

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

5-6

ROČNÍK 37 (LXV)
PRAHA
KVĚTEN — ČERVEN 1992
ISSN 0375-8427

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: prof. MVDr. Karel Hruška, CSc. (předseda), prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, DrSc., doc. MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., doc. MVDr. Ivan Rosíval, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Levkutová M., Bajová V.: Vplyv prípravku Zindep na hladinu B-lymfocytov u gravidných kráv	257
Holovská K., Lenártová V., Rybošová E., Oriňák A., Stachová M.: Vlastnosti a regulácia glutamátdehydrogenázy izolovanej z bachora kmeňa <i>Bacteroides ruminicola</i> ssp. <i>ruminicola</i> u daniela	261
Raszyk J.: Praktický imunologický kožný test u selat	269
Vendrák T., Jalč D., Zeleňák I., Siroka P.: Vplyv defaunácie na fermentáciu <i>in vitro</i>	283
Legáth J.: Zmeny v zastúpení aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na stenu bachora oviec pri skľmovaní diéty s nízkym a vysokým obsahom dusíka	293
Maraček I., Maračeková Z., Hendrichovský V., Maretta M.: Objem jadier buniek zrnitej vrstvy a vnútorného puzdra najväčšieho dominantného aj atretického terciárneho folikulu oviec v procese selekcie	307
Molnárová M., Arendarčík J., Molnár P.: Antiproteolytické aktivity krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po hormonálnom ovplyvnení ovárií a ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy) v anestrii	319
Jankela J.: Vplyv mastných kyselín v krmive na aktivitu xantin dehydrogenázy u prepelice japonskej	333
Mezerová J., Němeček L., Snášil M.: Kontinuální intravenózní anestézie psa směsí xylazínu, ketamínu a guaifenezínu	341

INFORMACE

Pavlásek I.: Metodiky diagnostiky oocyst kryptosporidií u savců a ptáků	349
---	-----

CONTENTS

Levkutová M., Bajová V.: The effects of the Zindep preparation on the level of B-lymphocytes in gravid cows	260
Holovská K., Lenártová V., Rybošová E., Oriňák A., Stachová M.: The properties and control of glutamate dehydrogenase isolated from the rumen strain <i>Bacteroides ruminicola</i> ssp. <i>ruminicola</i> in fallow deer	267
Raszyk J.: A practical immunological skin test in piglets	278
Vendrák T., Jalč D., Zeleňák I., Siroka P.: The effects of defaunation on <i>in vitro</i> fermentation	291
Legáth J.: Changes of amino-acid levels in hydrolyzates of bacteria adhered to the ovine ruminal wall during feeding with high and low nitrogen diets	305
Maraček I., Maračeková Z., Hendrichovský V., Maretta M.: Nuclear volume of the granulosa and internal theca cells in the largest dominant as well as atretic tertiary follicles of sheep in the process of selection	316
Molnárová M., Arendarčík J., Molnár P.: Antiproteolytic activities of the blood plasma and cervical mucus in ewes after the hormonal treatment of ovaries and gamma irradiation in anoestrus	332
Jankela J.: The effects of dietary fatty acids on the XDH activity in Japanese quail	339
Mezerová J., Němeček L., Snášil M.: Continual intravenous anaesthesia in dogs with a mixture of xylazine, ketamine and guaifenezine (XKG)	346

VPLYV PRÍPRAVKU ZINDEP NA HLADINU B-LYMFOCYTOV U GRAVIDNÝCH KRÁV

M. Levkutová, V. Bajová

LEVKUTOVÁ, M. — BAJOVÁ, V. [Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice]: *Vplyv prípravku Zindep na hladinu B-lymfocytov u gravidných kráv*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 {5—6}: 257—260.

V práci sme sledovali imunomodulačný vplyv prípravku Zindep na humorálnu odpoveď gravidných kráv od polovice siedmeho mesiaca gravidity do pôrodu, po otelení a u teliat po narodení a v 15. deň ich života. Vzostup hladiny B-lymfocytov bol pozorovaný na 2., 5., 8., 15., 30., 50. a 60. deň pokusu. Najvyššie priemerné hodnoty boli zistené v pokusnej skupine na 8. a 15. deň pokusu s priemernými hodnotami $23,9 \pm 2,83$ resp. $23,9 \pm 3,68$ %. Uvedené hodnoty boli štatisticky významné (*T*-test) na hladine $P < 0,01$ a $P < 0,05$. Priemerné hodnoty B-lymfocytov u kráv v pokusnej skupine po pôrode boli v priemere 21,6 % a v kontrolnej skupine 19,0 %. U teliat v oboch sledovaných skupinách neboli zaznamenané výraznejšie rozdiely v počte B-lymfocytov. Štatisticky neboli vyhodnotené hodnoty u teliat pre malý počet odberov.

krava; imunomodulácia; EAC-rozety; B-lymfocyty; Zindep

Zinok chráni zvieratá proti bakteriálnym a vírusovým infekciám (Snyder a Walker, 1976; Tocco-Bradley a Kluger, 1984). Vyskytuje sa vo všetkých bunkách živého organizmu, je aktivátorom rôznych enzýmov-metaloenzýmov (Underwood, 1971; Laurie, 1983). Prostredníctvom nukleových kyselín zinok pôsobí ako bunecný regulátor (Prasad a i., 1975; Cousins, 1984). Vplýva na stabilitu bunecných membrán; inhibuje prietok iónov a intracelulárnych metabolitov cez plazmatickú membránu buniek spôsobenú *in vitro* hemolytickými agensami (Pasternak a i., 1985a, b; Bashford a i., 1986; Pasternak, 1987).

Tento esenciálny prvok je nenahraditeľný pre bunkovú proliferáciu a diferenciáciu a pôsobí pri všetkých fázach bunecného delenia (Slaby a i., 1984). Svojím postavením v metabolizme buniek ovplyvňuje bunkovú a humorálnu imunitu. Murray a Yetley (1983) zistili, že zinok v nízkych dávkach (do $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h.) pôsobí imunostimulačne, pri vyššej dávke imunosupresívne.

Cieľom našej práce bolo sledovať imunomodulačný vplyv prípravku Zindep na dynamiku B-lymfocytov u gravidných kráv od polovice siedmeho mesiaca gravidity do pôrodu, po otelení a tiež dynamiku B-lymfocytov u ich potomstva po narodení a v 15. deň ich života.

Do pokusu bolo zaradených 10 kráv od polovice siedmeho mesiaca gravidity do pôrodu, po otelení a k sledovaniu bolo použité aj ich potomstvo po narodení a v 15. deň ich života.

Piatim krávam bol aplikovaný Zindep inj. a. u. v. do svaloviny krku v dávke 3 mg Zn . kg⁻¹ ž. h. Ďalších päť kráv bolo kontrolných.

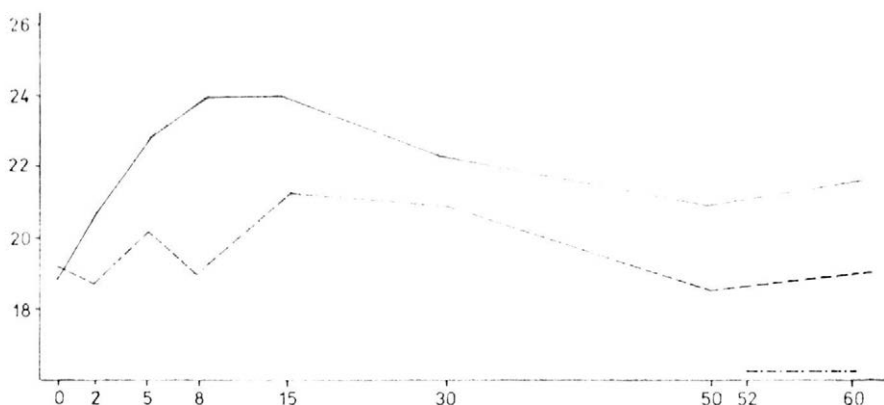
Zindep je sivá suspenzia elementárneho zinku a oxidu zinočnatého v rastlinnom oleji. Prípravok bol vyvinutý na Univerzite veterinárskeho lekárstva, katedre vnútorných chorôb prežuvavcov a ošipáných, v Košiciach.

