therapeutan T in

a therapeutic dose of 5 kg *per os* individually, which represents approx. 3 mg of furazolidone per kg body weight per day over 5 days. 11 calves were administered with twice the therapeutic dose, i.e. 6 mg furazolidone per kg live body weight over the same 5 days. A triple strength dose was administered to two calves on the 2nd and 3rd days and after administration we observed the furazolidone excretion in urine. The dynamics of furazolidone excretion in urine of one calf we determined even after the fivefold dose in comparison with the therapeutic dose, administered in the course of 2 days after application of the double dose, which was administered over 4 days. During administration of 3 mg and 6 mg furazolidone respectively per kg of live weight per kg furazolidone was excreted in urine minimally and only rarely (7,6 %). During administration of higher doses furazolidone was found in the urine of all individuals. The highest urinary concentration of furazolidone in calves was determined after administration of the fivefold dose in comparison with the therapeutic dose, i.e. 15 mg furazolidone per kg live weight in the 4th hour after urine collection (230 mg furazolidone per liter urine). When this dose was administered over 2 days, it did not elicit any clinical symptoms of disease. It has proved to be well founded to determine the furazolidone level in calf urine in laboratory diagnostics. The examination contributes to the estimation of the furazolidone dose, administered to calves. Urinary furazolidone concentrations greater than 1.0 mg.l⁻¹ provide warning signals of overdosage with this chemotherapeutic. For urine furazolidone determination we utilized the photometric method, described by Herret and Buzard (1960).

chemical diagnostics of furazolidone poisoning; different furazolidone doses; urinary furazolidone excretion; evaluation of furazolidone finding in calf urine

SZABÓOVÁ, E. — DÁNYI, J. (Staatliches Veterinärinstitut, Nitra; Kreis-Veterinärverwaltung, Nové Zámky): *Anwendung der Bestimmung von Furazolidon im Harn von Kälbern bei Labordiagnostik*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 651-658.

Wir untersuchten 41 Harnproben von Kälbern zur Bestimmung der Furazolidonausscheidung durch Harn. Das Furazolidon wurde in Form von Therapeutan T an 26 Kälber in einer therapeutischen Dosis von 5 mg individuell *per os* verabreicht, was rund 3 mg Furazolidon pro Kilogramm Lebendmasse und Tag im Verlauf von fünf Tagen darstellt. Eine in bezug auf die theapeutische Dosis zweifache Gabe, d.h. 6 mg Furazolidon pro kg Lebendmasse, wurde an 11 Kälber ebenfalls fünf Tage lang appliziert. Eine dreifache Dosis wurde an zwei Kälber verabreicht und nach zwei und drei Applikationstagen verfolgten wir die Furazolidonausscheidung durch den Harn. Die Dynamik der Ausscheidung des Furazolidons im Harn eines Kalbes untersuchten wir auch nach einer gegenüber der normalen therapeutischen Dosis fünffachen Gabe, die zwei Tage nach einer zweifachen, vier Tage lang applizierten Dosis verabreicht wurde. Bei den Gaben von 3 mg und 6 mg Furazolidon pro Kilogramm Lebendmasse und Tag wurde das Furazolidon durch den Harn nur vereinzelt und minimal ausgeschieden (7,6 %). Bei den höheren Gaben war Furazolidon im Harn bei sämtlichen Tieren festzustellen. Die höchste Furazolidonkonzentration im Harn der Kälber war nach der Applikation der gegenüber der therapeutischen Dosis fünffachen Gabe, d.h. 15 mg Furazolidon pro kg Lebendmasse, nach vier Stunden nach der Harnentnahme zu ermitteln (23,0 mg Furazolidon pro Liter Harn). Diese Dosis, verabreicht im Verlauf von zwei Tagen, rief keine klinischen Krankheits-symptome hervor. Es erweist sich als zweckmäßig, bei der Labordiagnostik das Furazolidonniveau im Harn der Kälber zu bestimmen. Diese Untersuchung trägt zur Bewertung der verabreichten Furazolidondosis bei den Kälbern bei. Werte der Furazolidonkonzentration von mehr als 1.0 mg.l⁻¹ Harn sind als Warnsignale einer Überdosierung dieses Chemotherapeutikums zu betrachten. Zur Furazolidonbestimmung im Harn wandten wir die von Herret und Buzard (1960) beschriebene photometrische Methode an.

chemische Diagnostik der Furazolidonvergiftung; verschiedene Furazolidondosen; Furazolidonausscheidung durch Harn; Bewertung der Furazolidonfunds im Harn von Kälbern

Adresy autorov:

Ing. Eva Szabóová, Štátny veterinárny ústav, ul. Májového povstania českého ľudu 3, 949 01 Nitra

MVDr. Ján Dányi, Okresná veterinárna správa, 940 01 Nové zámky

ZMENY FOLIKULÁRNEHO APARÁTU A POPULÁCIE TERCIÁRNYCH FOLIKULOV U OVIEC PO PODANÍ PMSG V ANESTRICKOM OBDOBÍ

M. Tokoš, J. Arendarčík, J. Laurinčík

TOKOŠ, M. — ARENDARČÍK, J. — LAURINČÍK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Zmeny folikulárneho aparátu a populácie terciárnych folikulov u oviec po podaní PMSG v anestríckom období*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 659-664.

Sledovali sme celkové kvantitatívne zmeny vaječníkov, pomer neatretických a atretických folikulov a zmeny populácie terciárnych folikulov u oviec po podaní stupňovaných dávok PMSG v anestríckom období. U pokusných skupín sme biometriou zistili štatisticky významné zvýšenie priemernej hmotnosti, objemu a rozmerov vaječníkov oproti kontrolnej skupine. Priemerný počet terciárnych folikulov bol vyšší u pokusných skupín, ale tiež sme u nich zistili vyššie zastúpenie počtu atretických folikulov (64 % z celkového počtu u kontrolnej skupiny; 71—77 % u pokusných skupín). U skupiny oviec s dávkou 1500 m. j. PMSG sme zistili vysoké zastúpenie počtu luteinizovaných folikulov (až 21 % z počtu atretických folikulov). Celkový počet malých folikulov v tzv. prechodnej fáze bol v porovnaní pokusných a kontrolnej skupiny nevýznamne zmenený. U pokusných skupín sme zistili zvýšený výskyt preovulačných folikulov a zníženie veľkosti terciárnych folikulov v období tvorby folikulárnej dutiny.

PMSG; anestrícké obdobie; vaječníky; terciárne folikuly; ovce

V priebehu estrálneho cyklu každý vaječník dospeljej ovce obsahuje okolo desiatich folikulov s priemerom nad 2 mm, z ktorých dve tretiny podliehajú atrezií (Brand a de Jong, 1973). Na konci estrálneho cyklu sa plne rozvinie a následne ovuluje iba jeden alebo dva folikuly. Ak sa ovciám počas luteálnej fázy estrálneho cyklu podá exogénny gonadotropín, ovuluje až desať folikulov (Dott a i., 1979). Po podaní PMSG v anestríckom období je folikulárna odpoveď nižšia ako v prípušťacom období (Gherardi a Lindsay, 1980). Podaný exogénny gonadotropín má však aj negatívne účinky na folikulárny aparát vaječníkov oviec. Podľa autorov Mariana a Machado (1976) podanie PMSG znižuje veľkosť folikulov v období tvorby folikulárnej dutiny. Zároveň sa zvyšuje atreziá terciárnych folikulov, najmä luteinizačnej, ktorá je závažnou prekážkou omlácie (Pivko, 1979).

V našej práci sme sa zaoberali na sledovanie vplyvu exogénneho gonadotropínu (PMSG) na celkovú ovariálnu odpoveď so zameraním na zmeny folikulárneho aparátu a populácie terciárnych folikulov u oviec v anestríckom období. Úlohou práce bolo zistiť najvhodnejšiu dávku PMSG, aby sa dosiahla superovulácia v anestríckom období, a zároveň sledovať jeho vplyv na folikulárny aparát so zameraním na znižovanie počtu atretických folikulov po podaní PMSG (Dott a i., 1979).

MATERIÁL A METÓDA

Do pokusu vykonaného v anestríckom období (február—apríl) sme zaradili 32 trojročných oviec plemena slovenské merino po odstavení jahniat. Po veterinárnej prehliadke boli zvieratá chované v experimentálnych podmienkach za dodržania kŕmnej dávky zimného typu. V priebehu pokusu neboli ovce dojené. Pokusné zvieratá sme rozdelili do štyroch skupín. Prvá skupina (osem oviec) slúžila ako kontrolná. Ovciam druhej, tretej a štvrtej skupiny sme v 0. dni pokusu *i. m.* podali 750, 1000 a 1500 m. j. PMSG (Antex Leo). Ovce sme zabíjali v piatom dni po podaní PMSG. U excidovaných vaječníkov sme zisťovali priemernú hmotnosť s presnosťou $\pm 0,01$ g, objem ponorením do fixačnej tekutiny s presnosťou $\pm 0,01$ ml a ich dĺžku, výšku a šírku v milimetroch ($\pm 0,5$ mm). Ďalej sme na vaječníkoch stanovili počet veľkých, preovulačných folikulov nad 2 mm v priemere a počet novovytvorených žltých teliesok. Po histologickom spracovaní sme excízy krájali na rezy hrúbky 6 μ m a prehľadne ofarbili hematoxilín-eozínom. Na preparátoch sme stanovili celkový počet terciárnych folikulov a diferencovali sme ich na neatretické a atretické (Marion *ai.*, 1968). Náhodne vybrané vaječníky od troch oviec z každej skupiny sme sériovo krájali na rezy hrúbky 7 μ m a po ofarbení sme na nich stanovili počet malých folikulov v prechodnej fáze a priemer veľkých, terciárnych folikulov na reze s výrazným oocytom podľa autorov Cahill *ai.* (1979). Výsledky sme štatisticky vyhodnotili Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Po podaní PMSG v stupňovaných dávkach sme zistili štatisticky významné zvýšenie hmotnosti a objemu vaječníkov, pričom najvyššie hodnoty sme zaznamenali u skupiny oviec s dávkou 1500 m. j. PMSG (tab. I). Tak isto všetky sledované rozmery vaječníkov boli u pokusných skupín signifikantne vyššie ako u skupiny kontrolnej.

U pokusných skupín sme zaznamenali štatisticky významné zvýšenie počtu ovulácií v porovnaní s kontrolnou skupinou (tab. II). Priemerný počet terciárnych folikulov bol vyšší u pokusných skupín, s výnimkou štvrtej skupiny, rozdiely však neboli štatisticky významné oproti kontrolnej skupine. I počet tzv. malých folikulov, t. j. folikulov v prechodnej fáze medzi spiacími a rastúcimi folikulami, bol u hodnotených skupín štatisticky nevýznamne zmenený, pričom ich najvyšší počet sme zistili u oviec po dávke 1500 m. j. PMSG.

U kontrolných oviec bola približne tretina terciárnych folikulov neatretických a dve tretiny atretických. Tie boli väčšinou v štádiu ran-

I. Priemerná hmotnosť, objem a rozmery vaječníkov u oviec v anestríckom období po podaní PMSG ($\pm$ s. e. m.) — Average weight, volume and dimensions of ovaries in sheep during anoestrous after PMGS administration ($\pm$ s. e. m.)

Skupina	n	Priemerná hmotnosť vaječníkov [g]	Priemerný objem vaječníkov [ml]	Priemerné rozmery vaječníkov [mm]		
				dĺžka	výška	šírka
1.	8	0,61 $\pm$ 0,41	0,65 $\pm$ 0,47	13,81 $\pm$ 2,83	9,62 $\pm$ 2,37	5,75 $\pm$ 2,07
2.	8	1,23 $\pm$ 0,68 ⁺⁺	1,32 $\pm$ 0,62 ⁺⁺⁺	16,75 $\pm$ 3,23 ⁺	12,00 $\pm$ 3,23 ⁺⁺	8,37 $\pm$ 2,23 ⁺⁺⁺
3.	7	1,08 $\pm$ 0,28 ⁺⁺⁺	0,97 $\pm$ 0,25 ⁺	16,86 $\pm$ 2,35 ⁺⁺⁺	12,28 $\pm$ 1,66 ⁺⁺⁺	7,64 $\pm$ 1,72 ⁺
4.	9	1,47 $\pm$ 0,62 ⁺⁺⁺	1,45 $\pm$ 0,70 ⁺⁺⁺	17,11 $\pm$ 2,57 ⁺⁺⁺	12,44 $\pm$ 2,03 ⁺⁺⁺	8,61 $\pm$ 1,89 ⁺⁺⁺

Štatistická významnosť: ⁺ $P < 0,05$ ⁺⁺ $P < 0,01$ ⁺⁺⁺ $P < 0,005$

II. Počet ovulácií, terciárnych folikulov a malých folikulov v prechodnej fáze u oviec po podaní PMSG v anestríckom období (priemerné hodnoty $\pm$ s. e. m.) — Number of ovulations, tertiary follicles and small follicles in the transient phase after PMSG administration during anoestrous average values $\pm$ s. e. m.)

Skupina	n	Počet ovulácií na jednu ovcu	Počet terciárnych folikulov na jednu ovcu	n	Počet malých folikulov v prechodnej fáze na jednu ovcu
1.	8	0,25 $\pm$ 0,43	9,25 $\pm$ 2,86	3	10 658,25 $\pm$ 3 568,13
2.	8	2,25 $\pm$ 0,97 ⁺⁺⁺	11,50 $\pm$ 7,87	3	9 440,50 $\pm$ 2 546,39
3.	7	2,86 $\pm$ 1,96 ⁺⁺⁺	14,00 $\pm$ 4,12	3	12 648,20 $\pm$ 4 328,11
4.	9	3,66 $\pm$ 1,78 ⁺⁺⁺	9,00 $\pm$ 1,53	3	13 286,50 $\pm$ 3 876,21

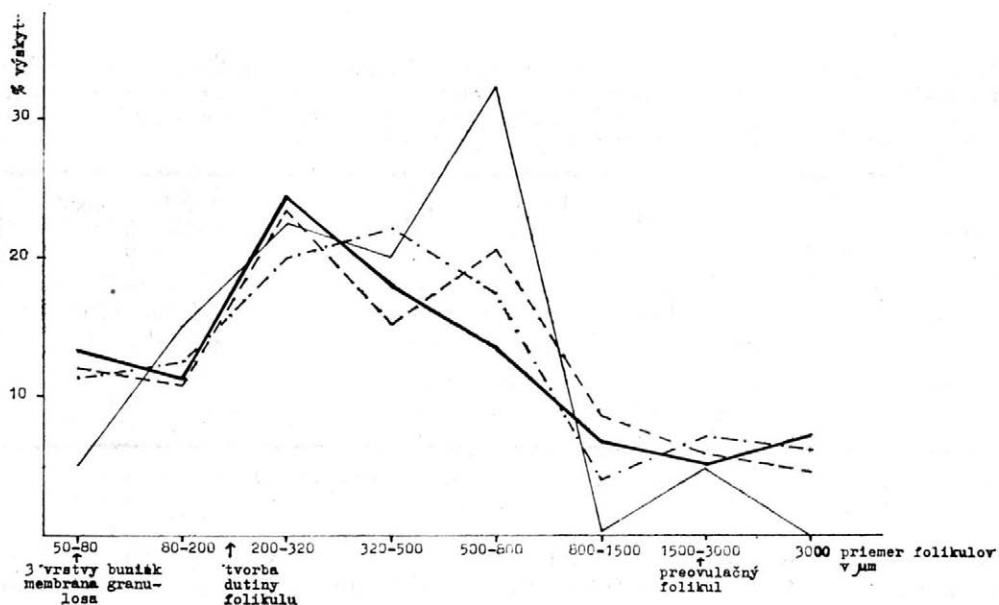
Štatistická významnosť: + $P < 0,05$ ++ $P < 0,01$ +++ $P < 0,005$

nej a definitívnej atrézie (tab. III). U pokusných oviec poklesol podiel neatretických terciárnych folikulov z celkového počtu na štvrtinu (po dávke 750 m. j. PMSG) až skoro na pätinu (po dávke 1500 m. j. PMSG). Atretické folikuly boli prevažne v štádiu definitívnej atrézie, s vysokým výskytom folikulov v neskoréj forme atrézie u druhej a tretej skupiny. V rámci definitívnej formy atrézie sme u druhej a štvrtej skupiny zaznamenali vysoký výskyt luteinizačnej atrézie (u 2. skupiny 10,2 %; u 4. skupiny 21,43 %). U oviec, ktorým sme podali dávku 1000 m. j. PMSG, sme výskyt tejto — z hľadiska ovulácie nepriaznivej — formy atrézie nezaznamenali.

Terciárne folikuly do jednotlivých veľkostných skupín sme podelili podľa Cahilla a Mauléona, ako uvádzajú Cahill a Dufour (1979) (obr. 1). Zatiaľ čo u kontrolných oviec najviac folikulov bolo zaradených do piatej veľkostnej triedy, u oviec po podaní PMSG ich bolo najviac v tretej veľkostnej triede (druhá a štvrtá skupina), resp. v štvrtej veľkostnej triede (tretia skupina). Zároveň sme u všetkých pokusných skupín zaznamenali vyššie percento výskytu preovulačných folikulov (9,5 až 12,4 %) ako u kontrolnej skupiny (5,0 %).

III. Pomerné zastúpenie neatretických a atretických terciárnych folikulov a diferenciácia atretických folikulov na jednotlivé štádiá atrézie u oviec po podaní PMSG v anestríckom období — Proportional representation of atretic and non atretic tertiary follicles and atretic follicle differentiation into individual atretic phases in sheep after PMSG administration during anoestrous

Skupina	Percento zastúpenia terciárnych folikulov		Percento zastúpenia typov atrézie terciárnych folikulov		
	neatretických	atretických	ranná atrézia	definitívna atrézia	neskorá atrézia
1.	35,13	64,87	45,83	49,99	4,17
2.	28,98	71,02	24,49	48,97	26,53
3.	23,21	76,79	34,88	44,18	20,93
4.	22,22	77,78	30,95	59,52	9,52



1. Zastúpenie terciárnych folikulov v jednotlivých veľkostných triedach v percentách
— Representation of tertiary follicles in individual size (dimension) classes in %

_____ 1. skupina
— — — 2. skupina

. — . — . 3. skupina
————— 4. skupina

DISKUSIA

Vplyv PMSG na početnosť ovulácie, zmeny folikulárneho aparátu vaječníkov a folikulárnu populáciu sledovali viacerí autori (Moor a i., 1973; Dott a i., 1979; Pivko, 1979; Hay a i., 1979; Gherard a Lindsay, 1980 a ďalší). Z celkových zmien na vaječníkoch oviec po podaní PMSG uvádzajú najmä zvýšenie ich hmotnosti, viacnásobné ovulácie a výskyt cystických folikulov (Polge a Rowson, 1973). Zvyšovanie počtu ovulácií po podaní exogénneho gonadotropínu popisujú Dott a i. (1979). Uvedení autori zároveň sledovali, akým spôsobom ovplyvňuje PMSG folikulárny aparát vaječníkov v smere vývoja a dozrievania dodatočných folikulov a ich ovuláciu. Na základe svojich pozorovaní vylúčili jednu z predpokladaných hypotéz o účinku PMSG, a to vyvolanie spätného priebehu atretických procesov nastúpených vo folikuloch.

Nami zistené hodnoty folikulárnej odpovede u oviec po podaní PMSG sa zhodujú so zisteniami autorov Gherardi a Lindsay (1980), ktorí uvádzajú u oviec nižšiu odpoveď na PMSG v anestrickom období ako v období pripúšťacom.

Prechod malých folikulov z ich pokojového stavu do rastovej fázy, t. j. začiatok folikulárneho rastu, je ovplyvňovaný počtom malých folikulov (Krärup a i., 1969) a je nezávislý od gonadotropínov (Peters a i., 1973). Land (1970) a Cahill a i. (1979) považujú populáciu malých folikulov za samostatnú homogénnu populáciu, pričom plemená oviec s nižším počtom ovulácií majú malých folikulov signifikantne viac. Ako uvádzajú Cahill a Mauléon (1981), počet malých folikulov v tzv. prechodnej fáze kolíše v rozpätí od 5500 do 15 000

v nepriamej závislosti od počtu ovulácií u rôznych plemien oviec. Nami zistené hodnoty počtu malých folikulov v prechodnej fáze naznačujú, že ovce plemena slovenské merino sú prevažne uprostred uvedeného rozpätia (priemerné hodnoty počtu malých folikulov sú 9440 až 13 286).

Zistené rozloženie veľkých, terciárnych folikulov do veľkostných tried potvrdzujú skutočnosť, ktorú zistili Marianna a Machado (1976), že PMSG znižuje veľkosť folikulov v období tvorby folikulárnej dutiny. Zároveň sme však u týchto skupín zistili zvýšený výskyt tzv. preovulačných folikulov, čo tiež potvrdzuje domnienku existencie mechanizmu, ktorým preovulačné folikuly signalizujú nadradeným orgánom stav svojho folikulárneho vývoja (Land, 1973), čím spätne dochádza k zabrzdeniu rastu folikulov vstupných do rastovej fázy. Signalizácia sa vykonáva pomocou inhibíciu podobnej látky prítomnej vo folikulárnej tekutine (Welschen a i., 1977), ktorá má negatívny spätnoväzobný účinok na uvoľňovanie FSH, ako aj zvýšením množstva estrogénov vo folikulárnej tekutine, ktoré majú negatívny spätnoväzobný účinok na uvoľňovanie LH (Cahill a i., 1979).