Počet rozetujúcich B-lymfocytov sme stanovili u piatich pokusných a piatich kontrolných dojnic podľa Bianca a i. (1970) s nasledujúcimi úpravami: K samotnému stanoveniu sme použili suspenziu lymfoidných buniek o koncentrácii 10⁶ . ml⁻¹, ktorú sme pridali do RPMI-1640 vysýteného fetálnym kolostrálnym sérom, ako rozetujúce médium, namiesto pôvodne používaného Veronalového pufru. K tomuto množstvu sme pridali dvojnásobné množstvo suspenzie erytrocytov, amboceptoru a komplexu. Obsah skúmaviek sme premiešali a inkubovali. Po dvoch hodinách inkubácie sme sediment resuspendovali a kvapku sme Pasterovou pipetou preniesli do Bürkerovej komôrky. Počítali sme 200 lymfocytov. Za rozetujúcu bunku sme považovali každý lymfocyt, ktorý naviazal tri a viac erytrocytov. Každú vzorku sme opakovali dvakrát. Výsledok sme počítali podľa vzorca:

$$\% \text{ roziet} = \frac{\text{počet roziet} \cdot 100}{\text{lymfocyty (200)}}$$

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Hodnoty B-lymfocytov v 0. deň pokusu v obidvoch skupinách boli v súlade s fyziologickými hodnotami udávanými autormi Cimbal a i. (1984), t. j. $18,57 \pm 2,7 \%$. V priebehu pokusu bol v pokusnej skupine v sledovaných dňoch (2., 5., 8., 15., 30., 50. a 60. deň) zaznamenaný vzo-



1. Dynamika B-lymfocytov po aplikácii Zindepu gravidným krávam; os x — dni, os y — priemerné hodnoty; — pokus, — — — kontrola, — . — . — . — pôrod — The dynamics of B-lymphocytes after Zindep administration to gravid cows; x-axis — days; y-axis — average values; — trial, — — — control, — . — . — . — parturition

stup hladiny B-lymfocytov. Najvyššie priemerné hodnoty boli zistené v pokusnej skupine na 8. a 15. deň pokusu s priemernými hodnotami $23,9 \pm 2,83$ resp. $23,9 \pm 3,68$ %. Rozptyl priemerných hodnôt B-lymfocytov v kontrolnej skupine sa pohyboval do pôrodu od 18,6 do 21,3 %. Priemerné hodnoty B-lymfocytov u kráv po pôrode v pokusnej skupine boli 21,6 % a v kontrolnej skupine 19,0 %. U teliat v oboch sledovaných skupinách neboli zaznamenané výraznejšie rozdiely v počte B-lymfocytov. Priemerné hodnoty u týchto teliat boli v rozmedzí 9–12 % čo je v zhode s výsledkami, ktoré udávajú Cimbal a i. (1984). Autori udávajú hodnoty B-lymfocytov u zdravých teliat vo veku 2 týždne v rozmedzí 10–12 %. Hladina B-lymfocytov u teliat bola sledovaná EAC testom v 15. deň ich života. U novonarodených teliat dochádzalo pri separácii lymfocytov k značnej lýze erytrocytov. Je známe, že B-lymfocyty u novonarodených teliat sú nezrelé a v našom pokuse netvorili EAC rozety.

Pre štatistické vyhodnotenie výsledkov bol použitý *T*-test. Počet B-lymfocytov v pokusnej skupine bol štatisticky významný na 8. a 15. deň pokusu ($P < 0,01$ a $P < 0,05$) oproti hodnotám v kontrolnej skupine.

Z uvedeného vyplýva, že Zindep štatisticky veľmi výrazne ovplyvnil hladinu B-lymfocytov v krvi dojnic.

Štatistické vyhodnotenie hodnôt B-lymfocytov u teliat nebolo vyhodnotené pre malý počet odberov.

Literatúra

- BASHFORD, C. L. — ALDER, G. M. — MENESTRINA, G. — MICKLEM, K. J. — MURPHY, J. J. — PASTERNAK, C. A.: Membrane damage by haemolytic viruses, toxins, complement and other cytotoxic agents: A common mechanism blocked by divalent cations. *J. Biol. Chem.*, 261, 1986, s. 9300–9308.
- BIANCO, C. — PATRICK, R. — NUSSENZWEIG, V.: A population of lymphocytes bearing a membrane receptors for antigen-antibody-complement complexes. I. Separation and characterization. *J. exp. Med.*, 132, 1970, s. 702–720.
- CIMBAL, A. M. — KONARŽEVSKIJ, K. E. — TERTYŠNIK, V. I. — KORČAN, N. I. — SERBINENKO, G. N. — GAPIČ, A. A. — ČERNAJA, L. D.: Dinamika količestvennyh i funkcionálnych pokazateľej T i B lymfocytov u krupnovo rogatovo skota. *Veterinarija* (Kijev), 59, 1984, s. 65–69.
- COUSINS, J. R.: Molecular aspects of cooper and metabolism in animals and man. *Agric. Res. (Florida)*, 3, 1984, s. 41–43.
- LAURIE, S. H.: Transport and storage of metals. *J. Inter. Metab. Dis.*, 6, Suppl., 1, 1983, s. 9–14.
- MURRAY, D. N. — YETLEY, A. E.: Response to *Mycobacterium bovis* BCG vaccination in protein and zinc deficient guinea pig. *Infect. and Immun.*, 39, 1983, s. 755–761.
- PASTERNAK, C. A. — ALDER, G. M. — BASHFORD, C. L. — BUCKLEY, C. L. — MICKLEM, K. J. — PATEL, K.: Cell damage by viruses, toxins and complement: common features of pore — formation and its inhibition by Ca^{2+} . PASTERNAK, C. A. — QUINN, P. J. (eds): The molecular basis of movement through membranes. *Biochem. Soc. Symp.*, 50, 1985, s. 247–264.
- PASTERNAK, C. A. — BASHFORD, C. L. — MICKLEM, K. J.: Ca^{2+} and the interaction of pore-formers with membranes. *Proc. int. Symp. Struct. Interactions (Suppl. J. Biosci.)*, 8, 1985, s. 273–291.
- PASTERNAK, C. A.: Virus, toxin, complement: Common actions their prevention by Ca^{2+} or Zn^{2+} : *Bio Essays*, 6, 1987, s. 14–18.
- PRASAD, A. S. — ORTEGA, J. — BREWER, G. J. — OBERLEAS, D.: Trace elements in sickle cell disease. *Iama*, 235, 1975, s. 2396.
- SLABY, I. — BIRGER, L. — HOLMGREN, A.: T 7 DNA polymerase it not a zinc — metalloenzyme and the polymerase and exonuclease activities are inhibited by zinc ions. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 122, 1984, s. 1410–1417.
- SNYDER, S. L. — WALKER, R. I.: Inhibition on lethality in endotoxin — challenged mice treated with zinc chloride. *Infect. and Immun.*, 13, 1976, s. 998–1000.

TOCCO-BRADLEY, R. — KLUGER, M. J.: Zinc concentration and survival in rats infected with *S. typhimurium*. *Infect and Immun.*, 45, 1984, s. 332—338.
UNDERWOOD, E. J.: Trace elements in human and animal nutrition. 3rd ed. New York, Academic Press 1971.

Došlo dňa 19. 11. 1990

LEVKUTOVÁ, M. — BAJOVÁ, V. [University of Veterinary Medicine, Košice]: *The effects of the Zindep preparation on the level of B-lymphocytes in gravid cows*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5—6): 257—260.

In the present study the immunomodulation effects of the Zindep preparation, based on elementary zinc and zinc oxide, were followed on the humoral response of gravid cows in the 8th and 9th months, a week after parturition and in calves immediately after parturition and on day 15 of their life. An increased level of B-lymphocytes was observed on days 2, 5, 8, 15, 30 and 50 of the experiment. The highest average values were recorded in the experimental group on days 8 and 15 of the experiment. The mentioned values were statistically significant (*T*-test) at the level 0.05 and 0.01. The average values of B-lymphocytes in cows after parturition reached 22.3 % in the cows of the experimental group and 20.5 % in the control group. No pronounced differences in the number of B-lymphocytes in the calves of both followed groups were recorded. The statistical evaluation of the values obtained in the cows after parturition as well as in the calves was not carried out due to a small number of samplings.

cow; immunomodulation; EAC-rosettes; B-lymphocytes; Zindep

Adresa autoriek:

MVDr. Mária Levkútová, doc. MVDr. Viera Bajová, CSc., Univerzita veterinárneho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

VLASTNOSTI A REGULÁCIA GLUTAMÁTDEHYDROGENÁZY IZOLOVANEJ Z BACHORA KMEŇA *BACTEROIDES RUMINICOLA* SSP. *RUMINICOLA* U DANIELA

K. Holovská, V. Lenártová, E. Rybošová, A. Oriňák, M. Stachová

HOLOVSKÁ, K. — LENÁRTOVÁ, V. — RYBOŠOVÁ, E. — ORIŇÁK, A. — STACHOVÁ, M. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice; Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Vlastnosti a regulácia glutamátdehydrogenázy izolovanej z bachora kmeňa Bacteroides ruminicola ssp. ruminicola u daniela*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5—6): 261—268.

Bola purifikovaná a bližšie charakterizovaná glutamátdehydrogenáza (GDH) z bachorového kmeňa *B. ruminicola* u daniela zrážaním kryštallickým sítanom amoniakom a gelovou filtráciou na Sephadex G-200. Bola stanovená koenzýmová špecificita a K_m pre NADH, 2 oxoglutarát a NH_4^+ ($7,9 \cdot 10^5$ mol. dm⁻³; $1,12 \cdot 10^4$ mol. dm⁻³; $38,46$ mol. dm⁻³). pH optimum v smere redukčnej aminácie bolo 7,2. Ďalej bol sledovaný vplyv rôznych alternatívnych zdrojov dusíka pri rastových podmienkach a vplyv rôznych koncentrácií amoniaku v kultivačnom médiu (6 mmol. dm⁻³ a 3 mmol. dm⁻³) na aktivitu GDH a GS. Vyššia špecifická aktivita GDH a nižšia špecifická aktivita GS bola zistená pri vyššej koncentrácii amoniaku v kultivačnom médiu (6 mmol. dm⁻³). Opačná závislosť bola pozorovaná pri nižšej koncentrácii amoniaku (3 mmol. dm⁻³) v kultivačnom médiu.

daniel: glutamátdehydrogenáza; glutamínsyntetáza; baktérie; utilizácia amoniaku

Jednou z najdôležitejších vlastností bachorových mikroorganizmov je, že približne 80 % z nich využíva anorganický dusík amoniaku na *de novo* syntézu aminokyselín (Bryant a Robinson, 1962). Bachorové baktérie využívajú amoniak na syntézu aminokyselín pomocou glutamátdehydrogenázy (GDH, EC.1.4.1.2, EC.1.4.1.4) a glutamínsyntetázy (GS, EC. 6.3.1.2), (Erfl e a i., 1977).

GDH je konštitutívny enzým s nízkou afinitou pre amoniak, zatiaľ čo GS má pre amoniak vysokú afinitu (Smith a i., 1981; Meyer a i., 1967). Aktivity GDH a GS boli sledované v zmesných kultúrach bachorových baktérií (Erfl e a i., 1977) u baktérií adherovaných na epitel bachorovej steny a čiastočkách krmiva izolovaných súčasne s baktériami bachorovej tekutiny (Lenártová a i., 1985) a v niektorých čistých kultúrach bachorových baktérií (Griffith a Carlson 1974; Jenkinson a i., 1979; Pettipher a Lathan, 1979). Avšak vlastnosti a regulácia týchto enzýmov bola študovaná len u bachorového anaeróbu *Selenomonas ruminantium* (Smith a i., 1980, 1981) a *Succinivibrio dextrinosolvens* (Patterson a Hespel, 1988). Takmer úplne chýbajú údaje o vlastnostiach bachorových baktérií u voľne žijúcej zveri.

Cieľom tejto práce bola izolácia a bližšia charakterizácia GDH z bachorového bakteriálneho kmeňa *B. ruminicola* u daniela.

MATERIÁL A METÓDY

BAKTERIÁLNE KMENE A KULTIVAČNÉ PODMIENKY

V práci sme použili kmeň *B. ruminicola* ssp. *ruminicola*, ktorý bol izolovaný z bachora voľne zijúceho daniela a z bachora tefata. Kmeň sme kultivovali za anaeróbných podmienok (v atmosfére CO_2) v médiu nasledovného zloženia [na 1000 ml]: kvasničný extrakt 0,1 g [v ďalších experimentoch bol nahradený glutamátom sodným, NH_4Cl , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$]; celobióza 0,05 g; glukóza 0,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,05 g; CaCl_2 0,05 g; zmes UMK 3,1 ml; hemínový roztok 1 ml; NaHCO_3 4 g; cysteín HCl 0,5 g; roztok vitamínov 1 ml; stopové prvky 1 ml. Médium obsahovalo 6 mmol. dm^{-3} koncentráciu amoniakálneho dusíka (alebo 3 mmol. dm^{-3}). Inkubácia prebehla pri teplote 37 °C, 48 hodín.

IZOLÁCIA ENZÝMU

Bakteriálny kmeň sme centrifugovali pri 10 000 g 10 min, pri teplote 4 °C. Takto získanú bakteriálnu hmotu sme premyli roztokom, ktorý obsahoval v 1 l destilovanej vody: 5 g NaCl; 2,15 g CH_3COONa ; 0,35 g NaH_2PO_4 ; 1 g Na_2HPO_4 ; 0,15 g MgSO_4 . Po premytí sme baktérie opäť centrifugovali 10 min pri 10 000 g. Takto získané baktérie boli homogenizované ultrazvukom na dezintegrátore buniek (Soniprep 150, MSE Anglicko) po dobu 4 min ($f = 23 \text{ kHz}$, $A = 10 \text{ cm}$), za chladenia fadom v 0,01 mol. dm^{-3} trietanolamínovom pufrí pH = 8,0 s $4 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} EDTA, ktorý obsahoval 0,1 mol. dm^{-3} 2-merkaptóetanolu.

Zhomogenizované baktérie boli centrifugované pri 105 000 g 1 hodinu pri teplote 5 °C. Supernatant bol vysolený kryštalickým sýranom amonným [40–70%] pri teplote 4 °C a sediment po dialýze bol purifikovaný gélovou filtráciou na Sephadex G-200, ktorá prebiehala v 0,01 mol. dm^{-3} fosforečnanovom pufrí pH = 7,5, rýchlosťou 12 ml. h^{-1} .