Na základe uvedených údajov predpokladáme, že podanie PMSG ovciam počas anestrického obdobia v porovnaní s kontrolnými ovcami zvyšuje — i cez výrazný stimulačný účinok na početnosť ovulácií — počet atretických folikulov v závislosti od dávky PMSG. Zároveň sme zistili vyšší výskyt neatretických folikulov väčších veľkostných tried, ktorý bol najvyšší po podaní PMSG v dávke 1000 m. j. Pri porovnaní s kontrolnými ovcami sme nezistili zmeny v populácii malých folikulov v prechodnej fáze v nepriamej závislosti od početnosti ovulácií.

Literatúra

- BRAND, A. — JONG, W. H. R. de: Qualitative and quantitative micromorphological investigations of the tertiary follicle during the oestrous cycle in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 33, 1973, s. 431-439.
- CAHILL, L. P. — DUFOUR, J.: Follicular populations in the ewe under different gonadotrophin levels. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 19, 1979, s. 1475-1481.
- CAHILL, L. P. — MAULÉON, P.: A study of the population of primordial and small follicles in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 61, 1981, s. 201-206.
- CAHILL, L. P. — MARIANA, J. C. — MAULÉON, P.: Total follicular populations in ewes of high and low ovulation rates. *J. Reprod. Fertil.*, 55, 1979, s. 27-36.
- DOTT, H. M. — HAY, M. F. — CRAN, D. G. — MOOR, R. M.: Effect of exogenous gonadotrophin (PMSG) on the antral follicle population in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 56, 1979, s. 683-689.
- GHERARDI, P. B. — LINDSAY, D. R.: The effect of season on the ovulatory response of Merino ewes to serum from pregnant mares. *J. Reprod. Fertil.*, 60, 1980, s. 425-429.
- HAY, M. F. — MOOR, R. M. — CRAN, D. G. — DOTT, H. M.: Regeneration of atretic ovarian follicles *in vitro*. *J. Reprod. Fertil.*, 55, 1979, s. 195-207.
- KRARUP, T. — PEDERSEN, T. — FABER, M.: Regulation of oocyte growth in the mouse. *Nature (London)*, 224, 1969, s. 187-188.
- LAND, R. B.: Number of oocytes present at birth in the ovaries of pure and Finnish Landrace cross Blackface and Welsh sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 21, 1970, s. 517-521.
- LAND, R. B.: The ovulation rate of Finn-Dorset sheep following unilateral ovariectomy and chlorpromazine treatment at different stages of oestrous cycle. *J. Reprod. Fertil.*, 33, 1973, s. 99-105.
- MARIANA, J. C. — MACHADO, J.: Étude de la formation de l'antrum dans les follicules de l'ovaire de Ratte et de Vache normales ou stimulées par PMSG. *Ann. Biol. anim. Biochim. Biophys.*, 16, 1976, s. 545-559.
- MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. anim. Sci.*, 27, 1968, s. 451-465.

MOOR, R. M. — HAY, M. F. — McINTOSH, J. E. A. — CLADWELL, B. V.: Effect of gonadotrophins on the production of steroids by sheep ovarian follicles cultured *in vitro*. J. Endocrin., 58, 1973, s. 599-611.

PETERS, H. — BYSKOV, A. G. — LINTERN — MOORE, A. — FABER, M. — ANDERSEN, M.: The effect of gonadotrophin of follicle growth initiation in the neo-natal mouse ovary. J. Reprod. Fertil., 35, 1973, s. 139-141.

PIVKO, J.: Vplyv gonadotropínov (PMSG, HCG) na histologický obraz a histochemické procesy v pohlavných orgánoch jalovic. Ved. Práce Výsk. Úst. živoč. Výr. Nitra, XVII, 1979, s. 63-71.

POLGE, C. — ROWSON, L. E. A.: Recent progress in techniques for increasing reproductive potential in farm animals. Proc. 3rd Wld Conf. anim. Prod., 3, 1973, s. 633-643.

WELSCHEN, R. — HERMANS, W. P. — DULLAART, J. — JONG, F. H. de: Effects of an inhibin like factor present in bovine and porcine follicular fluid on gonadotrophin levels in ovariectomized rats. J. Reprod. Fertil., 50, 1977, s. 129-131.

Došlo dňa 9. 1. 1989

ТОКОШ, М. — АРЕНДАРЧИК, Й. — ЛАУРИНЧИК, Й. (Институт ветеринарии, Кошице): Изменения фолликулярного аппарата и популяции третичных фолликулов у овец после введения PMSG в период анестра. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11): 659-664.

Мы прослеживали за общими количественными изменениями яичников, за соотношением между неатретическими и атретическими фолликулами и изменениями популяции третичных фолликулов у овец после дачи дифференцированных доз PMSG в период анестра. У подопытных групп биометрическим методом установили значимый рост первичного веса, объема и размеров яичников в сравн. с контролем. Среднее число третичных фолликулов выше у подопытных групп, как и число атретических фолликулов (64 % от контроля; 71—77 % у подопытных). Группа, получившая дозу 1500 м. ед. PMSG, обладала высокой долей лутеинизированных фолликулов (до 21 % от численности атрет. фолликул). Общее же количество мелких фолликулов в переходной фазе незначимо менялся в сравн. и с подопытными, и с контрольной группами. В подопытных обнаружили повышенный процент доовулированных фолликулов и уменьшение третичных фолликулов в период образования фолликулярной полости.

PMSG; период анестра; яичники; третичные фолликулы; овцы

TOKOŠ, M. — ARENDARČIK, J. — LAURINČIK, J. (Veterinary University, Košice): Changes of Follicular Apparatus and Tertiary Follicle Populations in Sheep after PMSG Administration during the Period of Anoestrous. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11): 659-664.

The total quantitative changes of ovaries, proportion of atretic and non atretic follicles and changes of tertiary follicles in sheep after administration of increasing doses of PMSG during the anoestrous period were observed. In experimental groups the statistically significant increase of average weight, volume and dimensions of ovaries in comparison with control group were determined biometrically. The average number of tertiary follicles was greater in experimental groups but at the same time we observed a higher proportion of atretic follicles (64 % of the total number in the control group; 71—77 % in the experimental groups). In the group of sheep administered a dose of 1500 m. u. PMSG we determined a high proportion of luteinized follicles (as much as 21 % of the total number of atretic follicles). The total number of small follicles in the so called transient phase in the comparison of experimental and control groups was not changed significantly. In the experimental group an increased incidence of preovulatory follicles and a reduction of tertiary follicle dimensions in the period of follicle cavity formation was determined.

PMSG; anoestrous period; ovaries; tertiary follicles; sheep

Adresa autorov:

MVDr. Marian T o k o š, ul. Kvetná 19, 040 15 Košice - Šaca

Prof. MVDr. J o z e f A r e n d a r č i k, DrSc., MVDr. J o z e f L a u r i n č i k, Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

INTERAKČNÉ VZŤAHY MEDI, ŽELEZA, ZINKU, ARZÉNU, KADMIA A OLOVA V PEČENI OVIEC PO EXPERIMENTÁLNEJ INTOXIKÁCIÍ OXIDOM MEĎNATÝM

J. Bíreš

BÍREŠ, J. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Interakčné vzťahy medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova v pečeni oviec po experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 665-674.

V pečeni 12 bahníc plemena zošľachtená valaška sme študovali interakčné vzťahy medzi meďou, železom, zinkom, arzénom, kadmium a olovom po experimentálnej vyvolanej intoxikácii oxidom meďnatým z priemyselnej emisie. Najvyšší korelačný koeficient sme zistili medzi koncentráciou medi a zinku v pečeni pokusných oviec ($r = 0,916$) a jeho hodnota bola na hladine významnosti ($p < 0,05$). Interakčný vzťah medi a arzenu v pečeni experimentálnych zvierat zodpovedal korelačnému koeficientu $r = 0,359$; medi a železa $r = 0,158$; medi a kadmia $r = 0,129$. Najnižšiu hodnotu korelačného koeficientu sme zaznamenali v pečeni pokusnej skupiny medzi meďou a olovom ($r = 0,073$). Zo vzájomných vzťahov medzi ostatnými prvkami bol najvyšší korelačný koeficient ($r = 0,667$) medzi obsahom zinku a kadmia v pečeni pokusných bahníc. Interakciu medi a ostatných rizikových kovov po experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým limitovala koncentrácia sledovaných prvkov v priemyselnej emisii, ako i samotný vývoj choroby.

intoxikácia meďou; interakčné vzťahy; bahnica; pečeň

Ľudská civilizácia a ju sprevádzajúci rozvoj priemyslu a poľnohospodárstva mali vplyv na postupné preskupenie mnohých toxických kovov zo zemskej kôry do životného prostredia. V potravinovom reťazci sa tak zvýšila koncentrácia nielen rizikových, ale aj esenciálnych prvkov. Štúdiom ich metabolizmu a toxicity boli odhalené významné interakcie. Vo všeobecnosti platí, že deficiencie niektorých esenciálnych prvkov zvyšujú toxicitu ťažkých kovov, zatiaľ čo ich nadbytok sa do určitej koncentrácie môže prejavovať protekčným účinkom (C o w d h u r y a C h a n d r a, 1987).

Potenciálne nebezpečenstvo pre zvieratá, prípadne i ľudskú populáciu pri priemyselných centrách na spracovanie a výrobu medi predstavuje okrem medi tiež zinok, arzén, kadmium a olovo. Zinok pritom môže znižovať kumuláciu medi v pečeni (Bíreš, 1986), ale prítomnosť arzenu, kadmia a olova v exhaláte priebeh intoxikácie meďou zhoršuje. Z toho vyplýva, že pri otravách meďou je v biologickom materiáli potrebné sledovať tak esenciálne, ako aj rizikové kovy.

Zmyslom práce bolo posúdiť interakčné vzťahy medi, železa, kadmia, zinku, arzenu a olova v pečeni oviec uhynutých na experimentálne vyvolanú intoxikáciu oxidom meďnatým v priemyselnej emisii zo závodu na výrobu medi.

MATERIÁL A METÓDA

Experimenty prebehli počas rokov 1986/1987 na klinike Katedry vnútorných chorôb prežuvavcov a ošípaných u 12 bahníc plemena zošľachtená valaška vo veku 1,5 roka.

Pokusné zvieratá (sedem kusov) dostávali denne perorálnym naliatím 2,65 g exhalátu zo závodu na výrobu medi a 0,5 l vody. Denný príjem ťažkých kovov z priemyselnej emisie podľa východzej živovej hmotnosti udáva tab. I.

I. Príjem ťažkých kovov [mg] z exhalátu na kus a deň — Intake of heavy metals [mg] from the industrial emission per head and day

Živá hmotnosť [kg]	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
43,75 ± 6,56	437,5	384,2	105,2	29,15	0,041	1,62

Podávanie exhalátu trvalo až po úhyn zvierata. Priemerná dĺžka prežívania pokusných bahníc v experimente bola 77 dní (Vrzgula a i., 1988). Kontrolnú skupinu tvorilo päť bahníc s počiatočnou živou hmotnosťou 43,6 ± 0,02 kg. Zvieratá tejto skupiny sme odporazili v 90. dni experimentu.

Kŕmenie a ošetrovanie zvierat pokusnej a kontrolnej skupiny bolo rovnaké. Denný príjem sledovaných prvkov z krmiva u oboch skupín uvádza tab. II, celkový príjem ťažkých kovov z exhalátu a krmiva u pokusných bahníc je zaznamenaný v tab. III.

Vzorky pečenej tkaniva o hmotnosti 15 až 20 g sme získali od všetkých zvierat pri pitve z pravého pečenej laloku.

Sledované ťažké kovy sme stanovili atómovou absorpčnou spektrofotometriou na prístroji Perkin Elmer 306. Príprava vzoriek pečene spočívala v sušení, mineralizácii mokrou cestou a spaľovaní. Obsah medi, železa a zinku sme stanovili plameňovou technikou, obsah arzenu, kadmia a olova za použitia grafitovej kyvety HGA 500. Získané výsledky sa udávajú v mg . kg⁻¹ sušiny.

Výsledky sa potom spracovali metódou stredných hodnôt s udaním smerodajnej odchýlky, testovania významnosti rozdielov a stanovenia korelačných koeficientov (Roth a i., 1962).

II. Príjem medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova [mg] v diéte na kus a deň — Intake of copper, iron, zinc, arsenic, cadmium and lead [mg] in diet per head and day

Denná spotreba	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
Lúčne seno (1,50 kg)	9,37	750,00	0,87	4,45	0,0430	0,420
KZ BAK (0,20 kg)	17,50	118,78	4,38	1,15	0,0072	0,093
Pitná voda (5 l)	2,43	0,954	1,22	stopy	stopy	stopy
Spolu	29,30	869,73	6,47	5,60	0,0500	0,510

III. Celkový príjem medi, železa, zinku, arzenu, kadmia a olova [mg] na pokusné zviera a deň — Total intake of copper, iron, zinc, arsenic, cadmium and lead [mg] per head and day

Zdroj príjmu	Cu	Fe	Zn	As	Cd	Pb
Krmivo	29,3	869,73	6,47	5,60	0,050	0,51
Exhalát	437,5	384,20	105,20	29,15	0,041	1,62
Spolu	466,8	1253,93	111,67	34,75	0,091	2,13

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Koncentráciu medi, železa, zinku, arzénu, kadmia a olova v pečeni oviec po experimentálne vyvolanej intoxikácii oxidom meďnatým z priemyselnej emisie udávajú V r z g u l a a i. (1988).

Hodnoty korelačných koeficientov týchto prvkov v pečeni oviec sú zahrnuté v tab. IV a V.

Najvyšší korelačný koeficient sa zistil medzi meďou a zinkom v pečeni pokusných oviec ($r = 0,916$) a jeho hodnota ležala na hranici významnosti ($p < 0,05$).

Pravdepodobnosť interakcií medi a zinku v látkovom metabolizme vyplýva z ich lability, ale aj zo schopnosti tvoriť väzby oveľa väčšie ako medzi inými živinami. Tieto vzájomné vzťahy sa zakladajú na fyzikálno-chemickej analógii zinku a medi, na ich schopnosti tvoriť komplexy a na väčšej alebo menšej príbuznosti s príslušnými aktívnymi zoskupeniami biopolymérov (B í r e š, 1987). Vzájomný metabolizmus týchto prvkov v tenkom čreve a pečeni je podmienený ich väzbou na metallothioneín — bielkovinovú frakciu s molekulovou hmotnosťou 8 až 75 tisíc daltonov s vysokým obsahom cysteínu a afinitou k medi, zinku, kadmii a ortuti (Heilmairer a i., 1987). Bremner a i. (1976) potvrdili priaznivý vplyv vysokých dávok zinku v krmive na vývoj chronickej otravy meďou u oviec. Koncentrácia medi v pečeni sa prebytkom zinku znížila až o 40 %. Diétna suplementácia zinku však pri dlhodobom nad-

IV. Hodnoty korelačných koeficientov (r) v pečeni pokusných oviec — Values of correlation coefficients (r) in the livers of the experimental ewes

	Cu	Fe	Zn	Cd	As	Pb
Cu		+0,158	+0,916 ^b	+0,129	+0,359	+0,073
Fe	+0,158		+0,264	+0,356	-0,106	+0,241
Zn	+0,916 ^b	+0,264		+0,667	+0,450	+0,321
Cd	+0,129	+0,356	+0,667		+0,175	+0,312
As	+0,359	-0,106	+0,450	+0,175		-0,426
Pb	+0,073	+0,241	+0,321	+0,312	-0,426	

$b = p < 0,05$

V. Hodnoty korelačných koeficientov (r) v pečeni kontrolných oviec — Values of correlation coefficients (r) in the livers of the control ewes

	Cu	Fe	Zn	Cd	As	Pb
Cu		+0,069	-0,227	+0,647	-0,568	-0,237
Fe	+0,069		+0,372	-0,214	+0,457	-0,103
Zn	-0,227	+0,372		-0,593	+0,005	+0,415
Cd	+0,647	-0,214	-0,593		-0,691	+0,218
As	-0,568	+0,457	+0,005	-0,691		-0,540
Pb	-0,237	-0,103	+0,415	+0,218	-0,540	

bytočnom príjme medi úplne neeliminovala jej hepatotoxický vplyv na ultraštruktúry pečňových buniek a na aktivitu plazmatických enzýmov. Bíreš (1986) zaznamenal v biologickom materiáli oviec chovaných v oblasti závodu na výrobu medi s vysokým diétnym príjmom medi a zinku len toxické hladiny medi. Pritom množstvo zinku sa pohybovalo na hornej hranici referenčných hodnôt. Olson a i. (1984) pri kŕmení oviec krmivom s 257,0 mg medi na kilogram v sušine evidovali v 60. dni od začiatku skrmovania v pečeni obsah medi v sušine 1546 mg . kg⁻¹ a zinku 111,8 mg . kg⁻¹. Naopak Allen a i. (1983) u oviec po experimentálnej vyvolanej intoxikácii zinkom zaznamenali v pečeni a obličkách obsah medi zhodne iba 54 mg . kg⁻¹ sušiny. Mahmoud a i. (1983) pozorovali u oviec s klinickými prejavmi deficiencie zinku vzostup pečňovej a sérovej medi (315 mg . kg⁻¹ v sušine, resp. 23,2 μmol . l⁻¹), zatiaľ čo koncentrácia zinku sa pohybovala pod minimálnou referenčnou hranicou. Schee a i. (1983) študovali vzájomný metabolizmus medi a zinku v závislosti od plemennej príslušnosti. Antagonistický vzťah zinku na kumuláciu medi v pečeni oviec s nadbytočným diétnym príjmom medi sa potvrdil u zvierat plemena texel a ich krížencov s frízskymi mliekovými ovcami, ale u čistého frízkeho plemena pokles medi v pečeni autori nezaznamenali. Rosa a i. (1986) dokázali u oviec, ktoré dostávali zinok v množstve 1000 mg . kg⁻¹ v sušine krmiva, podstatne redukovať obsah medi iba v pečeni zvierat s nízkym diétnym príjmom tohto prvku, zatiaľ čo u skupiny s množstvom medi 40 mg . kg⁻¹ v sušine krmiva sa jeho pokles v pečeni nepozoroval.

Interakčné vzťahy medi a zinku u oviec s diétnym príjmom 466 8 mg medi a 111,67 mg zinku na kus a deň sa prejavili jednak na vývoji chronickej intoxikácie vyvolanej experimentálne oxidom meďnatým v priemyselnom exhaláte, jednak na kumulácii obidvoch prvkov v pečeni. Dôkazom vzájomného vzťahu medi a zinku v pečeni experimentálnych bahníč bola vysoká hodnota korelačného koeficientu ($r = 0,916$). Interakcia týchto dvoch prvkov v pečeni kontrolných bahníč zodpovedá korelačnému koeficientu $r = -0,227$.

Interakčný vzťah medi a arzenu v pečeni pokusných oviec zodpovedal korelačnému koeficientu $r = 0,359$ a v pečeni kontrolných zvierat $r = -0,568$.

Doterajšie poznatky limitujú predpovedať vzájomné ovplyvňovanie medi a arzenu. Tatcher a i. (1985) pri toxikóze arzénom zistili v pečeni obsah arzenu 13,9 mg . kg⁻¹ a medi 14,3 mg . kg⁻¹ čerstvého tkaniva, pritom významný korelačný koeficient medzi dvoma prvkami neevidovali. Ako udáva Underwood (1977), chemická forma arzenu ako i jeho špecifickosť v biologických funkciách vylučuje predpokladať významné interakčné vzťahy s ťažkými kovmi, okrem selénu.

V našom prípade sa u experimentálnych zvierat, ktoré mali vysoký diétny príjem medi a arzenu, zistil korelačný koeficient medzi koncentráciou týchto prvkov v pečeni ($r = 0,359$). U kontrolných zvierat ich množstvu v krmive zodpovedala hodnota korelačného vzťahu v pečeni ($r = -0,568$).

Interakčný vzťah medi a železa v pečeni pokusných oviec je vyjadrený hodnotou korelačného koeficientu 0,158 a v pečeni kontrolných zvierat 0,069.

Interakcia medi a železa prebieha v procese absorpcie, využitia

a intermediárneho metabolizmu. Karencia medi zvyšuje ukladanie železa v pečeni (Kirchgessner a i., 1982). Diétny príjem železa 250 až 800 mg . kg⁻¹ v sušine inhibuje u prežúvavcov kumuláciu medi v pečeni a redukuje koncentráciu tohto prvku v krvi, tiež redukuje aktivitu ceruloplazminu a erytrocytarnej superoxid dismutázy (Humphries a i., 1983). Keen a i. (1985) zaznamenali u experimentálnych zvierat trpiacich nedostatkom medi vzostup obsahu železa v pečeni, ale u zvierat s diétnym príjmom medi 5 mg . kg⁻¹ v sušine sa vzrast koncentrácie železa nepozoroval. Rosa a i. (1986) zistili u oviec kŕmených 56 dní množstvom medi 40 mg . kg⁻¹ v sušine a neadekvátnym množstvom železa redukcii kumulácie železa v pečeni. U skupiny zvierat s prídavkom železa 1000 mg . kg⁻¹ v sušine sa antagonistický vplyv medi na obsah železa v pečeni nepotvrdil.

Za našich podmienok sa príjem 466,8 mg medi a 1253,93 mg železa na kus a deň výrazne neprejavil na vzájomnom ukladaní medi a železa v pečeni. Nízku hodnotu korelačného koeficientu týchto prvkov u pokusných zvierat ($r = 0,158$) pravdepodobne ovplyvnila prítomnosť ostatných ťažkých kovov v emisii zo závodu na výrobu medi.

Vzájomný vzťah medi a kadmia v pečeni pokusných oviec predstavoval korelačný koeficient $r = 0,129$ a v pečeni kontrolných zvierat $r = 0,647$.

Interakcia medi a kadmia je daná úlohou obidvoch prvkov pri syntéze metallothioneínu (Heilmayer a i., 1987). Baraňski (1987) dokázal prídavkom kadmia v pitnej vode v množstve 60 až 180 mg . kg⁻¹ u samíc krýs počas 20 dní gravidity znížiť oproti kontrole obsah medi v pečeni nielen matiek, ale i mláďat. Chmielnicka a i. (1985) zistili v pečeni experimentálnych zvierat ošetrovaných subkutánne sedemkrát kadmiovou dávkou 0,3 mg . kg⁻¹ živej hmotnosti obsah medi $4,7 \pm 0,4$ mg . kg⁻¹ v sušine a u kontrolných $5,9 \pm 0,4$ mg . kg⁻¹. Chowdhury a Chandra (1987) udávajú u oviec počas gravidity s adekvátnym príjmom medi a s množstvom kadmia 3,5 až 12,0 mg . kg⁻¹ v sušine krmiva pokles obsahu medi v pečeni bahníc i mláďat. Lamphere a i. (1984) pozorovali v pečeni teliat, ktoré počas 60 dní dostávali krmivo s množstvom kadmia 50 mg . kg⁻¹ v sušine, obsah medi v čerstvom tkanive $7,7 \pm 2,4$ mg . kg⁻¹ a u teliat bez prídavku kadmia $15,0 \pm 6,2$ mg . kg⁻¹.

V našom experimente príjem medi z exhalátu nevyvolal u pokusných oviec preukazný rozdiel koncentrácie kadmia v pečeni oproti kontrolnej skupine. Príjem 466,8 mg medi na pokusnú bahnicu a deň zodpovedal korelačnému vzťahu medi a kadmia v pečeni $r = 0,129$ a príjem 29,3 mg medi na kontrolnú bahnicu a deň $r = 0,647$, čo pravdepodobne ovplyvnila prítomnosť zinku (Lamphere a i., 1984; Chmielnicka a i., 1985).

Najnižšia hodnota korelačného koeficientu u pokusných zvierat v pečeni sa zistila medzi koncentráciou medi a olova ($r = 0,073$). Vzťah týchto prvkov v pečeni kontrolných bahníc bol determinovaný korelačným koeficientom $r = -0,237$.

Vzájomný vzťah medi a olova je známy v súvislosti s úlohou medi pri intoxikácii olovom (Chowdhury a Chandra, 1987). Ako uvádzajú Kirchgessner a i. (1982), pri interakciách medi a olova treba posudzovať postavenie zinku, železa a kadmia. Fick a i. (1976)

zaznamenali v pečeni jahniat, ktoré v priebehu 84 dní dostávali krmivo s obsahom olova $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine, množstvo medi $543 \pm 183,26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a u zvierat s diétnym príjmom olova $1000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine množstvo medi $282 \pm 94,02 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wentink a i. (1985) udávajú v pečeni 18-mesačných teliat, ktoré dostávali dlhodobu siláž s koncentráciou olova 19 až $113 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine a medi 4 až $25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, obsah olova $2,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a medi $16 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine.

Na základe množstva medi a olova v exhaláte zo závodu na výrobu medi sa u pokusných oviec predpokladal antagonistický vplyv medi na ukladanie olova v pečeni. Výška korelačného koeficientu medzi hladinou týchto prvkov v pečeni experimentálnej skupiny ($r = 0,073$), ale i preukazný rozdiel množstva olova v pečeni pokusných bahníc oproti kontrole, poukazujú na zložitosť interakcií medi a olova po aplikácii priemyselnej emisie.

Zo vzájomných vzťahov medzi ostatnými ťažkými kovmi vyplynul korelačný koeficient $r = 0,667$ medzi obsahom zinku a kadmia v pečeni pokusných zvierat a korelačný koeficient $r = -0,593$ u kontroly.

Nadbytočný príjem kadmia zvyšuje produkciu metallothioneínu, ale súčasne klesá naviazanosť zinku naň. Elinder a i. (1987) udávajú u zvierat s nízkym príjmom kadmia 70 až 90% naviazanie zinku na metallothioneín, zatiaľ čo u skupiny s príznakmi intoxikácie kadmium bol obsah zinku v metallothioneíne 15%. Skrmovanie 600 mg zinku v sušine krmiva na kilogram živej hmotnosti teliat počas 60 dní signifikantne redukovalo množstvo kadmia v pečeni, kôre obličiek a v krvi (Lamphere a i., 1984). Na základe týchto skutočností autori predpokladajú potenciálnu možnosť využitia solí zinku za účelom zníženia koncentrácie kadmia v tele zvierat s jeho vysokým príjmom. Chmielnická a i. (1985) zistili u pokusných zvierat injekčne ošetrovaných kadmium dávkou $0,3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. sedemkrát v priebehu 14 dní vzostup obsahu zinku v pečeni a pokles vo svalstve a kostiach. Baraňský (1987) evidoval v pečeni laboratórnych zvierat kŕmených počas 20 dní kadmium v množstve $60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine krmiva obsah zinku $76,7 \pm 9,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. a u zvierat s príjmom kadmia $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ to bolo zinku $83,4 \pm 13,4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

V našom experimente sa príjem zinku a kadmia u pokusných zvierat pohyboval v optimálnom rozpätí, čo sa odrazilo na hodnote korelačného koeficientu ($r = 0,667$). Hodnotu korelačného koeficientu medzi obsahom týchto prvkov v pečeni kontrolnej skupiny pravdepodobne ovplyvnila karenčná hladina zinku v kŕmnej dávke.

Vzájomný vzťah zinku a arzenu v pečeni pokusných bahníc bol determinovaný korelačným koeficientom $r = 0,450$. Interakčné vzťahy medzi týmito prvkami prebiehajú na základe kompetitívnej inhibície na dôležitých väzbových miestach v sliznici čreva a pečeni (Lutton a i., 1984). Nadbytočný obsah zinku v krmive znižuje absorpciu a metabolickú aktivitu arzenu v organizme (Chowdhury a Chandra, 1987). Na základe denného príjmu zinku a arzenu u pokusných bahníc ($111,67 \text{ mg}$, resp. $34,75 \text{ mg}$ na kus) možno očakávať antagonistickú prevahu arzenu, čo sa potvrdilo signifikantne vyššou koncentráciou arzenu v pečeni oproti kontrole ($p < 0,01$). Diétny príjem zinku a arzenu u kontrolnej skupiny ($6,47 \text{ mg}$, resp. $5,6 \text{ mg}$ na kus a deň) sa neprejavil na preukaznej vzájomnej interakcii v pečeni.

Metabolická vzájomnosť zinku a olova v pečeni pokusných oviec bola zaznamenaná korelačným vzťahom $r = 0,321$ a v pečeni kontroly $r = 0,415$.

U zvierat trpiacich karenciou zinku sa zvyšuje resorpcia olova, ako aj jeho vplyv na syntézu hému a na nervový systém (Chowdhury a Chandra, 1987). Bratton a i. (1985) zistili v pečeni teliat, ktoré dostávali olovo perorálne v dávke $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. počas siedmich dní, obsah olova $89,62 \pm 17,78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a zinku $104,46 \pm 8,50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine. Doyle a Younger (1984) zaznamenali v pečeni zvierat po skrmovaní krmiva s obsahom olova $6,25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. množstvo zinku $136,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine a u skupiny s príjmom olova $7,81 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. zinku $124,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Wentink a i. (1985) udávajú v pečeni teliat uhynutých na intoxikáciu zinkom obsah zinku $1140 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ v sušine a olova $2,9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

V našom prípade obsah zinku a olova v krmive a exhaláte neprekračoval doporučenú dávku pre ovce, čo sa potvrdilo nízkou hodnotou korelačného koeficientu ($r = 0,321$). Výška korelačného koeficientu u kontrolnej skupiny súvisela s deficitným príjmom zinku.

Z ostatných vzťahov medzi ťažkými kovmi v pečeni sa potvrdila u pokusných zvierat interakcia kadmia a olova ($r = 0,312$) a arzénu a olova ($r = -0,426$) a u kontroly interakcia kadmia a olova ($r = -0,691$), arzénu a olova ($r = -0,540$).

Z uvedeného prehľadu vyplýva zložitost interakčných vzťahov pri kumulatívnej intoxikácii oviec oxidom meďnatým z priemyselnej emisie medzi meďou a ostatnými ťažkými kovmi, ale i ťažkými kovmi navzájom.

Sileo a Beyer (1985) doporučujú u zvierat žijúcich v Pensylvánii pri závode na výrobu medi a zinku stanoviť v pečeni obsah medi, zinku, olova a kadmia. V Chile Parada a i. (1987) zistili v pečeni uhynutého hovädzieho dobytku v oblasti priemyselného centra na spracovanie medi najvyššiu závislosť pri medi, zinku, olove a kadmiu. Koh a Judson (1986) potvrdili v pečeni oviec, ktoré spásali porasty pri závode na výrobu olova, interakčné vzťahy medzi olovom, kadmim, zinkom a meďou. V Nórsku Froslie a i. (1985) doporučili na základe obsahu pevných exhalátov ťažkých kovov v ovzduší sledovať v pečeni jahniat meď, zinok, arzén, selén, molybdén, kadmium, ortuť a olovo. Bagatto a Alikhan (1987) zaznamenali v biologickom materiáli pri priemyselnom aglomeráte na spracovanie medi a niklu korelačné vzťahy okrem týchto prvkov aj medzi zinkom, železom, mangánom a magnéziom. V Poľsku Sawicka — Kapusta a i. (1986) predpokladajú v priemyselne exponovaných oblastiach determinovať v biologickom materiáli hlavne kadmium, olovo, meď, zinok a železo.

V experimente po skrmovaní emisie zo závodu na výrobu medi, v ktorom dominoval oxid meďnatý, sa v pečeni zistil najvyšší korelačný vzťah medzi meďou a zinkom ($0,916$, $p < 0,05$). Hodnoty korelačných koeficientov medzi meďou a ostatnými ťažkými kovmi v pečeni neboli štatisticky významné. Korelačný koeficient medzi meďou a kadmim, zinkom a arzénom v pečeni pokusných oviec ($0,667$, resp. $0,450$) a meďou a kadmim, kadmim a arzénom, meďou a arzénom u kontrolnej skupiny ($0,647$, resp. $-0,691$, resp. $-0,568$) poukazuje taktiež na možnosť metabolických interakcií ťažkých kovov u oviec pri kumulatívnej intoxikácii z exhalátu zo závodu na výrobu medi. Interakcia medi

a ostatných ťažkých kovov po experimentálnej intoxikácii oxidom meďnatým bola pravdepodobne limitovaná tak koncentráciou sledovaných prvkov v priemyselnej emisii, ako i vývojom choroby.

Literatúra

- ALLEN, J. G. — MASTERS, H. G. — PEET, R. L. — MULLINS, K. R. — LEWIS, R. D. — SKIRROW, S. Z. — FRY, J.: Zinc toxicity in ruminants. *J. comp. Path.*, 93, 1983, s. 363-377.
- BAGATTO, G. — ALIKHAN, M. A.: Zn, Fe, Mn and Mg accumulation in crayfish populations near Cu-Ni smelter at Sudbury, Ontario, Canada. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 38, 1987, s. 1076-1081.
- BARAŇSKI, B.: Effect of Cd on prenatal development and on tissue Cd, Cu and Zn concentrations in rats. *Envir. Res.*, 42, 1987, s. 54-62.
- BÍREŠ, J.: Interakcia Cu a Zn u oviec v oblasti závodu na výrobu medi. In: Zbor. V. seminára mladých veterinárnych lekárov. VŠV Košice, 1986, s. 39-40.
- BÍREŠ, J.: Interakčné vzťahy medi a zinku u oviec parenterálne ošetrovaných oxidom zinočnatým. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 2, s. 105-111.
- BRATTON, G. R. — ZMUDZKI, S. — RICHARDSON, E.: Lead concentrations in fresh frozen and formalin fixed tissues from lead poisoned calves: guidelines for diagnosis. *Veter. hum. Toxicol.*, 27, 1985, č. 1, s. 7-10.
- BREMNER, I. — YOUNG, B. W. — MILLS, C. F.: Protective effect of zinc supplementation against copper toxicosis in sheep. *Brit. J. Nutr.*, 36, 1976, s. 551-561.
- DOYLE, J. J. — YOUNGER, R. L.: Influence of ingested Pb on the distribution of Pb, Fe, Zn, Cu and Mn in bovine tissues. *Veter. hum. Toxicol.*, 26, 1984, č. 3, s. 201-204.
- ELINDER, C. G. — NORBERG, M. — PALM, B. — BJÖRK, L. — JÖNSSON, L.: Cd, Zn and Cu in rabbit kidney metallothionein-relation to kidney toxicity. *Envir. Res.*, 42, 1987, s. 553-562.
- FICK, K. R. — AMMERMAN, S. M. — SIMPSON, C. F. — LOGGINS, P. E.: Effect of dietary Pb on performance, tissue mineral composition and Pb absorption in sheep. *J. anim. Sci.*, 42, 1976, č. 2, s. 515-523.
- FROSLIE, A. — NORHEIM, G. — RAMBAEK, J. P. — STEINNERS, E.: Heavy metals in lamb liver: contribution from atmospheric fallout. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 34, 1985, s. 175-182.
- HEILMAIER, H. E. — DRASCH, G. A. — KRETSCHMER, E. — SUMMER, K. H.: Metallothionein, Cd, Cu and Zn levels of human and rat tissues. *Toxicol. Lett.*, 38, 1987, s. 205-211.
- HUMPHRIES, W. R. — PHILLIPPO, M. — YOUNG, B. W. — BREMNER, I.: The influence of dietary Fe and Mo on Cu metabolism in calves. *Brit. J. Nutr.*, 49, 1983, s. 49-77.
- CHMIELNICKA, J. — BEM, E. M. — BRZEŹNICKA, E. A. — KASPEREK, M.: The tissue disposition of Zn and Cu following repeated administration of Cd and Se to rats. *Envir. Res.*, 37, 1985, s. 419-424.
- CHOWDHURY, B. A. — CHANDRA, R. K.: Biological and health implications of toxic heavy metal and essential trace element interactions. *Progr. Fd Nutr. Sci.*, 11, 1987, s. 55-113.
- KEEN, C. L. — REINSTEIN, N. H. — GOUDEY-LEFEVRE, J. — LEFEVRE, M. — LÖNNERDAL, B. — SCHNEEMAN, B. O. — HURLEY, L. S.: Effect of dietary Cu and Zn levels on tissue Cu, Zn and Fe in male rats. *Biol. Trace Element Res.*, 8, 1985, s. 123-136.
- KIRCHGESSNER, M. — SCHWARZ, F. J. — SCHNEGG, A.: Interactions of essential in human physiology. Clinical, biochemical and nutritional aspects of trace elements. New York, Alan R. Liss, Inc., 1982, s. 477-512.
- KOH, T. S. — JUDSON, G. J.: Trace elements in sheep grazing near a lead — zinc smelting complex at Pore Pirie, South Australia. *Bull. envir. Contam. Toxicol.*, 37, 1986, s. 87-95.
- LAMPHERE, D. N. — DORN, C. R. — REDDY, CH. S. — MEYER, A. W.: Reduced Cd body burden in Cd-exposed calves fed supplemental Zn. *Envir. Res.*, 33, 1984, s. 119-129.
- LUTTON, S. D. — IBRAHAM, N. G. — FRIEDLAND, M. — LEVERE, R. D.: The toxic effects of heavy metals on rat bone marrow in vitro erythropoiesis- protective role of hemin and zinc. *Envir. Res.*, 35, 1984, s. 97-103.

- MAHMOUD, O. M. — SAMANI, F. E. — BEKHEIT, A. O. — HASSAN, M. A.: Zinc deficiency in Sudanese desert sheep. *J. comp. Path.*, 93, 1983, s. 591-595.
- OLSON, K. J. — FONTENOT, J. P. — FAILLA, M. L.: Influence of Mo and S supplementation and withdrawal of diets containing high copper broiler litter on tissue copper levels in ewes. *J. anim. Sci.*, 59, 1984, č. 1, s. 210-216.
- PARADA, R. — GONZALES, S. — BERQUIST, E.: Industrial pollution with copper and other heavy metals in a beef cattle ranch. *Veter. hum. Toxicol.*, 29, 1987, č. 2, s. 122-126.
- ROSA, I. V. — AMMERMAN, C. B. — HENRY, P. R.: Interrelationships of dietary Cu, Zn and Fe on performance and tissue mineral concentration in sheep. *Nutr. Rep. Int.*, 34, 1986, č. 5, s. 893-902.
- ROTH, Z. — JOSIFKO, M. — MALÝ, V. — TRČKA, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, Státní zdravot. nakl. 1962, č. 173-175.
- SAWICKA-KAPUSTA, K. — KOZŁOWSKI, J. — SOKOŁOWSKA, T.: Heavy metals in tits from polluted forests in southern Poland. *Envir. Poll.*, 42, 1986, s. 297-310.
- SCHEE, W. — ASSEM, G. H. — BERG, R.: Breed differences in sheep with respect to the interaction between Zn and the accumulation of Cu in the liver. *Veter. Quart.*, 5, 1983, č. 4, s. 171-174.
- SILEO, L. — BEYER, W. N.: Heavy metals in white-tailed deer living near a zinc smelter in Pennsylvania. *J. Wildl. Dis.*, 21, 1985 č. 3, s. 289-296.
- THATCHER, C. D. — MELDRUM, S. B. — WIKSE, S. E. — WHITTIER, W. D.: Arsenic toxicosis and suspected chromium toxicosis in a herd of cattle. *J. amer. veter. med. Assoc.*, 187, 1985, s. 179-181.
- UNDERWOOD, J. E.: Trace elements in human and animal nutrition. New York, San Francisco, London, Academic Press 1977. 545 s.
- VRZGULA, L. — BÍREŠ, J. — HOJEROVÁ, A. — VRZGULOVÁ, N.: Obsah těžkých kovů v pečeni oviec po experimentálne vyvolanej intoxikácii oxidom meďnatým z priemyselnej emisie. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 297-306.
- WENTINK, G. H. — SPIERENBURG, T. J. — GRAAF, G. J. — EXSEL, A. C. A.: A case of chronic zinc poisoning in calves fed with zinc-contaminated roughage. *Veter. Quart.*, 7, 1985, č. 2, s. 153-157.

Došlo dňa 25. 11. 1988

БИРЕШ, Й. (Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): **Отношения взаимодействия меди, железа, цинка, арсена, кадмия и свинца в печени овец после экспериментальной интоксикации окисью меди.** *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11): 665-674.

В печени 12 овцематок породы улучшенная валашка изучали отношения взаимодействия между медью, железом, цинком, арсеном, кадмием и свинцом после экспериментальным путем вызванной интоксикацией окисью меди из промышленного спада. Самый высокий коэффициент корреляции установили между концентрацией меди и цинка в печени опытных овец ($r = 0,916$) и его значение было на уровне значимости ($p < 0,05$). Отношение взаимодействия между медью и арсеном в печени экспериментальных животных отвечало корреляционному коэффициенту $r = 0,359$; меди и железа ($r = 0,158$); меди и кадмия $r = 0,129$. Самое низкое значение коэффициента корреляции установили в печени контрольной группы между медью и свинцом ($r = 0,073$). Из взаимоотношений между остальными элементами самый высокий коэффициент корреляции ($r = 0,667$) был между содержанием цинка и кадмия в печени опытных овцематок. Взаимодействие меди и остальных металлов риска после экспериментальной интоксикации окисью меди ограничивала концентрация изучаемых элементов в промышленном спаде, как и самостоятельное развитие болезни.

интоксикация медью; отношения взаимодействия; овцематка; печень

BÍREŠ, J. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): **Interactions between Copper, Iron, Zinc, Arsenic, Cadmium and Lead in the Liver of Sheep after Experimental Intoxication with Cupric Oxide.** *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11): 665-674.