STANOVENIE ENZÝMOVEJ AKTIVITY

GDH aktivita v smere redukčnej aminácie bola stanovená podľa Friedena [1961] na základe oxidácie NADH (NADPH) pri 340 nm. Vznikajúci NAD^+ (NADP^+) bol meraný na spektrofotometri Specord 40 M, UV VIS s temperačným zariadením. Inkubácia prebiehala v 0,01 mol. dm^{-3} trietanolamínovom pufrí pH = 8 s $4 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} EDTA v kremenných kyvetách (1 cm), vo vodnom kúpeli pri teplote 30 °C po dobu 10 minút.

Reakcia v smere oxidačnej deaminácie bola prevádzaná modifikovanou metódou podľa Chalupu a i. [1970].

Biosyntetická aktivita GS bola stanovená metódou podľa Deuela a i. [1970] z rýchlosti uvoľňovania Pi .

Koncentrácia bielkovín bola stanovená modifikovanou metódou Lowryho [Bailey, 1967] a odčítaná zo štandardnej krivky pripravenej z ľudského albumínu.

Enzýmové aktivity boli vyjadrené v nanokataloch na mg bielkoviny.

STANOVENIE pH OPTIMA

Stanovenie optimálneho pH sa previedlo v Britton-Robinsonovom pufrí [Březina a Zuman, 1956] v rozmedzí pH od 2,1–10,3.

STANOVENIE MICHAELISOVEJ KONŠTANTY

Vplyv koncentrácie substrátov (NADH, 2-oxoglutarátu, NH_4^+) na aktivitu čiastočne purifikovanej glutamátdehydrogenázy bol študovaný v 0,01 mol. dm^{-3} trietanolamínovom pufrí s $4 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} s optimálnym pH, pri teplote 30 °C. Michaelisova konštanta bola určená graficky podľa metódy Lineweavera a Burka.

KOENZÝMOVÁ ŠPECIFICITA

Bola sledovaná enzýmová aktivita GDH v smere redukčnej aminácie a oxidačnej deaminácie za účasti koenzýmov NADH, NADPH, NAD^+ a NADP^+ (tab. I). Ako je z tabuľky vidieť, GDH z bachorového bakteriálneho kmeňa *B. ruminicola* z daniela má najvyššiu aktivitu s koenzýmom NADH.

ZÁVISLOSŤ ENZÝMOVEJ AKTIVITY NA pH

pH závislosť bola sledovaná v rozmedzí pH 2,1–10,3 v Britton-Robinsonovom pufrí; optimum je pri pH = 7,2.

MICHAELISOVE KONŠTANTY

Bol sledovaný vplyv zvyšujúcej sa koncentrácie NADH, 2-oxoglutarátu a NH_4^+ na aktivitu GDH v smere redukčnej aminácie a boli určené Michaelisove konštanty (tab. II).

I. Koenzýmová špecificita GDH purifikovanej z bachorového kmeňa *B. ruminicola* (pri 6 mM koncentrácie amoniaku — kvasničný extrakt) — The coenzyme specificity of GDH isolated from the rumen strain *B. ruminicola* [for the 6 mM ammonia concentration — yeast extract]

Koenzýmy ¹	Percento aktivity ²	
	daniel ³	teľa ⁴
NADH	100,0	0
NAD^+	9,584	0
NADPH	0	100,0
NADP^+	0	41,68

¹coenzymes, ²percent activity, ³fallow deer, ⁴calf

II. Kinetické parametre pre GDH z bachorového bakteriálneho kmeňa *B. ruminicola* u daniela — Kinetic parameters for GDH isolated from the rumen bacterial strain *B. ruminicola* in fallow deer

Michaelisova konštanta ¹ (mol . dm ⁻³)	Substráty ²		
	NADH	2-oxoglutarát	NH_4^+
	$7,90 \cdot 10^{-5}$	$1,12 \cdot 10^{-4}$	$38,46 \cdot 10^{-3}$

¹Michaelis constant, ²substrates

III. Špecifická aktivita GDH z bachorového kmeňa *B. ruminicola* u daniela pri rôznych zdrojoch dusíka — The specific activity of GDH from the rumen strain *B. ruminicola* in fallow deer for different nitrogen sources

Zdroj ¹ [6 mmol . dm ⁻³]	GDH [nkat . mgb ⁻¹]	
	NADH	NAD ⁺
Kvasničný extrakt ²	30,36 ± 5,60	2,017 ± 0,557
NH ₄ Cl	4,27 ± 1,14	0,417 ± 0,174
/NH ₄ /2SO ₄	6,62 ± 2,16	0,584 ± 0,167

¹source, ²yeast extract

IV. Špecifická aktivita GDH a GS z bachorového kmeňa *B. ruminicola* u daniela pri rôznej koncentrácii amoniaku — The specific activity of GDH and GS isolated from the rumen strain of *B. ruminicola* in fallow deer for different ammonia concentrations

Koncentrácia amoniaku (zdroj kvasničný) ¹	GDH [NADH] [nkat . mgb ⁻¹]	GS [nkat . mgb ⁻¹]
6 mmol . dm ⁻³	30,36 ± 5,60	25,21 ± 3,56
3 mmol . dm ⁻³	0,349 ± 0,048	162,70 ± 20,78

¹ammonia concentrations [yeast source]

SPECIFICKÁ AKTIVITA GDH A GS PRI RÔZNYCH PODMIENKACH RASTU

Špecifická aktivita GDH (NADH) stanovená pri rôznych alternatívnych zdrojoch dusíka v kultivačnom médiu je v tab. III.

Špecifická aktivita GDH (NADH) a GS stanovená pri rôznej koncentrácii amoniakálneho dusíka v kultivačnom médiu je zhrnutá v tab. IV.

DISKUSIA

GDH a GS boli detegované v zmesných kultúrach bachorových baktérií (Erflé a i., 1977), u baktérií adherovaných na epitel bachorovej steny a čiastočkách krmiva, izolovaných súčasne s baktériami bachorovej tekutiny (Lenártová a i., 1985) a v niektorých čistých kultúrach bachorových baktérií (Griffith a Carlson, 1974; Jenkinson a i., 1979; Pettipher a Lathan, 1979). Napriek tomu však musíme konštatovať, že je veľmi málo známe o cestách asimilácie NH₄⁺ u anaeróbných baktérií bachora a úplne chýbajú informácie u voľne žijúcich zvierat.

Autori, ktorí sa zaoberali štúdiom bachorovej bakteriálnej populácie (mikroskopické štúdie) uvádzajú, že bachorová bakteriálna populácia

u domácich a voľne žijúcich prežúvavcov je podobná (Hobson a i., 1976). Vlastnosti a regulácia GDH a GS boli sledované len u bachorového anaeróbu *Selenomonas ruminantium* (Smith a i., 1981) a *Succinivibrio dextrinosolvens* (Patterson a Hespel, 1985).

Pretože k najdôležitejším a najčastejším zastúpeným mikroorganizmom v bachore pri všetkých diétach patria celulólytické baktérie a *B. ruminicola* (Bartoš, 1987), zamerali sme sa v našej práci na bližšiu charakterizáciu GDH, purifikovanú z bakteriálneho kmeňa *B. ruminicola* z daniela.