The interactions between copper, iron, zinc, arsenic, cadmium and lead were studied in the livers of 12 ewes of the Improved Wallachian breed after experimentally induced intoxication with cuprous oxide from industrial emission. The highest cor-

relation coefficient was recorded between the concentrations of copper and zinc in the livers of the experimental ewes ($r = 0.916$) and its value was at a significance level of $p < 0.05$. The interaction between copper and arsenic in the liver of the experimental animals corresponded to a correlation coefficient of $r = 0.359$ and that between copper and cadmium corresponded to $r = 0.129$. The lowest correlation coefficient in the livers of the experimental animals was recorded between copper and lead ($r = 0.073$). As to the relationships between the remaining elements, the highest correlation coefficient ($r = 0.667$) was obtained between the contents of zinc and cadmium in the livers of the experimental ewes. The interaction of copper with the other risky metals after experimental intoxication was limited by the concentration of the studied elements in the industrial emission as well as by the course of the disease itself.

copper intoxication; interactions; ewe; liver

BÍREŠ, J. (Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice): *Wechselbeziehungen zwischen Kupfer, Eisen, Zink, Arsen, Kadmium und Blei in der Leber von Schafen nach experimenteller Intoxikation durch Kupferoxid*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 665-674.

In Lebern von 12 Mutterschafen der Rasse Veredeltes Walachisches Schaf studierten wir die Wechselbeziehungen zwischen Kupfer, Eisen, Zink, Arsen, Kadmium und Blei nach experimenteller Intoxikation durch Kupferoxid aus Industrieemissionen. Den höchsten Korrelationskoeffizienten stellten wir zwischen der Kupfer- und der Zinkkonzentration in der Leber der Versuchsschafe fest ($r = 0.916$) und sein Wert lag an der Signifikanzschwelle ($p < 0.05$). Die Wechselbeziehung zwischen Kupfer und Arsen in der Leber der experimentellen Tiere entsprach dem Korrelationskoeffizienten $r = 0.359$; zwischen Kupfer und Eisen $r = 0.158$; zwischen Kupfer und Kadmium $r = 0.129$. Den niedrigsten Wert des Korrelationskoeffizienten verzeichneten wir in Lebern der Versuchsgruppe zwischen Kupfer und Blei ($r = 0.073$). Unter den Wechselbeziehungen zwischen den weiteren Elementen wurden der höchste Korrelationskoeffizient ($r = 0.667$) zwischen dem Zink- und Kadmiumgehalt in der Leber der Versuchsschafe festgestellt. Die Wechselbeziehung von Kupfer und den übrigen Risikometallen nach der experimentellen Kupferoxidintoxikation limitierte sowohl die Konzentration der verfolgten Elemente in den Industrieemissionen als auch der eigentliche Verlauf der Erkrankung.

Kupferintoxikation; Wechselbeziehungen; Mutterschafe; Leber

Adresa autora:

MVDr. Jozef Bíreš, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

KARYOMETRICKÉ ROZDÍLNOSTI V TKÁNI LYMFODINÁLNÍCH ORGÁNŮ PŘI MARKOVĚ NEMOCI A LYMFODINÁLNÍ LEUKÓZE DRŮBEŽE

P. Neuhybel, A. Fintajsl, R. Rychlá

NEUHYBEL, P. — FINTAJSL, A. — RYCHLÁ, R. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Karyometrické rozdílnosti v tkáni lymfoidních orgánů při Markově nemoci a lymfoidní leukóze drůbeže*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 675-680. Histologické preparáty z Fabriciovy burzy a thymu kuřat nosného hybrida HX-SL byly vyšetřeny karyometricky analyzátozem obrazu Microvideomat 1. Kuřata byla rozdělena po deseti do tří skupin (zdravá, infikovaná virem Markovy nemoci a infikovaná virem aviární leukózy). Byly měřeny plochy a obvody jader a spočten formfaktor. Pro každý soubor byly spočteny základní statistické parametry a následně byly rozlišeny uvedené tři skupiny pomocí lineární diskriminační analýzy. V našem souboru se jako nejlépe diskriminující ukázala kombinace parametrů burza—dřeň—plocha (BDP), thymus—dřeň—plocha (TDP) a thymus—kůra—obvod (TKO).

karyometrie; Markova nemoc; lymfoidní leukóza drůbeže; Fabriciova burza; thymus; diskriminační analýza

Přestože studium Markovy nemoci (MN) a lymfoidní leukózy drůbeže (LL) je již po několik let v popředí zájmu aviární medicíny, ekonomický a zdravotně hygienický význam těchto onemocnění přetrvává (K o ŝ u š n í k, 1987). Výzkum se orientoval zejména do oblasti imunologie, imunoprafylaxe a molekulární genetiky, zatímco podrobnějších morfologických prací zabývajících se změnami buněčného složení v lymfoidních orgánech je poměrně málo. V našem experimentu jsme se pokusili o bližší morfometrickou charakteristiku změn probíhajících ve Fabriciově burze a thymu u kura domácího po indukci virem Markovy nemoci a virem komplexu aviárních leukóz na základě karyometrických studií. Metodicky jsme částečně vycházeli z některých prací z humánní medicíny analogicky řešících problematiku diferenciální diagnostiky lymfomů u lidí (H a r o s k e aj., 1981, 1984; H a r o s k e a K u n z e, 1983; T o s i aj., 1983).

MATERIÁL A METODA

V naší studii jsme použili tří skupin jednodenních kuřat nosného hybrida HX-SL, která byla chována a krmena za stejných podmínek. Deseti kuřatům první kontrolní skupiny nebylo podáno žádné inokulum a byla pitvána ve věku 14 týdnů. Druhou skupinu tvořilo deset kuřat, která byla v prvním dnu po vylíhnutí infikována terénním izolátem. Izolát jsme získali z rozmnožovacího nosného chovu postiženého

akutní formou MN ve věku 20 týdnů. Každému kuřeti bylo *i. m.* aplikováno 0,2 ml homogenátu kůže do stehenní svaloviny z mediální strany. Pitvána byla ve stejném věku jako kuřata první skupiny. Třetí skupinu tvořilo opět deset kuřat. Ta byla jako jednodenní infikována supernatantem z tkáňové kultury klonu LSCC-H32, která produkuje viry aviární leukózy podskupiny A a B. Jak uvádějí Kaaden *aj.* (1982), tyto viry indukují u inokulovaných kuřat lymfoidní leukózu do 22 týdnů po infekci. Každému kuřeti bylo podáno 0,5 ml supernatantu subkutánně. Ve druhém dnu jim bylo aplikováno *i. m.* 0,2 ml vakcíny proti MN Marvak, Bioveta, n. p., Nitra. Kuřata byla pitvána ve věku 24 až 34 týdnů.

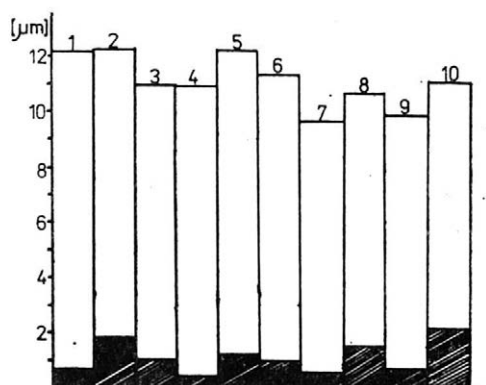
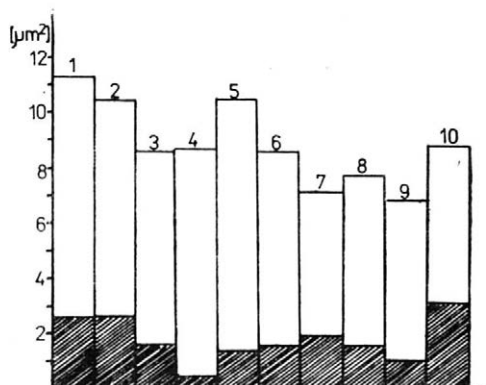
Po zabíjení exsanquinací byla všechna zvířata makroskopicky prohlédnuta, byly odebrány vzorky orgánů a tkání pro histopatologické vyšetření a fixovány v 10% formalínu. Po zalití do parafínu jsme zhotovili histologické řezy, které byly přehledně obarveny hematoxylinem eozinem. Ke karyometrickému vyšetření jsme použili preparát z Fabriciovy burzy a thymu. Histologické preparáty jsme promítli pomocí upraveného projekčního mikroskopu Pictoval při zvětšení 1:3820 (objektiv 100X ol. im., projektiv 20X) na listy papíru formátu A4, obrysy jader buněk jsme překreslili tužkou tak, aby se vzájemně nepřekrývaly, a posléze jsme je vybarvili popisovačem Fix. Užitečné pole mělo rozměry 200 X 150 mm. Počet polí jsme volili tak, aby jader bylo minimálně 50. Takto překreslené preparáty byly měřeny televizním analyzátořem Microvideomat 1 s makrozařazením. Tato alternativa se pro dané soubory preparátů připravených běžnou histologickou technikou ukázala jako značně přesnější a vhodnější i za cenu zvýšené pracnosti. Měřili jsme plochy a obvody jader. Výsledky jsme přepočítali na skutečné hodnoty a spočítali jsme formfaktor $[(4\pi \times \text{plocha}) \times \text{obvod}^{-2}]$. Dále pak jsme pro každý soubor spočítali základní statistické parametry a následně jsme se pokusili o rozlišení uvedených tří skupin (kontrolní, MN, LL) pomocí lineární diskriminační analýzy. K výpočtům byl použit počítač TNS-SC.

Infekci jsme dokázali sérologickým, makroskopickým, histologickým i elektron-mikroskopickým vyšetřením orgánů a tkání. Podrobné výsledky nejsou předmětem tohoto sdělení, jsou však shrnuty v dřívější práci (Neuhýbel, 1985).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Při interpretaci výsledků je nutné si uvědomit, že analyzátor obrazu Microvideomat 1 měří integrálně, tedy celé zorné pole najednou. Jde tedy o průměrné parametry daného preparátu, nikoli o individuální morfometrické hodnocení buněčných jader. Námi zjištěné plochy jader lymfocytů jsme orientačně srovnávali s hodnotami, které uveřejnil Hodges (1974). Tento autor uvádí průměrné plochy jader lymfocytů periferní krve $33,5 \mu\text{m}^2$ ($10,3 - 88,6 \mu\text{m}^2$). Námi naměřené hodnoty u neinfikovaných kuřat jsou nižší a pohybují se kolem $10 \mu\text{m}^2$. My jsme však měřili plochy jader ve tkáních a pro tyto údaje jsme nenalezli srovnání. Hodges (1974) uvádí pouze lineární rozměry celých lymfocytů ve Fabriciově burze v kůře i dřeni ($4 - 8 \mu\text{m}$) a v kůře thymu ($3,5 \mu\text{m}$) a k těmto hodnotám se naše měření přibližují. Podrobnější karyometrické studie po infekci virem MN a LL jsme v literatuře nenašli.

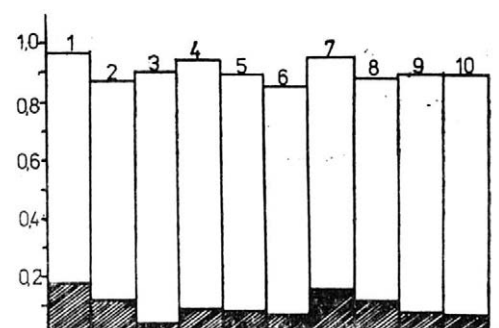
Naměřené průměrné hodnoty ploch, obvodů a formfaktorů i se směrodatnou odchylkou (nižší sloupec) jsou uvedeny na obr. 1—3. Významný statistický rozdíl u některých parametrů byl prokázán *t*-testem. Např. byl zjištěn rozdíl v plochách jader v dřeni burzy zdravých kuřat a kuřat infikovaných leukózou. Zajímavé je, že u leukózních jedinců byla jádra lymfocytů menší. Dále bylo zjištěno, že ve dřeni thymu zdravých kuřat jsou jádra menší než ve dřeni jejich burzy. Rovněž statisticky významný rozdíl velikosti byl zjištěn u jader zdravých zvířat v kůře thymu proti dřeni thymu a stejně tak proti dřeni burzy. V budoucnu bude vhodné prozkoumat rozdíly v parametrech jednotlivých jader, což nebylo se součas-



1. Aritmetické průměry naměřených hodnot ploch jader a jejich směrodatné odchylky (vyšrafované) — Means of the measured values of the perimeter of nuclear surface area and their standard deviation (hatched)

2. Aritmetické průměry naměřených hodnot obvodů jader a jejich směrodatné odchylky (vyšrafované) — Means of the measured values of perimeter of the nuclei and their standard deviation (hatched)

3. Aritmetické průměry naměřených hodnot formfaktorů a jejich směrodatné odchylky (vyšrafované) — Means of the measured values of form factors and their standard deviation (hatched)



Obr. 1—3 1 — burza dřev normální
2 — burza dřev MN
3 — burza dřev LL
4 — thymus dřev normální
5 — thymus dřev MN
6 — thymus dřev LL
7 — thymus kůra normální
8 — thymus kůra MN
9 — thymus kůra LL
10 — lymfom v játrech MN

ným přístrojovým vybavením možné. Rozdílnosti v obvodech byly mezi téměř stejnými parametry, jako tomu bylo u ploch. Statisticky významná je větší členitost jader ve dřevu thymu u kusů s LL než u kusů zdravých.

Jak je patrné, z uvedených parametrů nebylo možné jednoznačně odlišit uvedené tři skupiny, a proto jsme přistoupili k lineární diskriminační analýze. Lineární diskriminační analýza je klasifikační statistická metoda pracující s více proměnnými současně. Umožňuje rozlišení skupin i v případě, kdy např. *t*-test selhává (Baak a Oort, 1983; Kubánková a Hendl, 1986). Klasifikační procedura se skládá ze dvou fází: 1. učební, 2. testovací.

Učební soubor (v našem případě tři skupiny — zdravá, MN, LL) ukáže rozlišitelnost do jednotlivých skupin a jeho výsledkem jsou koeficienty diskriminačních funkcí. Dosazením hodnot neznámého případu do diskriminačních funkcí získáme představu o jeho zařazení do některé ze skupin v druhé fázi. Protože cílem naší práce bylo zjistit odlišitelnost tří skupin v morfometrických parametrech, realizovali jsme pouze první fázi.

I. Ukázka výsledků lineární diskriminační analýzy (učební soubor) pro tři proměnné (burza—dřeň—plocha, thymus—dřeň—plocha a thymus—kůra—obvod) a tři skupiny (zdravá, Markova nemoc, lymfoidní leukóza) — Example of the results of linear discrimination analysis (textbook sample) for three variables (bursa—medulla—surface area; thymus—medulla—surface area and thymus—cortex—perimeter) and three groups (healthy, Marek's disease, lymphoid leucosis)

	Zvíře číslo	Pravděpodobnost zařazení do skupiny	Skupina, do které byl případ zařazen
Skupina č. 1 zdravá	1	0,64899	1
	2	0,58759	1
	3	0,50904	1
	4	0,61036	1
	5	0,70950	1
	6	0,90262	1
	7	0,86907	1
	8	0,65121	1
	9	0,58560	1
Skupina č. 2 Markova nemoc	1	0,99950	2
	2	0,97676	2
	3	0,85913	1
	4	0,96533	2
	5	0,74110	2
	6	0,99976	2
	7	0,39637	2
Skupina č. 3 lymfoidní leukóza	1	0,76783	3
	2	0,89483	3
	3	0,94445	3
	4	0,51833	3
	5	0,36785	1
	6	0,86760	3
	7	0,87562	1
	8	0,78520	3
	9	0,90672	3
	10	0,79640	3

Výsledky lineární diskriminační analýzy naznačují, že naše sledované tři skupiny jsou rozlišitelné na základě karyometrických parametrů v burze a thymu (tab. I). V našem souboru se jako nejlépe diskriminující ukázala kombinace parametrů burza—dřeň—plocha, thymus—dřeň—plocha a thymus—kůra—obvod.

I když se výsledky práce zdají být velmi nadějné, je nutné upozornit, že jde o předběžnou studii na menším souboru. Bude vhodné prověřit vliv vakcinace na buňky lymfoidních orgánů.

Literatura

- BAAK, J. — OORT, J.: A manual of morphometry in diagnostic pathology. Berlin, Springer-Verlag 1983. 205 s.
- HAROSKE, G. — KUNZE, K. D.: Automatische Mikroskopbildanalyse. Med. aktuell, 5, 1983, s. 211-220.
- HAROSKE, G. — KEMMER, C. — VOSS, K.: Image processing in pathology. Exp. Path., 19, 1981, s. 67-80.
- HAROSKE, G. — EHLERS, V. — EHLERS, H. M. — KUNZE, K. D.: Cytomorphometric characterization of NHL (non-Hodgkin's lymphomas) of low and high grade malignancy. Arch. Geschwülstforsch., 54, 1984, č. 1, s. 41-51.
- HODGES, R. D.: The histology of the fowl. 1. vyd. New York, Academic Press 1974. 648 s.
- KAADEN, O. R. — LANGE, S. — STIBUREK, B.: Establishment and characterization of chicken embryo fibroblast clone LSCC-H32. In vitro, 18, 1982, s. 827-834.
- KOŽUŠNÍK, Z.: Zhodnocení zdravotní situace u drůbeže v ČR v roce 1986. Veterinářství, 37, 1987, s. 353-354.
- KUBÁNKOVÁ, V. — HENDL, J.: Statistika pro zdravotníky. Praha, Avicenum 1986. 278 s.
- NEUHYBEL, P.: Morfologická diferenciace Markovy nemoci a lymfoidní leukózy drůbeže. [Kandidátská disertace.] Brno 1985. 147 s. — Vysoká škola veterinární.
- TOSI, P. — CINTORINO, M. — LUZI, P. — LEONCINI, L. — SPINA, D.: A morphometric semiautomated method for analyzing cell nuclei in lymph node section from non-Hodgkin's lymphomas. Exp. Path. 24, 1983, s. 237-241.

Došlo dne 9. 1. 1989

НОЙХИБЕЛ, П. — ФИНТАЙСЛ, А. — РЫХЛА, Р. (Институт ветеринарии, Брно): Кариометрические различия в ткани лимфоидных органов во время болезни Марека и лимфоидного лейкоза птицы. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 675-680.

Гистологические препараты из сумки Фабриция и зобной железы цыплят ноского ные статистические параметры, а группы различали с помощью линейного анализа тора картины Микровидеомат I. Цыплят разделили на 3 группы по 10 гол. (здоровые, зараженные вирусом болезни Марека и вирусом птичьего лейкоза). Измеряли площадь и периферии ядер, выводили формфактор. Для каждой группы выводили основные статистические параметры, а группы различали с помощью линейного анализа дискриминаций. Наиболее дискриминирующей оказалась комбинация параметров сумка—костный мозг—площадь; зобная железа—костный мозг—площадь; зобная железа—кора—периферия.

кариометрия; болезнь Марека; лимфоидный лейкоз птицы; сумка Фабриция; зобная железа; анализ дискриминаций

NEUHYBEL, P. — FINTAJSL, A. — RYCHLÁ, R. (Veterinary University, Brno): Caryometric Differences in Tissue of Lymphoid Organs during Marek's Disease and Lymphoid Leucosis in Poultry. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 675-680.

Histological preparations from the bursa of Fabricius and the thymus of chickens of egg layer HX-SL were examined caryometrically by the picture analyser Microvideomat 1. The chickens were allocated in tens to 3 groups (healthy, infected with Marek's disease virus and infected with avian leucosis virus). The surface areas and perimeters of the nuclei were measured and the form factor calculated. The basic statistical parameters for each sample were calculated and consequently the three previously mentioned groups were distinguished by means of linear discrimination analysis. The combinations of parameters bursa—medulla—area (BMA), thymus—medulla—area (TMA) and thymus—cortex—perimeter (TCP) were shown to be the best discriminating in our set.

caryometry; Marek's disease; poultry lymphoid leucosis; bursa of Fabricius; thymus; discrimination analysis

NEUHYBEL, P. — FINTAJSL, A. — RYCHLÁ, R. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Karyometrische Unterschiede in Geweben lymphoider Organe bei der Marekschen Krankheit und der lymphoiden Geflügelleukose*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 675-680.

Histologische Präparate aus Bursa Fabricii und aus dem Thymus von Küken des Legehybriden HX-SL wurden karyometrisch mit Hilfe des Bildanalysators Microvideomat 1 untersucht. Die Küken waren zu jeweils zehn Stück in drei Gruppen eingeteilt (gesunde Küken, mit dem Virus der Marekschen Krankheit und mit dem Virus der aviären Leukose infizierte Küken). Es wurden die Flächen und Umfänge der Lebern gemessen und der Formfaktor errechnet. Für jede Kollektion wurden die statistischen Grundparameter berechnet und anschließend daran wurden die drei angeführten Gruppen mit Hilfe linearer Diskriminationsanalyse auseinandergehalten. In unserem Versuchsmaterial erwies sich als am besten diskriminierend die Kombination der Parameter bursa—Mark—Fläche (BDP), Thymus—Mark—Fläche (TDP) und Thymus—Rinde—Umfang (TKO).

Karyometrie; Mareksche Krankheit; lymphoide Geflügelleukose; bursa Fabricii; Thymus; Diskriminationsanalyse

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Petr Neuhybel, CSc., RNDr. Aleš Fintajsl, MVDr. Romana Rychlá, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

VYUŽITIE VOĽNÉHO A V BIELKOVINÁCH VIAZANÉHO LYZÍNU U PREPELICE JAPONSKEJ

M. Otto, M. Šnejdárková

OTTO, M. — ŠNEJDÁRKOVÁ, M. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice, pracovisko Ivanka pri Dunaji): *Využitie voľného a v bielkovinách viazaného lyzínu u prepelice japonskej*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 681-688.

Využitie lyzínu pre proteosyntézu je ovplyvnená stráviteľnosťou lyzínu viazaného v bielkovinách, jeho intestinálnou absorpciou, ako aj procesmi oxidatívneho katabolizmu. Prístup zvolený v tejto práci umožňuje porovnávať súmárny vplyv týchto dielčích procesov na utilizáciu voľného a v bielkovinách viazaného lyzínu. Princíp postupu spočíva v kvantifikácii vydýchaného ^{14}C -značeného oxidu uhličitého po perorálnom podaní diéty, ktorá obsahuje L-(U- ^{14}C)-lyzín buď vo voľnej forme, alebo viazaný na kvasničné bielkoviny. V adaptačnej fáze dostali kohútici prepelice japonskej diétu na báze pšeničného šrotu a pšeničného gluténu. Táto diéta bola doplnená buď kvasničnou bielkovinou, alebo zmesou L-aminokyselín, ktorá simuluje zloženie kvasničnej bielkoviny. V deň pokusu sa sledovalo vydýchanie značeného oxidu uhličitého po dávkovaní príslušných značených diét počas 240 minút u zvierat v postprandiálnej fáze alebo v stave mierneho hladovania. Maximum vydýchaného značeného oxidu uhličitého sa vyskytlo u obidvoch diét okolo 60. minúty po dávkovaní. Kumulatívna hodnota vydýchaného $^{14}\text{CO}_2$ (percento z dávky) pre voľný lyzín je priemerne 15,5 % a pre lyzín viazaný v zmesi kvasničných bielkovín 14,3 %. Využitie obidvoch foriem lyzínu je u prepelice japonskej nižšie ako u kurčiat mäsového typu.

syntetické aminokyseliny; suplementácia krmív; prepelica japonská

Doplnenie krmív syntetickými aminokyselinami za účelom optimalizácie aminokyselinového spektra nastolilo otázku, či sa syntetické aminokyseliny v živočíšnom organizme využívajú v rovnakej miere ako aminokyseliny viazané na bielkoviny krmiva. Z literatúry sú známe práce, v ktorých sa popisuje neúplné využitie syntetického lyzínu u brojlerov (Liebert a Gebhardt, 1980), u potkana (Bolton a Miller, 1985) a v závislosti od krmného režimu aj u ošípaných (Batterham a Murison, 1981; Batterham, 1984). Podľa týchto autorov príčinou tohoto javu je rýchlejšia intestinálna absorpcia syntetického lyzínu v porovnaní s kovalentne viazanými aminokyselinami, čo vedie k dočasnej imbalancii aminokyselín v tkanivách a v jej dôsledku k zvýšenému katabolizmu lyzínu. Rozsiahlu štúdiu o využití esenciálnych syntetických aminokyselín u potkanov v závislosti od podielu a druhu aminokyselín v diéte publikovali Heger a Frydrych

(1985). Využitie syntetického lyzínu, ktoré bolo najvyššie pri jeho suboptimálnom podiele v diéte, neprekročilo 82 %. Iní autori popisujú znížené využitie lyzínu viazaného v rôznych bielkovinách (Cave a Williams, 1980; Leibholz, 1986) vzhľadom na syntetický lyzín. Pripisujú to neúplnej stráviteľnosti týchto bielkovín v gastrointestinálnom trakte (GIT) v porovnaní so 100-percentnou absorpciou voľného lyzínu.

Táto zjavná diskrepancia úzko súvisí s metodickým prístupom, ktorý bol zvolený vo väčšine prác. Prvá skupina autorov predpokladá úplné využitie kovalentne viazaného lyzínu. Efekt syntetického lyzínu na retenciu dusíka alebo lyzínu je potom vzťahovaný na využitie kovalentne viazaného lyzínu. Druhá skupina autorov kladie dôraz na dynamiku lyzínu v gastrointestinálnom trakte a pripisuje menší význam intermediárnemu metabolizmu lyzínu. Všetkým prácam je spoločné, že ide o relatívne stanovenie využitia tej alebo onej formy dietárneho lyzínu. V tejto práci zvolený prístup stanovenia využitia lyzínu u prepelice japonskej je založený na meraní vydychavania značeného oxidu uhličitého po perorálnej aplikácii príslušných značených diét. Tento prístup berie do úvahy súčasné činitele gastrointestinálneho traktu, ako aj intermediárneho metabolizmu. a umožňuje absolútne stanovenie využitia oboch foriem lyzínu (Otto a i., 1989).

MATERIÁL A METÓDY

1. Zvieratá: v pokuse sa použili kohútici prepelice japonskej (*Coturnix coturnix japonica*) vo veku 1 až 30 dní po vyliahnutí.

2. Diéty: zloženie základnej diéty (g.kg⁻¹ sušiny) — pšeničný šrot 783, pšeničný glutén 162, minerálny premix MKP 2 25, doplnok biofaktorov DB 1 15, slnečnicový olej 15, L-treonín 0,5, L-lyzín 1,0. Táto základná diéta obsahuje 23,7 % N X X 6,25 a lyzínu 6,8 g.kg⁻¹. Pokusné diéty boli pripravené podľa údajov v tab. I.

3. Príprava kvasničných bielkovín: kvasničné bielkoviny boli izolované z pивných kvasníc (*Saccharomyces carlbergensis*) (podľa modifikácie postupu, ktorý použili Wutzke a i., 1984). Suspenzia kvasníc bola počas 60 minút vystavená pôsobeniu ultrazvuku a potrepaná sklenenými guľôčkami. Po extrakcii bielkovín pri pH 12 boli kvasnice odstredené (30 000 g X min). Bielkoviny boli zo supernatantu vyzrážané kyselinou trichlóroctovou. Nukleové kyseliny boli z tejto preparácie odstránené pomocou horúcej kyseliny trichlóroctovej. Bielkoviny sa postupne premývali etylalkoholom, dietyléterom až do neutrálnej reakcie.

I. Zloženie pokusných diét — Composition of experimental diets

Zložky diét	Diéta		
	I	II	III
Základná diéta	1000 g	1000 g	1000 g
Kvasničná bielkovina (57 mg Lys/g)	74 g	—	—
Zmes aminokyselín (69 mg Lys/g)	—	61 g	—
L-lyzín	—	—	4,2 g
Obsah lyzínu (%)	1,1	1,1	1,1

4. Príprava zmesi aminokyselín: táto zmes L-aminokyselín simuluje zloženie kvasničnej bielkoviny izolovanej podľa hore uvedeného postupu. Obsah esenciálnych aminokyselín ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ zmesi): treonín 49, serín 52, valín 61, metionín 18, izoleucín 49, leucín 73, tyrozín 43, fenylalanín 43, lyzín 69.

5. Príprava kvasničných bielkovín, ktoré sú špecificky rádioaktívne značené len v lyzíne: špecifické značenie kvasničných bielkovín sa docielilo aeróbnou inkubáciou kvasníc v kultivačnom médiu v prítomnosti L-(U- ^{14}C)-lyzínu (ÚVVVR Praha) (nepublikované). Rádiochemická čistota kvasničnej bielkoviny špecificky značená izotopom, stanovená na automatickom analyzátore aminokyselín T 339 (Mikrotechna — Praha), po kyslej hydrolýze bola 93 %.

6. Kŕmny režim: zvieratá boli od 1. do 18. dňa po vyliahnutí odchované na diéte III v dvoch hromadných klietkach. Od 19. do 29. dňa bolo 12 zvierat kŕmených *ad libitum* pokusnou diétou (I) a 12 zvierat kontrolnou diétou (II). V tomto období (19.—29. deň) sa sledoval prírastok hmotnosti a orientačne aj spotreba krmiva. Svetelný režim bol 24 : 0 hodín.

7. Hlavný pokus: v deň hlavného pokusu (29. a 30. deň po vyliahnutí) bolo zvieratám o 05.00 hodine ráno odobraté krmivo. O dve hodiny neskôr šesť zvierat z pokusnej skupiny (diéta I) a šesť zvierat z kontrolnej skupiny boli dávkované príslušnou ^{14}C -značenou diétou sondou do hrvoľa. Zvieratá po dávkovaní boli umiestnené do individuálnych metabolických klietok, v ktorých mali prístup k neznáčenému krmivu a k vode. Odčerpaný vzduch z metabolických komôr sa prečerpával cez absorpčný roztok (etanolamín : etanol v pomere 1 : 4, v/v). Pri danej rýchlosti čerpadla ($1 \text{ dm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$) bola absorpcia oxidu uhličitého prakticky kvantitatívne stanovená.

V čase od 0 do 240 minút po dávkovaní bola stanovená rádioaktivita v absorpčnom roztoku pomocou scintilačnej techniky na prístroji PACKARD TRICARB 460 C. O 11.30 hodine bol tento postup opakovaný so zvieratami, ktoré v čase od 05.00 do 11.30 hodín nemali prístup ku krmivu.

8. Príprava značených diét: príslušné diéty (I a II) boli jemne zomleté a suspendované vo vode (1 : 1, w/w). K suspenzii diéty I sa pridali kvasničné bielkoviny ^{14}C -značené v ich obsahu lyzínu tak, aby rádiochemická koncentrácia činila $37 \text{ kBq} \cdot \text{g}^{-1}$ suspenzie. K suspenzii diéty II sa pridal L-(U- ^{14}C)-lyzín v príslušnej aktivite. Vzhľadom na vysokú špecifickú rádioaktivitu v oboch preparátoch sa koncentrácia lyzínu iba nepatrne zvýšila.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Zámerom tejto práce je porovnanie využitia syntetického a v bielkovinách viazaného dietárneho lyzínu na základe vydýchaného množstva značeného oxidu uhličitého, po aplikácii príslušných značených diét. Inkubáciou kvasníc v ukladacom médiu za postupného pridávania uniformne značeného lyzínu sa podarilo pripraviť zmesnú bielkovinu, v ktorej je jej obsah lyzínu špecificky značený. Adaptácia zvierat na príslušné diéty prebehla v čase od 19. do 29. dňa po vyliahnutí. Príprava neznačenej zmesi kvasničných bielkovín, ktorá je potrebná k príprave diéty I, je pomerne náročná. Výťažok bielkovín z 10 kg suspenzie činí cca 40 až 60 g. Z tohto dôvodu mohla adaptačná fáza trvať iba desať dní. Priemerná hmotnosť zvierat sa zvýšila z $52,7 \pm 2 \text{ g}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$, $n = 24$) v 19. deň po vyliahnutí na $72,8 \pm 5,0 \text{ g}$ (diéta I) a na $76,6 \pm 5,4 \text{ g}$ (diéta II) na konci adaptačnej fázy. Rozdiel v hmotnosti medzi zvieratmi, ktoré boli kŕmené diétami I a II, nie je na báze *t*-testu podľa Studenta štatisticky významný. Orientálne sledovanie spotreby krmiva ukazuje, že mierne zvýšená hmotnosť zvierat kŕmených diétou II je spojená so zvýšenou spotrebou krmiva. Výpočet konverzie krmiva by si vyžadoval vyšší počet zvierat v skupinách.

II. Závislosť vydýchania $^{14}\text{CO}_2$ (percento z dávky) od času, diéty a stavu nakrmenia ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$) — Dependence of exhaled $^{14}\text{CO}_2$ (percentage of labelled dose) on time, diets and level of satiation ($\bar{x} \pm \text{SEM}$, $n = 6$)

Stav krmenia	Diéta	Čas — minút								Suma 240 minút
		30	60	90	120	150	180	210	240	
Postprandiálna fáza	I	1,11 $\pm$ 0,18	2,86 $\pm$ 0,75	2,62 $\pm$ 0,49	1,95 $\pm$ 0,41	1,32 $\pm$ 0,33	0,80 $\pm$ 0,21	0,45 $\pm$ 0,14	0,42 $\pm$ 0,17	11,53
Postprandiálna fáza	II	1,27 $\pm$ 0,15	4,44 $\pm$ 1,06	3,68 $\pm$ 0,55	2,27 $\pm$ 0,26	1,18 $\pm$ 0,28	0,87 $\pm$ 0,25	0,23 $\pm$ 0,11	0,24 $\pm$ 0,15	14,18
Mierne hladovanie	I	1,23 $\pm$ 0,29	3,81 $\pm$ 0,92	3,43 $\pm$ 0,99	3,37 $\pm$ 0,67	2,22 $\pm$ 0,52	1,43 $\pm$ 0,31	0,93 $\pm$ 0,22	0,75 $\pm$ 0,28	17,17
Mierne hladovanie	II	1,90 $\pm$ 0,25	4,91 $\pm$ 0,47	3,56 $\pm$ 0,33	2,19 $\pm$ 0,11	1,59 $\pm$ 0,23	0,80 $\pm$ 0,11	0,79 $\pm$ 0,19	0,59 $\pm$ 0,22	16,33
Priemer	I	1,17 $\pm$ 0,23	3,30 $\pm$ 0,81	3,00 $\pm$ 0,73	2,66 $\pm$ 0,53	1,77 $\pm$ 0,41	1,12 $\pm$ 0,25	0,69 $\pm$ 0,18	0,59 $\pm$ 0,18	14,3
Priemer	II	1,59 $\pm$ 0,20	4,68 $\pm$ 0,78	3,62 $\pm$ 0,45	2,23 $\pm$ 0,19	1,39 $\pm$ 0,24	0,84 $\pm$ 0,18	0,51 $\pm$ 0,15	0,42 $\pm$ 0,18	15,28

V deň hlavného pokusu bolo zvieratám aplikované $1,05 \pm 0,15$ g suspenzie príslušnej diéty sondou do hrvoľa. Dávkovanie podľa metabolickej hmotnosti zvierata nebolo technicky možné a nie je ani potrebné, nakoľko sa jedná o „tracer“ pokus. Ukázalo sa, že množstvo neznačeného krmiva konzumované v metabolickej komore značne prevyšuje množstvo krmiva aplikované sondou, ktoré bolo značené stopovým množstvom L- ^{14}C -lyzínu.

Výsledky sú vyjadrené v tab. II ako percentuálny podiel rádioaktivity vydýchanej vo forme oxidu uhličitého vzhľadom na podané množstvo rádioaktivity. Ako je zrejmé z detailného popisu hlavného pokusu, boli príslušné značené diéty aplikované zvieratám raz dve hodiny a raz 6,5 hodín po odstavení od krmiva. V prvom prípade sa zvieratá nachádzajú na konci postprandiálnej fázy a v druhom prípade v stave mierneho hladovania. Z tab. II je zrejmé, že bez ohľadu na podanú diétu a stav krmenia sa maximum vydýchaného oxidu uhličitého vyskytuje okolo 60. minúty. Po 240 minútach množstvo vydýchaného oxidu uhličitého kleslo na desatinu až pätinu maximálnej hodnoty. Pri porovnaní diét I a II sa ukazuje, že rozdiel vo vydýchanom množstve oxidu uhličitého nie je signifikantný, a to ani v postprandiálnej fáze ani v stave mierneho hladovania (t -test podľa Studenta).

Pri podrobnom skúmaní údajov je ovšem vidieť, že napriek nesignifikantnému rozdielu sa v časovom úseku 0 až 120 minút systematicky metabolizuje väčší podiel diéty II ako diéty I. Opačný vzťah možno

pozorovať v časovom úseku 120 až 240 minút. Súvisí to pravdepodobne s odlišnou dynamikou lyzínu obidvoch diét v gastrointestinálnom trakte. Kým sa syntetické aminokyseliny resorbujú aktívnym prenášačovým mechanizmom, existuje pre dipeptidy transportný systém s rozdielnymi kinetickými vlastnosťami v črevnej mukóze (Matthews, 1972). Pri podaní značeného lyzínu viazaného na kvasničnú bielkovinu dôjde k jej štiepeniu až na di- a tri-peptidy. Je možné, že sa tieto di- a tri-peptidy prednostne ukladajú v „pufrujúcich“ intestinálnych a hepatálnych bielkovinách (Simon a Bergner, 1983), čo vedie k relatívnemu vyrovnaníu oxidačnej kinetiky.

Miernu hladovku pred podaním izotopu vedie u obidvoch diét k miernemu zvýšeniu podielu lyzínu, ktorý je katabolizovaný. Toto zvýšenie oproti príslušnej skupine v postprandiálnej fáze nie je významné ($p > 0,05$). Ako príčina tohto javu príde do úvahy okrem zvýšenej glukogenézy aj známe uvoľnenie lyzínu z tkanivových bielkovín v stave hladovania (Boomgardt a McDonald, 1969, citované z Nhan a i., 1987), ktoré zvyšuje hladinu voľného lyzínu v krvnej plazme a v pečeni. Podobný efekt pri intravenóznom podaní izotopu pozorovali Nhan a i. (1987). Vzhľadom na to, že rozdiely medzi skupinami v postprandiálnej fáze a po miernom hladovaní sú štatisticky bezvýznamné, uvádzajú sa v tab. II aj priemery príslušných diét bez ohľadu na predchádzajúci stav krmenia. Ďalej sa uvádza ešte hodnota kumulatívneho vydýchania značeného oxidu uhličitého pre časový úsek 0 až 240 minút. Pre obidve diéty činí táto hodnota cca 15 %. Exkrécia rádioaktivity bola meraná v nezávislých experimentoch, prevedených za podmienok popísaného pokusu. Rozsah exkrécie značeného voľného a v bielkovinách viazaného lyzínu neprevyšuje 1,5 % (Otto a i., 1987; Otto a Šnejdárková, 1987 — nepublikované výsledky). Z toho vyplýva, že celková utilizácia lyzínu je rovnaká pre syntetický a v bielkovinách viazaný lyzín a činí pre prepelicu japonskú v štádiu intenzívneho rastu priemerne 84 %. Hladina dietárneho lyzínu v diétach I až III bola zvolená tak, aby kryla približne 80 % potreby rastúceho zvierťa vzhľadom na lyzín (Svacha a i., 1970). Prekročenie hladiny dietárneho lyzínu nad hranicu optimálneho zásobenia lyzínom by viedlo k zvýšeniu katabolizmu tejto aminokyseliny, čím by sa prípadné rozdiely vo využití oboch foriem lyzínu stratili (Bergner a i., 1987). V tejto súvislosti treba spomenúť, že využitie esenciálnych aminokyselín u rastúcich potkanov bolo maximálne, ak je hladina danej aminokyseliny v diéte v rozsahu 30 až 60 % tej hladiny, ktorá zaistila maximálnu retenciu dusíku (Heger a Frydrych, 1985).

Využitie syntetického a v bielkovinách viazaného lyzínu u brojlerov sa zdá byť vyššie ako u japonských prepelíc. Na základe regresnej analýzy odhadli Sibbald a Wolynetz (1985) využitie syntetického lyzínu na 92 % a utilizáciu v bielkovinách viazaného lyzínu na 88 %. Táto štúdia sa ovšem obmedzuje na analýzu exkrécie lyzínu a nezahŕňa katabolizmus tejto aminokyseliny. Využitie lyzínu u brojlerov pomocou príslušných ^{14}C -značených foriem lyzínu činí 93 % pre syntetický a 98 % pre lyzín viazaný v bielkovinách (Otto a i., 1989). Vyššie využitie lyzínu v oboch formách u brojlerov v porovnaní s japonskými prepelicami poukazuje na zaujímavé rozdiely medzi aviárnymi druhmi. Nakoľko je známe, že u niektorých aminokyselín vrátane lyzínu existu-

jú konzervačné mechanizmy (Yamashita a Ashida, 1969), je žiadúce rozšíriť túto štúdiu v budúcnosti napríklad na treonín, u ktorého taký konzervačný mechanizmus nebol pozorovaný.