Člastočne purifikovaná GDH bola bližšie charakterizovaná. Jedným z prvých pozorovaní, ktoré boli prevádzané u GDH z rôznych zdrojov, bolo stanovenie jej koenzýmovej špecificity. Výsledky týchto stanovení viedli k zovšeobecneniu, že GDH z neživočíšnych zdrojov je špecifická iba pre jeden koenzým, na rozdiel od GDH zo živočíšnych zdrojov, ktorá je schopná utilizovať obidva koenzýmy (Holzer a Schneider, 1957; Sanwal 1961; Frieden 1964). I keď enzýmy z neživočíšnych zdrojov môžu využívať len jeden z dvoch koenzýmov, sú známe prípady, keď mikroorganizmy obsahujú NAD aj NADP špecifickú GDH. Dvojnásobná koenzýmová špecificita bola pozorovaná u viacerých baktérií, ako napr. *Mycoplasma laidlawii* (Yarrison a i., 1972), *Selenomonas ruminantium* (Smith a i., 1980), *B. fragilis* (Yamamoto a i., 1987).

V našej práci sme zistili u GDH purifikovanej z bachorového kmeňa *B. ruminicola* z daniela špecificitu ku koenzýmu NADH (tab. I), ktorá sa líšila od koenzýmovej špecificity GDH, purifikovanej z bachorového kmeňa *B. ruminicola* z teľaťa, kde bola zistená špecificita ku koenzýmu NADPH (tab. I).

Ďalej bol sledovaný vplyv zvyšujúcej sa koncentrácie NADH, 2-oxoglutarátu a NH_4^+ na rýchlosť enzymovej reakcie a bola stanovená K_m pre NADH, 2-oxoglutarát a NH_4^+ (tab. II). Kinetické vlastnosti GDH z rôznych zdrojov sa značne líšia. Michaelisove konštanty GDH sa pohybujú v rozpätí pre NADPH od 0,003–0,125 mmol. dm⁻³, pre 2-oxoglutarát od 0,95–7,4 mmol. dm⁻³, pre NH_4^+ od 0,25–16 mmol. dm⁻³ (Misono a i., 1985). Priemerná hodnota K_m pre NH_4^+ v zmesnej bachorovej populácii bola 33 mmol. dm⁻³ (Erfla a i., 1977). Nami stanovená K_m pre NH_4^+ , keď bol ako substrát použitý octan amónny, mala hodnotu 38,46 mmol. dm⁻³. Pretože maximálnu špecifickú aktivitu sme pozorovali v smere reduktívnej aminácie, vysoká K_m pre NH_4^+ , t. j. nízka afinita enzýmu k amóniovému iónu naznačuje, že asimilácia NH_4^+ cestou GDH u bachorového bakteriálneho kmeňa *B. ruminicola* u daniela, nastáva pravdepodobne až pri vysokých koncentráciách NH_4^+ .

V ďalších štúdiách sme sa zamerali na niektoré fyziologické aspekty asimilácie NH_4^+ , preto bol sledovaný vplyv rôznych alternatívnych zdrojov dusíka (pri 6 mmol. dm⁻³ koncentrácii) pri rastových podmienkach na aktivitu GDH (tab. III). Najnižšiu aktivitu sme pozorovali, keď bol použitý ako zdroj dusíka NH_4Cl a najvyššiu aktivitu sme zistili, keď v kultivačnom médiu bol použitý ako zdroj dusíka kvasničný extrakt. Už Schoffeniels (1966) poukázal na to, že použitý anión ako súčasť amóniového substrátu môže ovplyvniť chovanie enzýmu, pričom K_m pre jednotlivé substráty sa menili v závislosti od podmienok reakcií a prítomného aniónu. Najvyššie boli v prípade, keď bol použitý NH_4Cl ako substrát.

Pri sledovaní vplyvu rôznych koncentrácií amoniaku v kultivačnom médiu ($3 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ a $6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ — kvasničný extrakt) sme pozorovali pri $6 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$ koncentrácii amoniaku vysokú špecifickú aktivitu GDH a nízku špecifickú aktivitu GS (tab. IV). Opačnú závislosť sme pozorovali pri nízkej koncentrácii amoniaku v kultivačnom médiu ($3 \text{ mmol} \cdot \text{dm}^{-3}$). Tieto výsledky sú v zhode s údajmi viacerých autorov, ktorí uvádzajú, že mechanizmus asimilácie dusíka u čistých baktérií je priamo závislý na koncentrácii dusíka v médiu. Saito a i. (1988) uvádzajú, že regulácia GDH pomocou NH_4^+ sa vyskytuje aj u iných druhov *Bacteroides*. Pozorovali, že GDH sa vyskytuje v dvoch formách — „vysoko aktívna forma“ a „nízko aktívna forma“, ktoré sú závislé na koncentrácii amoniaku v rastovom prostredí, kde je limitovaná koncentrácia amoniaku a naopak.

Je teda pravdepodobné, že na rozdiel od GDH z *S. ruminantium*, u ktorého Smith a i. (1981) zistili, že aktivita nebola výrazne ovplyvnená rozdielnymi podmienkami rastu, a v prípade *E. coli*, kde GDH participuje na syntéze glutamátu dokonca aj pri veľmi nízkej koncentrácii amoniaku ($75 \mu\text{mol} \cdot \text{dm}^{-3}$), v prípade našich sledovaní u *B. ruminicola*, asimilácia NH_4^+ cestou GDH nastáva až pri vysokých koncentráciách amoniaku.

Literatúra

- BAILEY, L. J.: Techniques in protein chemistry. Sec. Rev. and Exp. Ed. Elsevier Publish. Comp., Amsterdam, London, New York, Chap. 17, 1967 s. 34.
- BARTOŠ, J.: Mikrobiológia a biochémia trávení v bacheru prežvýkavců. Praha, Academia 1987, s. 183.
- BŘEZINA, M. — ZUMAN, P.: Die polarographie in der Medizin. Biochem. u. Pharm., 1956, s. 652.
- BRYANT, M. P. — ROBINSON, J. M.: Some nutritional characteristics of predominant culturale ruminal bacteria. J. Bacteriol., 84, 1962, s. 605—614.
- DEUEL, F. T. — GINSBURG, A. — YEH, J. — SHELON, E. — STADTMAN, E. R.: Bacillus subtilis Glutamine Synthetase. Purification and physical charakterization. J. Biol. chem., 245, 1970, s. 5195—5205.
- ERFLE, J. D. — SAUER, F. D. — MATEDROAN, S.: Effect of ammonia concentration of activity of enzyme of ammonia assimilation and on synthesis of amino acids by mixed rumen bacteria in continuous culture. J. Dairy Sci., 60, 1977, s. 1064—1072.
- FRIEDEN, C.: Coenzyme binding observed by fluorescence enhancement, apparently unrelated to the enzymatic activity of glutamic dehydrogenase. Biochem. Biophys. Acta, 41, 1961, s. 428—430.
- FRIEDEN, C.: Relationship between subunit structure and activity for beef liver glutamic dehydrogenase. Brookhaven Symposia in Biology, 17, 1964, s. 98—116.
- GRIFFITH, C. J. — CARLSON, J.: Mechanizmus of ammonia assimilation in Streptococci. J. Gen. Microbiol., 82, 1974, s. 253—260.
- HOBSON, P. N. — MANN, S. O. — SUMMER, R.: Rummen micro-organism in red deer, hill sheep and reindeer in the Scottish Highlands. Proc. Roy. Soc. Edinburgh B., 75, 1976, s. 171—180.
- HOLZER, H. — SCHNEIDER, S.: Anreicherung und Trennung einer DPN — Spezifischen und einer TPN — Spezifischen glutaminsäure — dehydrogenase aus Hefe. Biochem. Z., 239, 1957, s. 361—396.
- CHALUPA, W. — CLARK, J. — OPLIGER, P. — LAVKER, R.: Ammonia metabolism in rumen bacteria and mucus from sheep fed soy protein or urea. J. Nutr., 100, 1970, s. 161—169.
- JENKINSON, H. F. — BUTTERY, P. J. — LEWIS, D.: Assimilation of ammonia by *Bacteroides amylophilus* in chemostat cultured. J. Gen. Microbiol., 113, 1979, s. 305—313.
- LENÁRTOVÁ, V. — HOLOVSKÁ, K. — HAVASSY, I. — JAVORSKÝ, P. — RYBOŠOVÁ, E.: Ammonia utilizing enzymes of adherent bacteria in the sheep's rumen. Phys. bohemoslov., 34, 1985, s. 514—517.