Literatúra

- BATTERHAM, E. S.: Utilization of free lysine by pigs. *Pig News Inform.*, 5, 1984, s. 85-88.
- BATTERHAM, E. S. — MURISON, R. D.: Utilization of free lysine by pigs. *Brit. J. Nutr.*, 46, 1981, s. 87-92.
- BERGNER, H. — NHAN, N. T. — WILKE, A.: Methodische Untersuchungen zur stoffwechsellorientierten Lysinbedarfsbestimmung and Broilerküken, 1. Mitteilung. *Arch. anim. Nutr.*, 37, 1987, s. 29-46.
- BOLTON, S. C. — MILLER, E. L.: The efficiency of utilization of lysine by weanling rats. *Proc. Nutr. Soc.*, 44, 1985, s. 132 A.
- BOOMGARDT, J. — McDONALD, B. E.: Comparison of fasting plasma amino acid patterns in the pig, rat and chicken. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 47, 1969, s. 392-395.
- CAVE, N. A. — WILLIAMS, C. J.: A chick assay for availability of lysine in wheat. *Poult. Sci.*, 59, 1980, s. 799-804.
- HEGER, J. — FRYDRYCH, Z.: Efficiency of utilization of essential amino acids in growing rats at different levels of intake. *Brit. J. Nutr.*, 54, 1985, s. 499-508.
- LEIBHOLZ, J.: The utilization of lysine by young pigs from nine concentrates compared with free lysine in young pigs fed *ad libitum*. *Brit. J. Nutr.*, 55, 1986, s. 179-186.
- LIEBERT, F. — GEBHARDT, G.: Beziehungen zwischen der Lysinkonzentration und Kenndaten der Eiweiss- und Aminosäurenverwertung bei Broilerküken. *Arch. Tierernähr.*, 30, 1980, s. 469-478.
- MATTHEWS, D.: Intestinal absorption of amino acids and peptides. *Proc. Nutr. Soc.*, 31, 1972, s. 171-177.
- NHAN, N. T. — WILKE, A. — BERGNER, H.: Methodische Untersuchungen zur stoffwechsellorientierten Lysinbedarfsbestimmung an Broilerküken. 2. Mitteilung. *Arch. anim. Nutr.*, 37, 1987, s. 107-120.
- OTTO, M. — ŠNEJDÁRKOVÁ, M. — BOĎA, K.: Quantification of lysine dynamics in the Japanese quail. *Arch. anim. Nutr.*, 37, 1987, s. 15-27.
- OTTO, M. — ŠNEJDÁRKOVÁ, M. — SIMON, O.: Utilization of free and proteinbound lysine in chicks estimated by an isotopic approach. *Brit. poult. Sci.*, 30, 1989, s. 633-639.
- SIBBALD, I. B. — WOLYNETZ, M. S.: The bioavailability of supplementary lysine and its effect on the energy and nitrogen excretion of adult cockerels fed diets diluted with cellulose. *Poult. Sci.*, 64, 1985, s. 1272-1308.
- SIMON, O. — BERGNER, H.: Veränderungen der Proteinsynthese in Leber und Dünndarm von Ratten nach Futteraufnahme. *Biomed. Biochim. Acta*, 42, 1983, s. 1299-1308.
- SVACHA, A. — WEBER, C. W. — REID, W. L.: Lysine, methionine and glycine requirement of Japanese quail to five weeks of age. *Poult. Sci.*, 49, 1970, s. 54-59.
- WUTZKE, K. — HEINE, W. — VÖLKERT, T. — KRAWIELITZKI, K.: Präparative Darstellung von hochangereichertem ¹⁵N-markierten Hefeprotein. *Isotopenpraxis*, 20, 1984, s. 90-93.
- YAMASHITA, K. — ASHIDA, K.: Lysine metabolism in rats fed lysine-free diet. *J. Nutr.*, 99, 1969, s. 267-273.

Došlo dňa 4. 1. 1989

OTTO, M. — ШНЕЙДАРКОВА, М. (Институт физиологии скота САН, Кошице, рабочий объект Иванка-при-Дунаи): Использование несвязанного и связанного в белках лизина у японской перепелки. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (11) : 681-688.

Использование лизина для протеосинтеза обусловлено переваримостью лизина в бел-

ке, его интестинальной абсорбцией, как и процессами оксидативного катаболизма. Избранный метод позволяет сравнивать суммарное влияние этих отдельных процессов на усвоение свободного и связанного в белках лизина. Сущность метода состоит в количественном определении выдыхаемого ^{14}C -меченого окисла углерода после подачи диеты через рот, содержащей L-(U- ^{14}C)-лизин либо в несвязанной форме, либо связанный с дрожжевыми белками. В адаптивной фазе петушкам скармливали диету на базе пшеничных жмыхов и пшеничного глютена, в которую добавляли либо дрожжевой белок, либо смесь из L-аминокислот, симулирующую состав дрожжевого белка. В день опыта отмечали объем выдыхаемого меченого окисла углерода после дозирования соответствующих меченых диет в течение 240 мин. в постпрандиальной фазе или же при слабом недоедании. Его макс. объем отмечен у обеих диет спустя 60 мин. после дозирования. Кумулятивная величина выдыхаемого $^{14}\text{CO}_2$ (процент от дозы) у свободного лизина около 15,5 %, а у связанного 14,3 %. Ипользуемость обеих его форм у японского перепела меньше, чем у бройлера.

синтетические аминокислоты; суплементация кормов; японская перепелка

OTTO, M. — ŠNEJDÁRKOVÁ, M. (Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice, branch Ivanka pri Dunaji): *Utilization of Free and Protein-bound Lysine in the Japanese Quail*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 681-688.

The utilization of dietary lysine for protein synthesis is affected by the digestibility of protein-bound lysine, by its intestinal resorption and by its oxidative catabolism. The approach chosen in this paper enables a comparison of the cumulative effect of these processes on the utilization of free and protein-bound lysine, respectively. The principle of the approach is based on a quantification of the expiration of ^{14}C -labelled carbon dioxide after an oral administration of a diet, which contains L-(U- ^{14}C)-lysine either as a free amino acid or bound to yeast proteins. During an adaptation phase cockerels of the Japanese quail received a diet based mainly on ground wheat and wheat gluten. This diet was supplemented either with yeast proteins or with a mixture of L-amino acids which simulates the composition of the yeast proteins. In the main experiment the expiration of labelled carbon dioxide was measured during 240 minutes after the administration of the corresponding labelled diets. Just before treatment the animals were either in the postprandial phase or in a state of slight hunger. The maximum of expiration of labelled carbon dioxide occurred around the 60th minute after administration of the corresponding labelled diets. The cumulative expiration of labelled carbon dioxide, expressed in per cent of the radioactive dose used, amounts to 15.5 % and 14.3 % for free and protein-bound lysine, respectively. The utilization of both forms of lysine in the Japanese quail is lower than in broilers.

synthetic amino acids; feed supplementation; Japanese quail

OTTO, M. — ŠNEJDÁRKOVÁ, M. (Institut für Physiologie landwirtschaftlicher Nutztiere der Slowakischen Akademie der Wissenschaften, Košice, Arbeitsstätte Ivanka pri Dunaji): *Zur Verwertung synthetischen und eiweißgebundenen Lysins bei der Japanischen Wachtel*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 681-688.

Die Verwertbarkeit des Lysins für die Proteinsynthese wird durch die Verdaulichkeit des eiweißgebundenen Lysins, seine intestinale Resorption sowie durch Prozesse des oxidativen Katabolismus beeinflusst. In dieser Arbeit wurde eine Versuchsanordnung gewählt, die einen Vergleich des summarischen Einflusses dieser Teilprozesse auf die Verwertung des synthetischen und eiweißgebundenen Lysins ermöglicht. Das Prinzip beruht auf der Quantifizierung des ausgeatmeten ^{14}C -markierten Kohlendioxids nach peroraler Verabreichung einer Diät, die L-(U- ^{14}C)-Lysin entweder in freier Form oder in Hefeproteinen eingebaut enthielt. In der Adaptationsphase wurden Hähnchen der Japanischen Wachtel mit einer Diät auf der Basis von Weizenschrot bzw. Weizen gluten gefüttert, die entweder mit Hefeeiweiß oder mit einer Mischung von L-Aminosäuren, die die Zusammensetzung der Hefeeiweißes simuliert, ergänzt wurde. Am Versuchstag wurde die Ausatmung des ^{14}C -markierten Kohlendioxids im Verlauf von 240 Minuten nach Verabreichung der entsprechenden radioaktiv markierten Diäten an Tiere, die sich vor dem Dosierung in der postprandialen Phase oder in einem mäßigen Hungerzustand befanden, untersucht. Die maximale Ausatmung des

markierten Kohlendioxids wurde bei beiden Diäten um die 60. Minute nach der Applikation verzeichnet. Die kumulativen Werte der Expiration des $^{14}\text{CO}_2$ (in Prozent der Gesamtdosis) belaufen sich auf 15,5 % für das freie (synthetische) Lysin und auf 14,3 % für das in Hefeeiweißen gebundene Lysin. Die Verwertbarkeit beider getesteten Lysinformen ist bei der Japanischen Wachtel geringer als bei Broilern.

synthetische Aminosäuren; Supplementierung von Futtermitteln; Japanische Wachtel

Adresa autorov:

RNDr. Matthias Otto, CSc., ing. Maja Šnejdárková, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV Košice, pobočka 900 28 Ivanka pri Dunaji

MINERÁLNÍ KRMNÉ PŘÍSADY A MAKROMINERÁLNÍ SKLADBA KONZERVOVANÝCH OBJEMOVÝCH KRMIV

J. Hlásný

HLÁSNÝ, J. (Okresní veterinární správa, Písek): *Minerální krmné přísady a makrominerální skladba konzervovaných objemových krmiv*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 689-698.

Počítačovým vyhodnocením výsledků 1280 analyzovaných vzorků představujících 238 571,2 tuny vyrobené sušiny konzervovaných objemových krmiv v bramborářské výrobní oblasti bylo zjištěno, že obsahují 2,2 % draslíku, 0,52 % vápníku, 0,19 % hořčíku, 0,28 % fosforu a 0,031 % sodíku. Tato zjištění se významně liší od výsledků rozborů krmiv před 15 až 20 roky: například v sušině jetelotravní hmoty je nyní obsaženo o 56 % více draslíku a naopak o 64 % méně sodíku, o 36 % méně hořčíku a o 33 % méně vápníku. Obdobné tendence se projeví i u ostatních konzervovaných krmiv. Tomuto obecnému zjištění neodpovídá současná receptura minerálních krmných přísad (MKP) určených pro zimní krmné období v bramborářské výrobní oblasti, protože obsahují pouze okolo 2,5 % hořčíku a 6 až 7 % fosforu. Při použití komerčně vyráběných MKP je u dojníc při denním příjmu 250 g draslíku poměr draslíku k hořčíku na úrovni 9,3 a draslíku k vápníku a hořčíku na úrovni 2,3. Proto je navrhován nový druh MKP, která obsahuje 8 až 10 % vápníku, 3 až 4 % fosforu, 6 až 7 % hořčíku a 8 až 10 % sodíku. Při nižší koncentraci fosforu a na principu vyššího dávkování na kus a den mohou být účinněji kompenzovány hypomagneziemie, hyponatremie, hypokalcemie i metabolické acidózy subklinického charakteru — zejména u vysokobřezích jalovic a prvotetek. Zároveň se sníží celkové náklady na minerální výživu.

výpočetní technika; složení minerálních krmných přísad pro zimní krmné období; prevence subklinických poruch makrominerálního metabolismu u skotu

V bramborářské výrobní oblasti se vzhledem k výrobnímu zaměření vyrábějí krmiva všeobecně s nižším obsahem vápníku, hořčíku a sodíku a naopak s vyšší koncentrací draslíku, což je dáno nejen vysokou intenzitou draselného hnojení, ale také druhovou skladbou pícnin. V praktických podmínkách potom krmná dávka (KD) skotu neobsahuje optimálních 0,6 až 0,8 % draslíku v sušině (Hoelscher, 1980), ale přísun draslíku je podstatně vyšší.

Z výsledků analýz konzervovaných krmiv používaných v bramborářské výrobní oblasti v zimním krmném období vyplývá, že dosavadní skladba minerálních krmných přísad (MKP) se musí změnit. Důvodem je všeobecný nadbytek draslíku v krmivech (Hlásný, 1986). Zejména se musí dosáhnout toho, aby se v KD chovného skotu zvýšil obsah sodíku a hořčíku (Hlásný, 1989) při poměrech K/Na na úrovni alespoň 6,0 a K/Ca + Mg na úrovni 1,7 až 2,0.

Důležitější než absolutní množství makroprvků v KD se zdá být jejich poměr. Za zvláště důležitý pro vznik hypomagneziemie je označován

obecný vzorec antagonistického působení iontů a poruch jejich rovnováhy (Spörri a Stünzi, 1969):

$$\frac{\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{OH}^-}{\text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++} + \text{H}^+}$$

Zdůrazňován je i zjednodušený kvocient

$$\frac{\text{K}^+}{\text{Ca}^{++} + \text{Mg}^{++}}$$

který v krmných dávkách skotu nemá přesáhnout hodnotu 1,8. Pro vznik hypomagneziemie v bramborářské výrobní oblasti je dále významný poměr K/Na, protože ovlivňuje produkci aldosteronu a vznik tetanie. Při nedostatku sodíku aldosteron nejenže stimuluje zpětnou resorpci sodíku v ledvinách, ale současně stimuluje i vylučování Mg^{++} , K^+ , H^+ iontů ledvinami (Wiesner, 1967).

Cílem předložené práce je upozornit na některé disproporce vznikající mezi makromineralní skladbou konzervovaných objemných krmiv a dosavadním složením MKP používaných v bramborářské výrobní oblasti v zimním období.

MATERIÁL A METODA

Základní údaje poskytlo počítačové vyhodnocení výsledků analýz konzervovaných objemných krmiv vyrobených v okrese Písek v letech 1983 až 1985. Vzorové krmiv odebírali podle příslušných metodik pracovníci Zemědělské oblastní laboratoře (ZOL) v Písku a běžnými laboratorními metodami je také vyšetřovali. V rámci okresu Písek bylo ve sledovaném období podrobeno rozboru téměř 100 % vyrobených konzervovaných objemných krmiv. Výsledků analýz bylo použito při sestavení receptury zimního druhu MKP pro bramborářskou výrobní oblast, přičemž pro srovnání je uvedeno i možné využití programu F-045 (Laboratorní rozbor konzervovaných krmiv) pro řepářskou výrobní oblast.

Při použití skutečností zjištěných za pomoci programu F-045 je použita metodika při tvorbě receptury MKP určené ke krmení zejména mladého chovného skotu v bramborářské výrobní oblasti v zimním krmném období. Metodika respektuje tato hlediska:

- počítá se s takovou dotací živin — konzervovaných krmiv — do KD skotu (dojnice), aby byl zachován především poměr živin a jejich množství;

- na takto zjištěné úrovni se určuje (normuje) dotace makroprvků do KD dojníc tak, aby modelová krmná dávka odpovídala průměrné denní doživosti 9 až 10 litrů, přičemž zjištěná potřeba makroprvků je blízká i jejich potřebě v období vyšší březosti;

- v metodice se vychází z průměrných hodnot makroprvků v krmivech, které se v příslušném zastoupení běžně vyskytují v celkové sušině konzervovaných krmiv vyrobených v dané výrobní oblasti;

- při normování přísunu vápníku i fosforu se využívá ČSN 46 7070 s tím, že potřeba vápníku je nadhodnocena o 30 %, potřeba fosforu o 20 % při zimní acidogenně působící krmné dávce;

- normování potřeby hořčíku i sodíku je udáno vlastní vytvořenou normou, která je v relaci se současnou vysokou zátěží draslíkem v krmných dávkách skotu (Hlásný, 1989);

- kompenzace vysoké koncentrace draslíku v konzervovaných krmivech (krmné dávce) formou MKP-C/P je pro bramborářskou výrobní oblast zajišťována dávkováním dvojnásobným, než je tomu u dosavadních druhů vyráběných Vědeckovýrobním sdružením výrobců MKP v ČSR (MKP-C, Polyminy);

I. Průměrné hodnoty makroprvků v konzervovaných objemných krmivech v bramborářské výrobní oblasti (gramy v kilogramu sušiny) — Average macroelement values in preserved roughage in the potato growing region (grams per kg of dry matter)

Krmivo	Ca	P	Mg	K	Na	Procento vyrobené sušiny
Senáž	7,3	3,2	2,1	28,3	0,42	34
Bílkovinná siláž	6,1	3,4	1,9	28,9	0,42	5
Seno	5,0	2,8	1,9	23,7	0,40	20
Kukuřičná siláž	3,4	2,5	1,7	15,4	0,16	41

— ve srovnání s těmito tzv. zimními druhy MKP se přibližně na polovinu snižuje koncentrace fosforu i chloridu sodného, čímž se dává prostor pro vyšší zastoupení hořečnatých a vápenatých doplňků.

Pro srovnání s praxí je kalkulováno i s běžnou dávkou krmné směsi DO-B v období vyšší březosti, protože zejména v tomto stadiu reprodukčního cyklu je nutné řešit vznikající disproporce. Jsou porovnány krmné dávky, které jako doplněk makroprvků obsahují komerčně vyráběnou MKP-C, s krmnou dávkou obsahující nový druh MKP-C(P). Výsledky jsou uvedeny v tabulkách.

VÝSLEDKY

Rozbory 1280 vzorků konzervovaných objemných krmiv, které představovaly 77 164,6 t sušiny vyrobené kukuřičné siláže, 98 514,2 t sušiny senáže, 52 431,1 t sušiny vyrobeného sena a 10 461,3 t sušiny siláže z polobílkovinné píče, bylo zjištěno, že v celkově vyrobené sušině obsahují 2,2 % draslíku, 0,52 % vápníku, 0,19 % hořečíku, 0,28 % fosforu a 0,031 % sodíku. Kromě kukuřičné siláže mají krmiva zejména vysoký obsah draslíku (od 2,37 do 2,83 % v sušině konzervované hmoty).

II. Příklad nedostatečné bilance modelové krmné dávky v bramborářské výrobní oblasti při denní průměrné doživosti 9 až 10 litrů a při krmení dosavadní minerální krmnou přísadou MKP-C (gramy v kilogramu sušiny) — Example of an inadequately balanced model feed ration in the potato growing region during an average daily milk yield of 9 to 10 l and during feeding with the present mineral mixture MKP-C (grams per kg of dry matter)

Celkový přísun sušiny z krmiv [kg]	Ca	P	Mg	K	Na
12,0	69,5	42,2	24,2	246,0	19,6
+ 0,1 kg MKP-C	9,7	6,3	2,3		11,9
Celkem	79,2	48,5	26,5	246,0	31,5
Norma při doživosti 9–10 l	87,1	48,0	42,0		38,5
± rozdíl	– 7,9	+ 0,5	– 15,5		– 7,0

Po odečtení zásob kukuřičné siláže (tvoří celkem 41 % celkové sušiny vyrobených konzervovaných krmiv — tab. I), jejíž vyšší zastoupení je nezbytné v krmné dávce žirného skotu, zůstává pro dojnice k dispozici (množství v sušině krmiva): kukuřičná siláž — 3 kg, seno — 2 kg, senáž — 4,5 kg, krmná sláma — 0,8 kg a krmná směs DO-B — 1,7 kg na kus a den. Při přídávku 0,1 kg komerčně vyráběných MKP-C do této KD se potřeba fosforu vyrovnává, zůstává však nevykryto zhruba 15,5 g hořčíku, 8 g vápníku a 7 g sodíku v denní KD plemenic (tab. II). Tento stav odpovídá tomu, že se dosáhne poměru Ca/P na úrovni 1,6, K/Na = 7,8, K/Mg = 9,3, Ca/Mg = 3, K/Ca + Mg = 2,3.

Mají-li však být v krmné dávce dojníc (chovného skotu) zajištěny tyto poměry makroprvků:

Ca/P	1,5 — 2,0,	Ca/Mg	2,0 — 4,0,
K/Na	4,0 — 6,0,	K/Ca + Mg	1,5 — 2,0,
K/Mg	4,0 — 6,0,		

je nutné zajistit takový druh MKP, ve kterém bude zajištěn tento při-

III. Příklad správné bilance modelové krmné dávky v bramborářské výrobní oblasti při průměrné denní dojivosti 9 až 10 litrů a při krmení novou minerální krmnou přísadou (MKP-C/P) (gramy v kilogramu sušiny) — Example of an adequately balanced model feed ration in the potato growing region during an average daily milk yield of 9 to 10 l and during feeding with the new mineral mixture (MKP-C/P) (grams per kg of dry matter)

Celkový přísun sušiny z krmiv [kg]	Ca	P	Mg	K	Na
12,0	69,5	42,2	24,2	246,0	19,6
+ 0,2 kg MKP-C(P)	17,2	7,4	13,2		19,6
Celkem	86,7	49,6	37,4	246,0	39,2
Norma při dojivosti 9—10 l	87,1	48,0	42,0		38,5
± rozdíl	-0,4	+1,6	-4,6		+0,7

IV. Průměrné hodnoty makroprvků v konzervovaných objemných krmivech v řepařské výrobní oblasti (gramy v kilogramu sušiny) — Average macroelement values in preserved roughages in the beet growing region (grams per kg of dry matter)

Krmivo	Ca	P	Mg	K	Na
Senáž	10,0	3,4	1,75	27,5	1,7
Bílkovinná siláž	7,1	2,9	2,0	29,7	1,8
Seno	12,9	3,1	2,1	24,0	1,0
Kukuřičná siláž	3,7	2,5	1,8	13,1	0,4
Skrojková siláž	13,6	2,4	5,6	23,7	11,0
Řízková siláž	10,8	1,3	2,8	10,3	2,9

V. Příklad nedostatečné bilance modelové krmné dávky v řepařské výrobní oblasti při denní průměrné dojivosti 9 až 10 litrů a při krmení dosavadní minerální krmnou přísadou MKP-C (gramy v kilogramu sušiny) — Example of an inadequately balanced model feed ration in the beet growing region during an average daily milk yield of 9 to 10 l and during feeding with the present mineral mixture MKP-C (grams per kg of dry matter)

Celkový příjem sušiny z krmiv [kg]	Ca	P	Mg	K	Na
12,0	107,0	40,7	31,6	219,9	46,3
± 0,1 kg MKP-C	9,7	6,3	2,3		11,9
Celkem	116,7	47,0	33,9	219,9	58,2
Norma při dojivosti 9–10 l	87,1	48,0	42,0		38,5
+ rozdíl	+29,6	–1,0	–8,1		+19,7

VI. Obsah makroprvků v dosavadní přísadě MKP-C a v novém druhu MKP-C/P — Macroelement content in the present mineral mixture MKP-C and in the new type MKP-C/P

	Ca	P	Mg	Na
	g			
MKP-C	97	63	23	119
MKP-C(P)	86	37	66	98

VII. Konkrétní způsob tvorby receptury nové přísady MKP-C/P — Specific method of formation of the prescription for the new mineral ingredient MKP-C/P

Komponenty	Min.	Max.	Příklad		
			1	2	3
			%		
Dinatriumfosfát	3,5	7,0	3,5	7,0	7,0
Pyrofosforečnan sodný	0,0	2,0	2,0	2,0	0,0
Hexametafosforečnan sodný	0,0	2,0	2,0	2,0	0,0
Magnovit	15,0	15,0	15,0	15,0	15,0
Krmná sůl	5,5	8,0	7,0	5,5	8,0
Kostní moučka nevyklížená	5,0	10,0	5,0	7,0	10,0
Krmný vápenec	13,0	16,0	15,0	16,0	13,0
Hydrogenuhlíčan sodný	0,0	20,0	20,0	10,0	0,0
Uhlíčan sodný	0,0	10,0	0,0	5,0	10,0
Dikalciumfosfát	5,0	10,0	7,5	5,0	10,0
Minerální doplněk III	1,0	2,0	1,5	1,5	1,5
Otruby, mouka	21,5	25,5	21,5	24,0	25,5

bližný obsah makroprvků: vápník — 80 až 100 g, fosfor — 30 až 40 g, hořčík — 60 až 70 g, sodík — 85 až 100 g v kilogramu MKP. Je však nutné zajistit přibližně dvojnásobné dávkování nového druhu MKP (tab. III) ve srovnání s komerčně vyráběnými zimními druhy MKP, přičemž spotřeba drahého fosforu bude téměř shodná. V bramborářské výrobní oblasti jsou tedy při uplatnění nového druhu MKP tyto poměry makroprvků v KD dojníc a vysokobřezích jalovic: $\text{Ca/P} = 1,75$, $\text{K/Na} = 6,3$, $\text{K/Mg} = 6,6$, $\text{Ca/Mg} = 2,3$, $\text{K/Ca} + \text{Mg} = 2,0$.

V MKP-C a v novém druhu MKP-C(P) je zřejmý rozdíl v obsahu fosforu i hořčíku (tab. VI). Konkrétní tvorba receptury nového druhu MKP-C(P) se vyznačuje tím, že jako zdroj fosforu je použito směsi dikalciumfosfátu (DCF) s dinatriumfosfátem (DNF) tak, aby z nich využitelný fosfor představoval minimálně 40 % a organicky vázaný fosfor ve formě kostní moučky a otrub minimálně 20 % ze všech zdrojů v MKP. Zvýšený přísun hořčíku je dodáván v podobě oxidu hořečnatého a uhličitanu hořečnatého prostřednictvím přípravku Magnovit (tab. VII). Pro zajištění požadovaného neutralizačního efektu je nutné, aby zdroj sodíku původem z hydrogenuhlčitanu sodného nebo kalcinované sody představoval minimálně 50 % a zdroj sodíku původem z chloridu sodného minimálně 20 % ze všech zdrojů sodíku v MKP.

DISKUSE

Z uvedených výsledků vyplývá, že dosud vyráběné MKP určené pro zimní krmné období neodpovídají svým makrominérálním složením obecné situaci v minerální skladbě konzervovaných objemných krmiv v bramborářské výrobní oblasti. Nevyhovují zejména jako minerální doplněk pro vysokobřezí jalovice a prvotelky (prvotelkové stáje), u nichž však dochází vlivem výživy k nejhlubším disproporcím ve smyslu všeobecného nadbytku draslíku v krmné dávce. Tato kategorie chovného skotu má i nejvyšší ztráty novorozených telat. Zejména pro tzv. prvotelkové stáje je možné doporučit nový druh MKP, který lze označit jako MKP-C(P).

Zatím se však v ČSR i nadále používají základní typy MKP-A až MKP-D s obsahem fosforu okolo 6,5 %. Vzhledem k různorodosti oblastí jsou ještě vyvíjeny produkční typy (Minprem) s obsahem okolo 8 % fosforu a 2 % hořčíku (Š e d e k, 1988). Pro zimní krmné období určené a komerčně vyráběné MKP, ve kterých se pro bramborářskou výrobní oblast musí uplatňovat synergický účinek CaCO_3 , NaHCO_3 , MgCO_3 a MgO , však i nadále obsahují pouze 2 až 2,5 % hořčíku. Jak je patrné z výsledků této práce, existuje v krmivech určitý deficit hořčíku (veškeré analýzy hořčíku byly provedeny atomovou absorpční spektrofotometrií). Přesto potřebná vyšší dotace hořčíku není doceněna ani v jedné MKP určené k použití v zimním krmném období.

Z údajů publikovaných před 15 až 20 roky vyplývá, že tehdy byl v krmivech podstatně vyšší obsah sodíku, hořčíku i vápníku při nižším obsahu draslíku. Je to zřejmě z porovnání hodnot makroprvků zjištěných v krmivech v letech 1981 až 1983 (H l á s n ý, 1986) [v podstatě jsou totožné s hodnotami uváděnými v této práci] s hodnotami, které udávají shodně F l í č e k (1971) a B a č i n a (1973):

druh krmiva	literární zdroj	Ca	P	Na	K	Mg
		%				
luční seno	Flíč ek, 1971	0,82	0,25	0,24	1,83	0,29
	Hlá sn ý, 1986	0,48	0,25	0,03	2,21	0,21
jetelotravní senáž	Flíč ek, 1971	1,08	0,22	0,11	1,85	0,33
	Hlá sn ý, 1986	0,72	0,32	0,04	2,89	0,21
kukuřičná siláž	Flíč ek, 1971	0,48	0,24	0,24	1,12	0,32
	Hlá sn ý, 1986	0,35	0,23	0,01	1,60	0,18

Je patrné, že se obsah fosforu v sušině konzervovaných krmiv mírně zvýšil (hlavně u senáže), výrazně však byly znevýhodněny poměry ve vztahu k draslíku.

Již mnohokrát bylo výzkumem prokázáno, že hořčík je významným prvkem ve výživě chovného skotu, a nové poznatky to ještě zdůrazňují. Z hlediska predispozic má k hypomagneziii nejbližší bramborářská výrobní oblast, protože hodnoty kvocientu $K/Ca + Mg$ se zde pohybují v zimní KD dojníc na úrovni 2,3, kdežto v řepařské výrobní oblasti na úrovni vyjádřené průměrnou hodnotou 1,5 (tab. I, II a IV). Při vyhodnocování obsahu makroprvků v silážích z řepných skrojeků a řízků dvou různých řepařských oblastí ČSR pomocí programu F-045 však byly zjištěny vyšší rozdíly v obsahu hořčíku, sodíku i vápníku, takže hodnoty, jejichž průměry jsou uvedeny v tab. IV, jsou pouze orientační. Z toho však vyplývá, že i v některých řepařských oblastech, zejména při rozšířeném poměru Ca/Mg , se mohou v zimním krmném období projevit subklinické hypomagnezie. Ze zjištěných údajů je zřejmé, že pro řepařskou oblast má zásadnější význam pouze dotace fosforu formou MKP.

Nutnost dodržovat jen přiměřené dávkování fosforu do KD skotu v bramborářské výrobní oblasti nevyplývá pouze z diktovaných ekonomických důvodů (dovoz fosfátů za devízy), ale i ze závažných důvodů veterinárně-zdravotnických, které spočívají:

— ve stále vyšším obsahu kadmia v produktech živočišné výroby; kadmium ve vyšších koncentracích (1–5 ppm) je obsaženo v krmných fosfátech zejména původem ze severozápadní Afriky,

— v signifikantním snižování fertility dojníc se stoupající hladinou fosfatemie (Hewett, 1974). Hyperfosfatemie, jejíž vznik umožňuje příjem MKP-C s dosavadní recepturou (vehikule jsou otruby + mouka) může být společně s nedostatkem pohotové energie při nadbytku draslíku a dusíkatých látek při probíhající metabolické acidóze jednou z příčin poruch reprodukce plemenic v bramborářské výrobní oblasti.

Nový druh MKP-C(P) má kompenzovat metabolické poruchy, které vyvolává nadbytek draslíku při současném nedostatku lehce rozpustných cukrů v KD březích a vysokobřezích plemenic (Hlá sn ý, 1989). Hyponatremie, hypomagnezie a hypokalcemie probíhající současně s metabolickou acidózou má nejzávažnější důsledky na životaschopnost novorozených telat od prvotelek. Zejména novorozená telata obtížně vyrovnávají metabolickou acidózu a její následky při acidogenně půso-

bící krmné dávce pro matky. Při kompenzaci těžších metabolických acidóz vyššími dávkami nového druhu MKP-C(P) se neplýtvá drahým fosforem tolik, jako v případě, kdy je použita MKP-C s dosavadní recepturou. Tato skutečnost je značně důležitá nejen z hlediska požadovaného vyrovnání metabolické poruchy, ale i z hlediska snižování finančních nákladů na minerální výživu.

Při tvorbě receptur zimních druhů MKP je nutné kopírovat zjištěnou minerální skladbu konzervovaných krmiv za využití výpočetní techniky — alespoň s rozdělením na bramborářskou a řepářskou výrobní oblast. Dále je vhodné především v zimním krmném období uplatňovat u vysokobřezích jalovic a prvotetek takový druh MKP, který by umožňoval vyšší přísun hořčíku, sodíku a vápníku, čím by se omezil výskyt metabolických acidóz u prvotetek, a tím i ztráty novorozených telat.

Literatura

BAČINA, J.: Krmivářské tabulky. Praha 1973.

ČSN 46 7070. Potřeba živin hospodářských zvířat. 1967.

FLÍČEK, V.: Vybrané kapitoly z výživy hospodářských zvířat. Praha 1971, s. 244.

HEWETT, CH.: On the causes and effects of variations in the blood profile on Swedish dairy cattle. Acta veter. scand., Suppl. 50, AVSPAC 50, 1974, s. 1-152.

HLÁSNÝ, J.: Problematika minerální skladby krmiv ve vztahu ke zdraví zvířat. Veterinářství, 1986, č. 4, s. 165-167.

HLÁSNÝ, J.: Zajištění optimálního přísunu sodíku a hořčíku do krmných dávek dojnic a vysokobřezích jalovic. Biol. a Chem. Veter., 1989, č. 2, s. 157-169.

HLÁSNÝ, J.: Mechanismus v působení nadbytku draslíku při současném nedostatku sacharidů ve výživě březích plemenic a závislosti této nesprávné výživy na ztrátách telat. In: Sbor. Ref. celostát. Konf.: Půda, hnojení, pícniny, skot. Písek 1989, s. 104-116.

HOELSCHER, M. A.: Requirements of potassium in ruminant rations. Feedstuffs, 52, 1980, č. 20, s. 27.

SPÖRRI, H. — STÜNZI, H.: Pathophysiologie der Haustiere. 1969.

SEDEK, P.: Skladba minerálních krmných přísad pro skot v závislosti na oblastní specifikaci a zdrojích. In: Sbor. Ref. celostát. Konf.: Minerální a účinné látky ve výživě zvířat. Nitra 1988, s. 34-36.

WIESNER, E.: Ernährungsschäden der landwirtschaftlichen Nutztiere. Jena 1967.

Došlo dne 29. 12. 1988

ГЛАСНЫ, Й. (Районное ветеринарное управление, Писек): **Минеральные кормовые премиксы и макроминеральный состав консервированных объемных кормов.** Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 689-698.

С помощью подытоживания на ЭВМ результатов 180 анализированных образцов, представляющих 238 571,2 т произведенного сухого вещества консервированных объёмных кормов в картофельной области, установлено, что в них содержится 2,2 % К, 0,52 % Са, 0,19 % Mg, 0,28 % Р и 0,31 % Na. Эти данные заметно отличаются от анализов 15—20 лет назад: напр. в сухом вещ. бобовозлаковой массы содержится на 56 % больше К и, наоборот, на 64 % меньше Na и на 33 % Са. Подобные тенденции отмечены и у остальных консервированных кормов. А этому не соответствует современная рецептура минеральных кормовых премиксов (МКП), предназначенных для зимнего кормового периода в картофельной области, так как она содержит лишь около 2,5 % Mg и 6—7 % Р. При скармливании коммерческих МКП коровам при суточном

расходе 250 г К его соотношение с Mg остается на уровне 9,3 г, а $K : Ca + Mg = 2,3$. Вот почему рекомендуется новый вид МКП, содержащий 8—10 % Ca, 3—4 % P, 6—7 % Mg и 8—10 % Na. При пониженной концентрации F и повышенных дозировках на голову в сутки можно действеннее компенсировать гипомagneзиемию, гипонатриемию, гипокальцемию и метаацидозы субклинического характера — в частности у тяжелостельных нетелей и первотелок. В то же время сократятся общие издержки минерального питания.

вычислительная техника; состав минеральных премиксов в зимний кормовой период; предупреждение субклинических расстройств макроминерального метаболизма у крупного рогатого скота

HLÁSNÝ, J. (District Veterinary Administration, Písek): *Mineral Mixtures and the Makroelement Composition of Preserved Roughage*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 689-698.

By means of computer evaluation of the results of 1280 analysed samples representing 238 571.2 tons of produced dry matter from preserved roughage in the potato growing region it was determined that they contained 2.2 % K, 0.52 % Ca, 0.19 % Mg, 0.28 % P and 0.031 % Na. This discovery significantly differs from the results of fodder analyses taken 15—20 years ago: e.g. the dry matter content of clover-grass material presently contains 56 % more K and conversely 64 % less Na, 36 % less Mg and 33 % less Ca. Similar tendencies have been observed even in the other preserved fodders. This general discovery is inconsistent with the present prescription of mineral mixtures (MKP), designated for the winter feeding period in the potato growing region because they contain a mere 2.5 % Mg and 6—7 % P. During the utilization of commercially produced mineral mixtures (MKS) in milk cows with a daily intake of 250 g K, the K to Mg ratio is at the level 9,3 and K to Ca and Mg ratio is at the level of 2.3. Therefore a new type of mineral mixture which contains 8—10 % Ca, 3—4 % P, 6—7 % Mg and 8—10 % Na is being proposed. On the principle of higher ratios (per head and per day) and with lower P concentration may be more effectively compensated hypomagnesias, hypocalcemias and even metabolic acidoses of subclinical character — especially in high-pregnant heifers and first calvers. The total costs on mineral nutrition is also reduced.

computer technology; composition of mineral mixtures for the winter feeding period; prevention of subclinical disturbances of macromineral metabolism in cattle

HLÁSNÝ, J. (Kreis-Veterinärverwaltung, Písek): *Mineralstoff-Zusatzfuttermittel und Makromineralstruktur konservierter Rauhfuttermittel*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (11) : 689-698.

Anhand Computerauswertung der Ergebnisse von 1280 analysierten Proben, die 238 571,2 Tonnen hergestellter Trockensubstanz konservierter Rauhfuttermittel aus einem Kartoffelanbaugebiet repräsentierten, wurde festgestellt, daß diese 2,2 % Kalium, 0,52 % Kalzium, 0,19 % Magnesium, 0,28 % Phosphor und 0,031 % Natrium enthalten. Diese Feststellung weicht ganz wesentlich von den Ergebnissen aus der Zeit vor 15 bis 20 Jahren ab: so z. B. sind heute in der Trockensubstanz der Klee grasmasse um 56 % mehr Kalium und demgegenüber um 64 % weniger Natrium, um 36 % weniger Magnesium und um 33 % weniger Kalzium enthalten. Ähnliche Tendenzen kamen auch bei weiteren konservierten Futtermitteln an den Tag. Dieser generellen Feststellung entspricht nun die heutige Rezeptur der für die Winterfütterungsperiode in Kartoffelanbaugebieten bestimmten Mineralstoff-Zusatzfuttermittel (MKP) kaum noch, da diese nur rund 2,5 % Magnesium und 6 bis 7 % Phosphor enthalten. Bei der Anwendung kommerziell hergestellter MKP liegt bei Milchkühen bei einer Tagesaufnahme von 250 g Kalium das Verhältnis von Kalium zu Magnesium auf dem Niveau von 9,3 und das von Kalium zu Kalzium und Magnesium auf dem Niveau von 2,3. Es wird daher eine neue Art der MKP vorgeschlagen, die 8 bis 10 % Kalzium, 3 bis 4 % Phosphor, 6 bis 7 % Magnesium und 8 bis 10 % Natrium enthalten soll. Bei niedrigerer Phosphorkonzentration und auf dem Prinzip einer höheren Dosierung pro Stück und Tag könnten Hypomagnesiämie, Hyponatriämie, Hypokalziämie sowie metabolische Azidosen subklinischen Charakters, insbes. dann

bei hochtragenden Färsen und Erstlingskühen, wirksamer kompensiert werden. Gleichzeitig würden sich auch die Gesamtkosten für Mineralnährstoffversorgung vermindern.

EDV; Mineralstoff-Zusatzfuttermittelzusammensetzung für die Winterfütterungsperiode; Prävention subklinischer Störungen des Makromineralstoffwechsels beim Rind

Adresa autora:

MVDr. Josef Hlásný, Okresní veterinární správa, 397 01 Písek

SOUHRNNÝ PŘEHLED

Z VÝVOJE NAŠÍ EKOLOGICKÉ PARAZITOLOGIE

Již starší práce zoologů a prvních parazitologů z konce minulého a začátku tohoto století přinesly údaje o vztahu mezi živočichy a jejich životním prostředím. Nechybí v nich ani sdělení o sezónní dynamice cizopasníků, např. Šrámkovo (1903) u ryb prozkoumaných ve Fričově první přenosné stanici na Labi u Poděbrad.

Cizopasnici systematicky vyšších obratlovců byli podrobněji studováni jen příležitostně z hlediska jejich druhové příslušnosti, s výjimkou Mrázkových vývojových cyklů ptáčích tasemnic (1891). Parazitofauna lovné zvěře byla celá desetiletí ovlivněna soupisy Olt-Strössova kompendia z roku 1914. Citelně chyběly určovací klíče cizopasníků skotu, koní, prasat, ovcí a drůbeže. Informace o vztahu parazit—prostředí a o podmínkách zvyšování populační dynamiky cizopasníků nebyly k dispozici ani u druhů ohrožujících lidské zdraví.

Veterinární výzkumy respektující ekologická hlediska zahájil s pomocí pokrokových sovětských metod v roce 1924 Rašín na Zoologicko-parazitologickém ústavu Vysoké školy veterinární v Brně. O mnoho let později na ně navázal komplexní Zavadilův výzkum o syngamóze a dále i Willomitzerův a Gmitterův (1955) výzkum při řešení ohniskovosti některých motolichnatostí ptáků.

Po osvobození byly obnoveny vysokoškolské ústavy, zřízena pracoviště ČSAV a rozestaveny mladé kádry, většinou z vědecké školy akademika O. Jírovce. V té době se naše parazitologie bouřlivě rozvíjela a krystalizovala se její ekologická orientace. Z hlediska celosvětového pokroku dozrálo tehdy dílo V. A. Dogela, jež v humánní a veterinární působnosti dovršili akademici J. N. Pavlovskij, K. I. Skrjabin a A. P. Markevič.

V biografickém hodnocení prokázal akademik B. Rosický, že Pavlovskij postavil parazitologii na dialekticko-materialistický základ, schopný ochránit lidské zdraví i život, zvýšit užitkovost zvířat, jakost potravin živočišného původu a kvalitu surovin pro průmysl.

Ekologicky zaměřená parazitologie vytvořila most k pozdější obhajobě učení o přírodní ohniskovosti některých chorob. Vědecké škole akademika Rosického, jeho četným žákům a spolupracovníkům, se podařilo prokázat platnost tohoto revolučního směru i ve středoevropských podmínkách. Úspěšnost jejího rozvoje mohou dosvědčit dále uvedené skutečnosti.

Členitý charakter našich zemí, rozmanitost přírodních podmínek s ukázkami původní zvířeny, tradiční podpora osobitých odvětví (např. obornictví, bažantnictví), zvyšující se styk domestikovaných druhů s volnými biocenózami (např. při pastevním odchovu) udržely přírodní ohniska chorob nejen v českých zemích, ale podle výzkumů z šedesátých let, jejichž výsledky uvedl Čatár, i v SSR.

V roce 1954 neušlo Dykovi a Luckému, že učení o přírodní ohniskovosti je použitelné i ve vodním prostředí u některých parazitóz říčních a rybníčních ryb. Tento poznatek umožnil novou orientaci prevence.

V Helmintologickém ústavu SAV vymezil akademik Hovorka (1957) ohniska obávané svalovitosti (trichinelózy) v pohořích, ve kterých se uchovaly nebo obnovily stavy velkých šelem (rys aj.) a černé zvěře. Podnětnost měly i výsledky jeho výzkumů epizootologie koňských strongyloidů v povodí východoslovenských řek (1952) a příručka, kterou vydal s Juráškem, o pastevních parazitózách (1960), podobné jako publikace Helmintohostitelské vztahy (1963).