- MEYER, R. M. — BARTLEY, A. E. — DEYOE, C. W. — COLENBRANDER, V. F.: Feed processing I. Ration effect on rumen microbial protein synthesis and amino acid composition. *J. Dairy Sci.*, 50, 1967, s. 1328—1332.
- MISONO, H. — GOTO, N. — NAGASAKI, S.: Purification, crystallization and properties of NADP⁺ — specific glutamate dehydrogenase from *Lactobacillus fermentum*. *Agris. Biol. Chem.*, 49, 1985, s. 117—123.
- PATTERSON, J. A. — HESPELL, R. B.: Glutamine synthetase activity in ruminal *Bacterium succinivibrio* dextrinosolvens. *Appl. Envir. Microbiol.*, 50, 1985, s. 1014—1020.
- PETTIPHER, G. L. — LATHAN, M. J.: Production of enzymes degrading plant cell walls and fermentation of cellobiose by *Ruminococcus flavefaciens* in batch and continuous culture. *J. Gen. Microbiol.*, 110, 1979, s. 29—38.
- SAITO, H. — YANAMOTO, I. — ISHIMOTO, M.: Reversible inactivation of glutamate in *Bacteroides fragilis*: purification and characterization of high activity and low activity enzymes. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 34, 1988, s. 377—385.
- SANWAL, B. D.: Diphosphopyridine nucleotide and triphosphoridine nucleotide linked glutamin dehydrogenases of fusarium. *Arch. Biochem. Biophys.*, 93, 1961, s. 377—386.
- SCHOFFENIELS, E.: The activity of the glutamic acid dehydrogenase. *Arch. Internationales de physiologie et de biochemie.*, 74, 1966, s. 665—676.
- SMITH, C. J. — HESPELL, R. B. — BRYANT, M. P.: Ammonia assimilation and glutamate formation in the anaerobic *Selenomonas ruminantium*, *J. Bact.*, 141, 1980, s. 593 to 602.
- SMITH, C. J. — HESPELL, R. B. — BRYANT, M. P.: Regulation of urease and ammonia assimilatory enzymes in *Selenomonas ruminantium*. *Appl. Envir. Microbiol.*, 42, 1981, s. 89—96.
- YAMAMOTO, I. — ABE, A. — ISCHIMOTO, M.: Properties of glutamate dehydrogenase purified from *Bacterioides fragilis*. *J. Biochem.*, 101, 1987, s. 1391—1397.
- YARRISON, G. — YONE, D. W. — CHOULES, G. L.: Glutamate dehydrogenase from mycoplasma laidlawii *J. Bact.*, 110, 1972, s. 494—503.

Došlo dňa 10. 6. 1991

HOLOVSKÁ, K. — LENÁRTOVÁ, V. — RYBOŠOVÁ, E. — ORIŇAK, A. — STACHOVÁ, M. [University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice]: *The properties and control of glutamate dehydrogenase isolated from the rumen strain Bacteroides ruminicola ssp. ruminicola in fallow deer*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5—6): 261—268.

Very little information about NH₄⁺ assimilation paths in rumen anaerobic bacteria is available, and the information about wild animals is completely missing. Glutamate dehydrogenase (GDH) isolated from the rumen strain *B. ruminicola* in fallow deer was purified and its properties were specified after crystalline ammonium sulphate precipitation and gel filtration on Sephadex G-200. The properties of partly purified GDH were specified. One of the first specifications concerning GDH from various sources was to determine its coenzyme specificity. The results of these determinations enabled to draw a general conclusion that GDH from nonanimal sources was specific to only one coenzyme while GDH from animal sources could utilize the two coenzymes (Frieden, 1964). In our study the specificity of GDH isolated from the rumen strain *B. ruminicola* in fallow deer to the coenzyme NADH (Tab. I) was determined; this specificity was different from the coenzyme specificity of GDH isolated from the rumen strain *B. ruminicola* in calves where GDH was found to be specific to the coenzyme NADPH. The effect of increasing concentrations of NADH, 2-oxoglutarate and NH₄⁺ on the enzyme reaction velocity was also investigated and K_m was determined for NADH, 2-oxoglutarate and NH₄⁺ (Tab. II). The kinetic properties of GDH isolated from different sources are considerably variable. Michaelis constants for GDH range from 0.003 to 0.125 mmol/dm³ for NADPH (NADH), from 0.95 to 7.4 mmol/dm³ for 2-oxoglutarate, and from 0.25 to 16 mmol/dm³ for NH₄⁺ (Misono et al., 1985). The average value of K_m for NH₄⁺ in a mixed rumen population was 33 mmol/dm³ (Erfile et al., 1977). We determined the K_m value of 38.46 mmol/dm³ for NH₄⁺ when ammonium acetate was used as substrate. As the maximum specific activity was observed in the direction of reductive amination the high K_m value for NH₄⁺, that means the low enzyme affinity to the ammonium ion, suggests that the NH₄⁺ assimilation through GDH in the

rumen bacterial strain of *B. ruminicola* in fallow deer takes place only at high NH_4^+ concentrations. In the following studies we investigated some physiological aspects of NH_4^+ assimilation, and therefore we followed the effect of different alternative nitrogen sources (for 6 mmol/dm³ concentrations, yeast extract, NH_4Cl , $[\text{NH}_4]_2\text{SO}_4$) on the GDH activity with the given growth conditions (Tab. III). The high specific activity of GDH and low specific activity of GS (Tab. IV) were observed for the ammonia concentration of 6 mmol/dm³ when the effect of different ammonia concentrations in a culture medium (3 mmol/dm³ and 6 mmol/dm³ — yeast extract) was followed. An inverse relationship was observed for the low ammonia concentration in a culture medium (3 mmol/dm³). These results are in agreement with the data reported by many authors which show that the nitrogen assimilation mechanism in pure bacteria is directly dependent on the nitrogen concentration in a medium. Saito et al. (1988) report that the GDH control through NH_4^+ takes place also in other species of Bacteroides.

fallow deer; glutamate dehydrogenase; glutamate synthetase; bacteria; ammonia utilization

Adresy autorov:

Ing. Katarína Holovská, CSc., doc. ing. Viera Lenártová, CSc., RNDr. Andrej Oriňák, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice
MVDr. Elena Rybošová, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice
MVDr. Mária Stachová, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

J. Raszyk

RASZYK, J. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno): *Praktický imunologický kožní test u selat*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5–6): 269–279.