Velkou pomoc výzkumu a prevenci ekonomicky nebezpečných parazitóz nabídl i Markevičovo učení o druhotných ohniscích chorob vznikajících při hospodářské činnosti. V širším objasňování a praktickém využití tohoto učení měla plnou účast katedra parazitologie Vysoké školy veterinární v Brně společně s Výzkumným ústavem veterinárního lékařství v Brně, resortním výzkumem, státními diagnostickými zařízeními, kontrolou veterinárních léčiv apod.

Z této vývojové etapy pocházejí první velké monografie o parazitech, např. Blechy (Rosický, 1957), Komáří bodaví (Kramář, 1958), a souhrnná kompendia pro praxi, např. Cizopasnici a invazní choroby drůbeže (Dyk aj., 1957), Cizopasnici a choroby prasat (Dyk a Zavadil, 1959).

Významným krokem vpřed byl i Ryšavého objev o rezervoárovém habitacismu invazních larev helmintů (1965). Plnou podporu znalosti cizopasníků volně žijících a domestikovaných obratlovců poskytly živočišnému sektoru, mysliveckému hospodaření, zájmovému a sportovnímu využití zvířat rozsáhlé ekologicky orientované výzkumy ovci a zvěře, kterým se od roku 1953 věnovali Ryšavý a Erhardová.

Z arachnoentomologie publikovali výsledky svých výzkumů klíšťat Mačička (1955) a Černý (1957), střečků Minář (1972), klošovitých Chalupský (1977). Parazitofaunu ježka a krtka zpracoval Prokopič (1957), sysla Grulich (1960). Plícnívkám ovcí a skotu se experimentálně věnoval Schanzel (1959). Hlístice koní vzorově zpracoval Baruš (1958). Parazitofaunu importované spárkaté zvěře analyzoval v letech 1960 až 1972 Kotrlý. Celostátní rozšíření střečkovitosti studoval Povolný (1961). O poznání helmintů koroptví se zasloužil Páv (1961), který později zpracoval i parazitofaunu muflonů a černé zvěře. Helmintofaunu krůt a dalších ptáků zpracoval Baruš. Směny mezi kurem, bažantem a koroptví řešil Bejšovec (1965). Zajíček zkoumal ekologii parazitů kachen (1962, 1963). Ha-laša označil zajíce za rezervoárového hostitele motolic z rodu *Fasciola* a *Dicrocoelium* (1955). Cizopasníky ondatry a králíka divokého sledoval Tenora (1957). Fascioloidózu zkoumal Blažek (1974). Helminty vodní drůbeže monograficky zpracovali akademik Ryšavý s kolektivem (1982).

Včasný nástup k ekologické parazitologii měl Zavadil, který již od roku 1953 publikoval práce o srostlicích, později o invazích u aklimatizovaných pštrosů emu a bažantů. Od roku 1962 se Chroust experimentálně věnoval svalovcům a kokcidiím, později hlísticím přezývkavců a nakonec hlísticím spárkaté zvěře. Ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství vynikla na úseku ekologie meziphostitelů motolic Chroustová (1972). Willomitzer řešil boj s helminty skotu (1979), ale již v 50. letech přispěl ke znalosti cizopasníků drůbeže, holubů a kachen. Vojtek a Vojtková z brněnské přírodovědecké fakulty řešili v roce 1964 a v dalších letech vývojové cykly motolic našich ryb, obojživelníků a ptáků. Zásadní urychlení aplikačního vývoje přinesl Rosického a Barušův objev přírodní ohniskovosti nematodóz drůbeže (1979).

Velmi mnoho cenných sdělení z oblasti ekologické parazitologie a ohniskovosti některých parazitárních chorob bylo uveřejněno nebo předneseno na mezinárodních a národních sympozii pracovníky Vysoké školy veterinární v Košicích, Helmintologického ústavu SAV v Košicích, lékařské fakulty Univerzity Komenského v Bratislavě, slovenských diagnostických ústavů, resortního výzkumu, Biomet apod.

Do kategorie světové vědecké priority je třeba zařadit komplexní výsledky výzkumu vektorských haemofágních ektoparazitů, zvláště klíšťat a komárů. Ze tří evropských druhů arbovirů byli v SSR izolovány viry Čalovo, cirkulující transovariálně za pomoci běžného vektorského komára *Anopheles maculipennis*, a Ťahyňa, vázaného vývojem a přenosem na komára druhu *Aedes vexans*. Dnes patří mezi RNK viry z čeledi *Bunyaviridae*, přesunované i migrujícími ptáky. Za tento mezinárodně uznávaný objevný úspěch vděčíme akademiku Blaškovičovi a jeho vědecké škole, v níž vynikla Libíková (1952), Grešíková (1959) a další vytrvalí erudovaní pracovníci.

Zbývá dodat, že katedra parazitologie a invazních chorob, s oddělením pro nemoci ryb a včel, Vysoké školy veterinární v Brně se již od svého vyčlenění z původního konglomerátu biologie — zoologie — parazitologie v roce 1953 velmi intenzivně zabývala ekologickou parazitologií. Měla i naši již uvedenou prioritu v průkazu platnosti učení akademika J. N. Pavlovského o přírodní ohniskovosti ve vodním prostředí. Na sjezdu helmintologů v Liblicích v roce 1956 předložili pracovníci této katedry za vedení prof. E. Sekery a prof. O. V. Hykeše obšírný programový referát s přehledem dosavadního vývoje vědeckovýzkumné činnosti.

Práce katedry se zaměřila jednak na pokračování ve výzkumu ohniskovosti chorob ryb, jednak na lovnou zvěř, chovance zooparků, zájmové druhy zvířat, zejména psy, kočky, kožešinové druhy, holuby, želvy a další. V rámci celostátního výzkumu se přednostně věnovala parazitózám při pastevním odchovu, ve velkovýkrmnách drůbeže, při faremních odchovech bažantů. Ve spolupráci s humánní parazitologií zkoumala udržovatele invazí v sinantropních biocenózách a ohniskový výskyt i diagnostiku trichinelózy.

Jako terénní pracoviště sloužila katedře parazitologie a invazních chorob hlavně hornatá oblast Svitavska s inklinací k plícnívkovitosti, střečkovitosti, muchničkovitosti apod. Možnost výzkumu směny parazitů mezi zvěří a paseným dobyt看kem nabídl Českomoravská vrchovina a Dražanská vrchovina, kde odlesněné oblasti

udržovaly četné helmintózy zaječí a pernaté zvěře. Krasový ostrov u Blanska a Mikulova představoval ložisko stacionární mülleriozy a dikroceliozy, vázané na bohatý výskyt měkkýšů a mravenců, i značného stupně zaklíštění v přechodech do dyjské nivy. Lužní oblast v teplejším Dyjsko-svratském úvalu trpěla protostrongylózami, syngamózou, silnými nálety ovádů, střechů a komárů. V jihomoravské rybniční oblasti se projevovala tendence ve směně cizopasníků mezi vodními a bažinnými ptáky i faremně odchovávanými kachnami. Nárůst bude pokračovat i po vybudování vodních zdrží. V okolí Lednice jsme zjistili ohnisko echinocirózy, motolichnatosti černé zvěře (Zavadil). Biotypy této lužní části jsou pod stálým tlakem náletů různých druhů komárů.

Parazitofaunu užitečných ani vzácných a chráněných zvířat zřejmě nelze hodnotit odděleně, bez znalosti spektra volně žijících hostitelů (i meziphostitelů a rezervuárových hostitelů). U mnohých druhů je nutné dořešit vývojové cykly, patogenitu, možnosti šíření, prevenci. Kolektiv katedry parazitologie a invazních chorob přispěl do roku 1976 k řešení těchto problémů 555 pracemi, ve kterých bylo popsáno 118 nově ohlášených druhů parazitů i jejich dalších hostitelů v ČSSR.

U ekonomicky zvlášť nebezpečných druhů parazitů usilují proto specialisté o dokumentaci sezónní dynamiky, specifčnosti k hostitelům a extenzity i intenzity invazí. Reálné plány prevence a návratnosti nákladů na ozdravovací akce musejí vycházet z přesně poznatého spektra cizopasníků a všech jejich závislostí na ekologických činitelích nebo případné ohniskovosti invazních chorob.

Přes půl století u nás tvořivě rozvíjená veterinární parazitologie, kterou stimulovaly sovětské vědecké školy, vytvořila široké základy i pro dnešní veterinární ekologii. Její náplň formuloval Mikeš (1988) jako soubor opatření Státní veterinární správy. Tato opatření mají v libereckém koordinačním centru SVÚ sladit programy okresních specialistů pro choroby zvěře a ryb, hygieniků, dietetiků a epizootologů, aby byl zajištěn růst hygieny životního prostředí a ochrana potravních řetězců.

Prof. MVDr. Václav Dyk, DrCs.

Vybraná literatura

- BARUŠ, V.: Vývojové cykly některých cizopasných hlístic koní. In: Sbor. Vys. Šk. zeměd. les. Brno, Ř. A, 1958, č. 8, s. 41-54.
- BLÁŠKOVIČ, D.: Epidemiologische und immunobiologische Probleme bei der Zeckenencephalitis. Wien. klin. Wschr., 70, 1958, s. 742-749.
- CATÁR, G.: K problému toxoplasmózy na Slovensku. Biol. Práce SAV, 7, 1961, č. 4, s. 112.
- DYK, V.: Význam ekologického zaměření helmintologie a vývojová cesta i cíle veterinárně orientované helmintologie. Helmintológia, 4, 1957, s. 31-53.
- DYK, V. — LUCKÝ, Z.: Příspěvek k poznání ohnisek parazitů plevelných ryb v rybníčních soustavách. Českoslov. Parazit., 1954, s. 77-84.
- DYK, V. — ZAVADIL, R.: Cizopasnici a invazní choroby prasat. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1959. 138 s.
- DYK, V. — ZAVADIL, R.: Veterinární helmintologie. Praha, Státní pedagogické nakladatelství 1981. 164 s.
- DYK, V. — ZAVADIL, R.: Veterinární protozoologie a arachnoentomologie. Praha, Státní pedagogické nakladatelství 1981. 156 s.
- DYK, V. — KLIMEŠ, B. — ZAVADIL, R.: Cizopasnici a invazní choroby drůbeže. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1957. 181 s.
- HOVORKA, J.: Epizootický prieskum konských strongyloidov a *Parascaris equorum* v povodí východoslovenských riek a ich vzťahu ku kolikám. Veter. Sbor. (Bratislava), 1952, s. 51-78.
- HOVORKA, J.: Helmintologická diagnostika. Bratislava, SAV 1954. 377 s.
- HOVORKA, J. — JURÁSEK, V.: Pasienkové parazitózy hospodárskych zvierat. Bratislava 1960. 162 s.

- CHROUST, K.: Kokcidie u zvěře. Pardubice, Ústav veter. osvěty 1984. 30 s.
- KOTRLÁ, B. et al.: Parazitózy zvěře. Praha, ČSAV 1984. 192 s.
- KOTRLÝ, A.: Ekologie cizopasníků spárkaté zvěře v ČSSR. Práce Výzk. Úst. lesn. Hospod. Mysl., 29, 1964, s. 7-47.
- PÁV, J. et al.: Choroby lovné zvěře. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1981. 262 s.
- PIVNIČKA, K.: Ekologie. Praha, Státní pedagogické nakladatelství 1984. 204 s.
- RAŠIN, K.: Toxoplasmóza zajíce. Věst. Českoslov. Společ. zool., 12, 1948, s. 158-179.
- ROSICKÝ, B.: Poznámky k ekologii klíštěte *Ixodes ricinus* ve střední Evropě se zřetelem na přírodní ohniska nákaz. Věst. Českoslov. Společ. zool., 18, 1954, s. 41-70.
- ROSICKÝ, B.: Přírodní ohniskovost nákaz a výzkumy v ČSSR. Vesmír, 33, 1954, s. 225.
- ROSICKÝ, B.: Některé aspekty přírodní ohniskovosti nákaz domácích zvířat v podmínkách střední Evropy. Veter. Čas., 8, 1959, s. 431-437.
- RYŠAVÝ, B.: Paraziti ovcí a jejich rezervoáry v přírodě. Veterinářství, 3, 1953, s. 170-173.
- RYŠAVÝ, B. — ERHARDOVÁ, B.: Rezervoáry parazitárních onemocnění domácích zvířat ve volné přírodě. In: Sbor. Přírodní ohniska nákaz, 1956, s. 220-228.
- SCHANZEL, H.: Nové poznatky o vývoji motolice kopinaté. Veterinářství, 13, 1963, s. 108-109.
- ŠRÁMEK, A.: Cizopasní červi ryb na zoologické stanici v Poděbradech zkoumaných. Arch. přírodov. Výzk. Čech, 11, 1903, č. 3, s. 94-123.
- ZAVADIL, R.: Studie o systematické příslušnosti, vývoji a patogenitě parazitů z rodu *Syngamus* Siebold 1836. In: Sbor. Vys. Šk. zeměd. lesn. Fak. Brno, Ser. B, 2, 1953, s. 129-140.

Došlo dne 10. 3. 1989

NÁLEZ KREVNÍCH STADIÍ MYXOSPORIDIE RODU *SPHAEROSPORA* U LIPANA PODHORNÍHO (*THYMALLUS THYMALLUS*)

V rámci doplňkového výzkumu biologie lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) byla pozornost věnována i hematologii (Hlavová, 1988). Při vyšetřování krevních nátěrů barvených panoptickou metodou podle Pappenheima jsme v materiálu získaném v květnu roku 1987 v řece Svatce u Prudké našli u šesti lipanů (10 % z vyšetřovaných) kromě krevních elementů i oválné útvary, na první pohled připomínající zvláštní typ leukocytů. Jejich průměrná velikost byla $10,8 \pm 1,4 \mu\text{m}$. Měly podobu kulaté buňky se slabě modře zbarvenou cytoplazmou, která obsahovala intenzivně fialově se barvící dceřinné buňky větvenitého nebo oválného tvaru se slabě růžovým jádrem. Sledované mateřské (primární) buňky obsahovaly maximálně čtyři dceřinné (sekundární) buňky. V několika případech byla uvnitř dceřinné buňky nalezena ještě jedna dceřinná buňka terciální. Nebyla však pozorována ani jedna mateřská buňka, která by obsahovala více než jednu takovou terciální buňku.

Na základě popisu krevních stadií parazita druhu *Sphaerospora renicola* u kapra (Lom a Dyková, 1982) jsme popisované útvary v krvi lipana podhorního identifikovali jako mimobuněčná krevní stadia parazitických prvoků rodu *Sphaerospora*, který patří do třídy *Myxosporrea* (rybomorky). Druhé určení myxosporidií vyžaduje morfologické vyšetření spór. Jelikož jsme však ve vyšetřovaných rybách spóry našli, omezili jsme se zatím na označení *Sphaerospora* sp.

Paraziti rodu *Sphaerospora* jsou značně rozšíření a byli popsáni u mnoha druhů ryb. U lína obecného (*Tinca tinca*) byl výskyt *Sphaerospora tincae* popsán v roce 1925 (Plehnová, 1925). Druh *Sphaerospora gobionis* popsali Lom aj. (1985) v ledvinových kanálcích hrouzka obecného (*Gobio gobio*). Rovněž u plotice obecné (*Rutilus rutilus*) byli zjištěni paraziti *Sphaerospora* sp., ale zatím nebyli blíže určeni (Lom aj., 1985). Nejčastěji se však setkáváme s druhem *Sphaerospora renicola* u kapra obecného (Csaba, 1976; Lom a Dyková, 1982; Ter Hölte aj., 1984; Körting a Hermanns, 1984 a další).

Frekvence výskytu krevních parazitů rodu *Sphaerospora* sp. v krvi lipana byla v porovnání s nálezem u kaprů asi 200krát nižší. Např. Lom a Dyková (1982) uvádějí při silných invazích nález jednoho parazita na 50 erytrocytů. V našem případě jsme zjišťovali průměrně tři parazity (rozpětí 1–10) na 100 leukocytů, tj. v přepočtu asi jeden parazit na 1000 erytrocytů. Zřejmě vzhledem k tak nízké intenzitě výskytu nebyly u sledovaných hematologických ukazatelů (počet erytrocytů a leukocytů, hematokrit, hemoglobin, celková bílkovina krevní plazmy a leukogram) zjištěny výrazné změny. Rovněž bylo zajímavé, že při opakovaném vyšetření krve lipanů ze stejné lokality a ve stejném časovém období dalšího roku (1988) jsme nepozorovali ani jediný výskyt krevních stadií rodu *Sphaerospora*. Výskyt tohoto parazita nebyl zjištěn ani v odběrech z dalších období roku.

Námi poprvé popsany výskyt krevních stadií parazita *Sphaerospora* sp. u lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) tak rozšiřuje zatím známé hostitelské spektrum ledvinných sférospór, které během svého vývojového cyklu vytvářejí stadia rozmnožující se v krvi svého rybího hostitele. Druhové určení parazita vyžaduje nález a morfologické vyšetření spór, k čemuž bude zaměřen náš další výzkum.

Ing. Pavel Jurajda

Ustav systematické a ekologické biologie ČSAV, Brno

Literatura

- CSABA, G.: An unidentifiable extracellular sporozoon parasite from the blood of the carp. *Parasit. hung.*, 9, 1976, s. 21-24.
- HLAVOVÁ, V.: Červený krevní obraz u pstruha obecného (*Salmo trutta*) a lipana podhorního (*Thymallus thymallus*) v průběhu jarního období. *Živoč. Výr.*, 33, 1988, s. 949-960.
- KÖRTING, W. — HERMANN, W.: Myxosporidien-Infektionen in der Niere des Karpfens (*Cyprinus carpio* L.) aus niedersächsischen Teichwirtschaften. *Berl.-Münch. tierärztl. Wschr.*, 97, 1984, s. 255-259.
- LOM, J. — DYKOVÁ, I.: Noví krevní paraziti kapřího plůdku v ČSSR. *Veterinářství*, 32, 1982, s. 473-474.
- LOM, J. — PAVLÁSKOVÁ, M. — DYKOVÁ, I.: Notes on kidney-infecting species of the genus *Sphaerospora* Thélohan (*Myxosporea*), including a new species *S. gobionis* sp. nov., and on myxosporean life cycle stages in the blood of some freshwater fish. *J. Fish Diseases*, 8, 1985, s. 221-232.
- PLEHNOVÁ, M.: Eine neue Schleienkrankheit. *Fischerei Ztg.*, 15, 1925, s. 299-300.
- TER HÖFTE, B. B. — KÖRTING, W. — LEHMANN, J.: „C- und K-Protozoen“, Endoparasiten unsicherer systematischer Zuordnung bei jungen Karpfen (*Cyprinus carpio* L.). *Derzeitiger Wissenstand und bildliche Dokumentation*. *Fisch u. Umwelt*, 13, 1984, s. 89-99.

Došlo dne 20. 2. 1989

CONTENTS

Lopatářová M., Holý L.: Possibility of Increasing the Superovulation Effect in Cattle by means of Transzonal Embryo Bisection in Practice	641
Szabóová E., Dányi J.: Utilization of Furazolidone Determination in Calf Urine in Laboratory Diagnostics	651
Tokoš M., Arendarčík J., Laurinčík J.: Changes of Follicular Apparatus and Tertiary Follicle Populations in Sheep after PMSG Administration during the Period of Anoestrous	659
Bíreš J.: Interactions between Copper, Iron, Zinc, Arsenic, Cadmium and Lead in the Liver of Sheep after Experimental Intoxication with Cupric Oxide	665
Neuhybel P., Fintajsl A., Rychlá R.: Caryometric Differences in Tissue of Lymphoid Organs during Marek's Disease and Lymphoid Leucosis in Poultry	675
Otto M., Šnejdárková M.: Utilization of Free and Protein-bound Lysine in the Japanese Quail	681
Hlásný J.: Mineral Mixtures and the Makroelement Composition of Preserved Roughage	689

INHALT

Lopatářová M., Holý L.: Möglichkeiten einer Erhöhung des Superovulations-effekts beim Rind durch transzonale Embryoteilung in der Praxis	641
Szabóová E., Dányi J.: Anwendung der Bestimmung von Furazolidon im Harn von Kälbern bei Labordiagnostik	651
Tokoš M., Arendarčík J., Laurinčík J.: Veränderungen des follikulären Apparts und der Population tertiärer Follikel bei Schafen nach Verabreichung von PMSG in der Anöstrusperiode	659
Bíreš J.: Wechselbeziehungen zwischen Kupfer, Eisen, Zink, Arsen, Kadmium und Blei in der Leber von Schafen nach experimenteller Intoxikation durch Kupfer-oxid	665
Neuhybel P., Fintajsl A., Rychlá R.: Karyometrische Unterschiede in Geweben lymphoider Organe bei der Marekschen Krankheit und der lymphoiden Geflügelleukose	675
Otto M., Šnejdárková M.: Zur Verwertung synthetischen und eiweißgebundenen Lysins bei der Japanischen Wachtel	681
Hlásný J.: Mineralstoff-Zusatzfuttermittel und Makromineralstruktur konservierter Rauhfuttermittel	689

Rukopisy odevzdány k tisku 19. 7. 1989 — Podepsáno k tisku 2. 11. 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, Kovpáková 26, 160 00 Praha 6.