Praktický imunologický kožní test byl proveden u 48 odstavených selat o hmotnosti těla 15–30 kg. Test byl umístěn na hřbetní část těla, po předchozím vyholení štětín. Jeho princip spočívá v intradermální aplikaci fyziologického roztoku (900 μ g NaCl v 0,1 ml), histaminu (100 μ g v 0,1 ml) a fytohemaglutininu (0,1 ml; ÚSOL Praha). Za 20 min činila průměrná velikost pupenu 9,4 mm po aplikaci fyziologického roztoku a 20,5 mm po aplikaci histaminu. Za 24 h po aplikaci fytohemaglutininu byla průměrná velikost indurace 15,9 mm. U 4 selat (8,3 %) byla zjištěna vyšší reakce na histamin (pupen větší než 24 mm); považujeme je za selata s náchylností k alergickým stavům. U jiných 4 selat (8,3 %) byla zjištěna nižší reakce na fytohemaglutinin (indurace 13 mm a nižší); považujeme je za selata se sníženou buněčnou imunitou. Pouze u jednoho selete (2,1 %) byla zjištěna jak vyšší reakce na histamin, tak i nižší reakce na fytohemaglutinin. Veterinární lékař s asistentem mohou tímto testem denně v daném chovu vyšetřit 20 selat. Vypracovaný kožní test byl doporučen jako praktický a levný stájový test k orientačnímu hodnocení náchylnosti k alergickým stavům a buněčné imunity selat.

sele; stájový test; buněčná imunita; alergie; fytohemaglutinin; histamin

V současné době dochází, zejména v důsledku zhoršování kvality životního prostředí, ke snižování výkonnosti imunitního aparátu prasat. Ke zjišťování míry narušení imunitního systému lze použít náročné imunologické metody *in vitro* i poměrně jednoduché metody proveditelné *in vivo*. Mezi tyto druhé metody lze zařadit imunologické kožní testy.

V literatuře se nám podařilo zachytit deset prací, které pojednávají o imunologických kožních testech u selat. Dvořák a Věžník (1966) použili antivepřové sérum ke stanovení stupně reaktivnosti selat a López aj. (1972) dinitrofluorobenzen k hodnocení pozdní přecitlivělosti selat. Blecha aj. (1983, 1984, 1985), Mann a Hargis (1985), Blodgett aj. (1988), Rafai aj. (1988, 1989) a Kornegay aj. (1989) posuzovali buněčnou imunitu selat kožním testem s fytohemaglutininem.

V naší první práci (Raszyk a Pillich, 1989) jsme sledovali látky, které by bylo možné využít v imunologických kožních testech u selat. V následné práci (Raszyk a Pillich, 1990) jsme navrhli osnovu imunologického kožního testu u selat. Účelem předkládané práce je vypracovat levný a praktický stájový test vhodný k orientačnímu hodnocení buněčné imunity a náchylnosti selat k alergickým stavům.

Naši snahou bylo imunologický kožní test co nejvíce zjednodušit. Z toho důvodu jsme počet používaných látek snížili ze čtyř na tři (histamin, fytohemagglutinin a fyziologický roztok), dobu sledování jsme zkrátili ze 48 na 24 h a zahraniční přípravek fytohemagglutininu (Wellcome) jsme nahradili přípravkem čs. provenience (ÚSOL Praha).

MATERIÁL A METODY

Sledování byla provedena na 48 zdravých odstavených selatech (26 prasnic a 22 kanečků), kříženců plemene bílé ušlechtilé (BU) × landrase (L). Hmotnost těla se pohybovala od 15 do 30 kg a věk selat od 60 do 90 dnů.

Selata byla chována v experimentálních stájích Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně ve vyvýšených celoroškových kotcích. Byla krmena komerčními krmnými směsmi pro prasata (COS 2; A1) v sypkém stavu. Přístup k vodě (samočinné napáječky) i ke krmným směsím (samokrmítka) měla selata *ad libitum*. V jednom kotci (1,7 m × 1,3 m) byla umístěna tři selata.

Při provádění a posuzování kožních testů byla selata fixována provazem za horní čelist. Imunologické kožní testy byly umístěny na hřbetní části těla v úrovni hrudních obratlů. V místě aplikace byly nejdříve ostříhány štětiny, potom bylo aplikační místo namydleno holicím mýdlem a vyholeno holicím strojkem se žiletkou. Stříhání a holení bylo šetrné a pečlivé, aby nedošlo k poranění kůže.

K intradermální aplikaci byly používány injekční stříkačky o objemu 1 ml, s dělením válce po 0,05 ml (Chirana, Piešťany) a injekční jehly používané k tuberkulinaci prasat, délka hrotu jehly 4 mm (Chirana, závod Stará Turá). Při správně provedené intradermální injekci se selatům okamžitě po podání vytvoří v místě aplikace anemický pupen. Po vpravení objemu 0,1 ml je 6–8 mm velký. Anemický pupen vymizí do jedné až dvou minut po intradermální injekci.

Intradermálně byly selatům aplikovány tři látky: chlorid sodný, histamin a fytohemagglutinin, všechny v objemu 0,1 ml. Místa aplikace jednotlivých látek byla od sebe vzdálena 5 cm a byla předem označena tečkou 1% vodným roztokem genciánové violeti. Na připraveném aplikačním poli byly látky aplikovány od hlavy k zádi v pořadí chlorid sodný, histamin a fytohemagglutinin.

Jako negativní kontrola byl použit Natrium chloratum solutio isotonica Spofa (Biotika, Slovenská Lupča). V objemu 0,1 ml bylo 900 µg chloridu sodného.

Jako pozitivní kontrola byl použit 1% Histamin ad diagnosim Spofa (Léčiva, Praha). V objemu 0,1 ml bylo 100 µg histaminu. Aplikací histaminu se sledovala náchylnost selat k alergickým stavům.

K hodnocení imunity zprostředkované buňkami (testy *de novo*) byl použit fytohemagglutinin (PHA) čs. provenience Fytohemagglutinin, 5 ml (Ústav sér a očkovacích látek, Praha). Lyofilizovaný PHA se rozpustil v 5 ml Natrium chloratum solutio isotonica Spofa.

Výrobce fytohemagglutininu (ÚSOL, Praha) však neuvádí přesnou koncentraci PHA vzniklou rozpustěním lyofilizované substance. Sděluje pouze uživateli, že byla zvolena optimální koncentrace účinné látky (PHA), která stimuluje mitózy lymfocytů v kultuře.

Kožní reakce na intradermální aplikaci tří výše uvedených látek se posuzovala za 20 min a 24 hodin. Měřila se velikost pupenu (za 20 min) a indurace (za 24 h) ve dvou na sebe kolmých směrech a z naměřených hodnot se stanovil průměr (v mm). K měření se používalo průhledné pravítko se stupnicí dělenou po 1 mm.

Pro zachycení okraje pupenu či indurace se osvědčilo použití kuličkového pera. Tah perem směřoval od periferie ke zduření a tam kde byl zaznamenán odpor se označil okraj zduření. Takto bylo zduření označeno z několika směrů. Celkovým spojením jednotlivých označení byla přesně vymezena plocha pupenu či indurace (mezi nezměněnou kůží a okrajem zduření se vytvoří „žlábek“, kterým je špička kuličkového pera vedena po obvodu zduření).

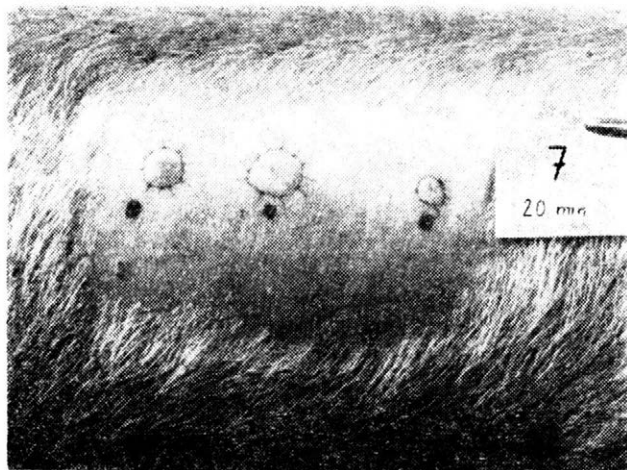
Průměrná velikost pupenu za 20 min po intradermální aplikaci chloridu sodného ($900 \mu\text{g}$ v $0,1 \text{ ml}$) činila $9,4 \pm 1,4 \text{ mm}$ (obr. 1).

Průměrná velikost pupenu za 20 min po intradermální aplikaci histaminu ($100 \mu\text{g}$ v $0,1 \text{ ml}$) činila $20,5 \pm 2,3 \text{ mm}$ (obr. 1).

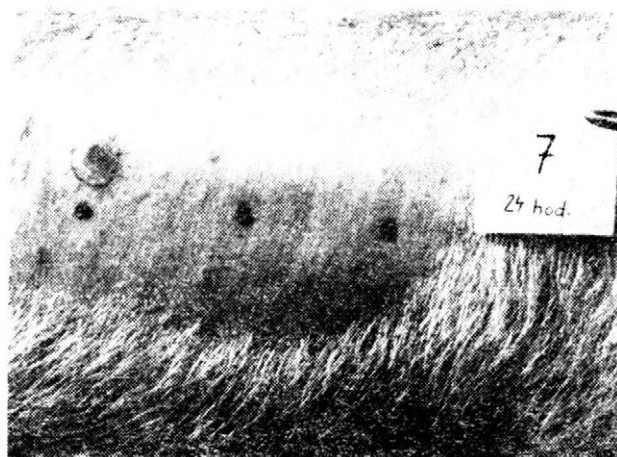
Průměrná velikost indurace za 24 h po intradermální aplikaci fytohemaglutininu ($0,1 \text{ ml}$; výrobce neudává přesnou koncentraci PHA) činila $15,9 \pm 2,0 \text{ mm}$ (obr. 2).

Za selata s náchylností k alergickým stavům (obr. 3) jsme považovali taková, která za 20 min po aplikaci histaminu měla velikost pupenu větší než 24 mm (bez odečtení velikosti pupenu negativní kontroly) nebo velikost pupenu větší než 14 mm (po odečtení velikosti pupenu negativní kontroly). Tyto hodnoty byly zjištěny u čtyř selat ($8,3 \%$).

Za selata se sníženou buněčnou imunitou (obr. 4) jsme považovali taková, která za 24 hodin po aplikaci fytohemaglutininu měla velikost indurace 13 mm a menší. Tyto hodnoty byly zjištěny u čtyř selat ($8,3 \%$), z toho u jednoho selete ($2,1 \%$) byla současně zjištěna i náchylnost k alergickým stavům.



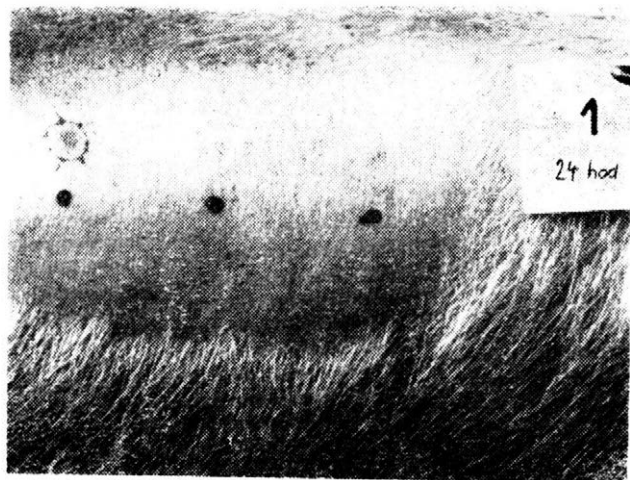
1. Obvyklá kožní reakce u selat, hodnocená za 20 min po intradermální aplikaci fyziologického roztoku (FR), histaminu (HIS) a fytohemaglutininu (PHA). Aplikováno zprava doleva v uvedeném pořadí. FR 11 mm (12×10), HIS $19,5 \text{ mm}$ (21×18), PHA se hodnotí za 24 h. Velikost pupenu je ohraničena spojenou čarou — The normal dermal reaction in piglets, evaluated in 20 minutes after the intradermal injection of a physiological saline (FR), histamine (HIS) and phytohaemagglutinin (PHA). The injections were applied from right to left in the given order. FR 11 mm (12×10), HIS $19,5 \text{ mm}$ (21×18), PHA is evaluated in 24 h. The size of the papule is denoted with a solid line



2. Obvyklá kožní reakce u selat, hodnocená za 24 h po intradermální aplikaci fyziologického roztoku (FR), histaminu (HIS) a fytohemagglutininu (PHA). Aplikováno zprava doleva v uvedeném pořadí. PHA 18 mm (20×16), FR a HIS se hodnotí za 20 min. Velikost indurace je ohraničena spojenou čarou — The normal dermal reaction in piglets, evaluated in 24 h after the intradermal injection of a physiological saline (FR), histamine (HIS) and phytohaemagglutinin (PHA). The injections were applied from right to left in the given order. PHA 18 mm (20×16), FR and HIS are evaluated in 20 min. The size of the induration is denoted with a solid line



3. Zvýšená kožní reakce selat na histamin, hodnocená za 20 min po intradermální aplikaci fyziologického roztoku (FR), histaminu (HIS) a fytohemagglutininu (PHA). Aplikováno zprava doleva v uvedeném pořadí. FR 9 mm (9×9), HIS 28 mm (30×26), PHA se hodnotí za 24 h. Velikost pupenu je ohraničena spojenou čarou — The increased dermal reaction of piglets to histamine, evaluated in 20 min after the intradermal injection of a physiological solution (FR), histamine (HIS) and phytohaemagglutinin (PHA). The injections were applied from right to left in the given order. FR 9 mm (9×9), HIS 28 mm (30×26), PHA is evaluated in 24 h. The size of the papule is denoted with a solid line



4. Snížená kožní reakce selat na fytohemaglutinin, hodnocená za 24 h po intradermální aplikaci fyziologického roztoku (FR), histaminu (HIS) a fytohemaglutininu (PHA). Aplikováno zprava doleva v uvedeném pořadí. PHA 11 mm (12×10), FR a HIS se hodnotí za 20 min. Velikost indurace je ohraničena spojenou čarou — The decreased dermal reaction of piglets to phytohaemagglutinin, evaluated in 24 hours after the intradermal injection of a physiological saline (FR), histamine (HIS) and phytohaemagglutinin (PHA). The injections were applied from right to left in the given order. PHA 11 mm (12×10), FR and HIS are evaluated in 20 min. The size of the induration is denoted with a solid line

DISKUSE

Atopická reakce u lidí, ale i u králíků, psů a skotu je způsobena protilátkami třídy IgE (Guerin-Faublee a Eiller, 1987), které se naváží na žírné buňky. Přemostění dvou molekul protilátek IgE vyvolávajícím alergenem spouští atopickou reakci. U prasat doposud nebyly protilátky IgE stanoveny, takže o možném výskytu a mechanismu atopických dějů u prasat nemáme znalosti.

Je však prokázáno, že u prasat probíhají anafylaktické reakce, a to cestou aktivace komplementu a vznikem anafylaktoidních faktorů C3a a C5a, které způsobí degranulaci žírných buněk a bazofilů. Šokovým orgánem u prasete je respirační a gastrointestinální trakt, hlavním mediátorem anafylaktické reakce je histamin. Klinicky se anafylaktoidní šok projevuje u prasat pruritem, cyanózou a kolapsem (Mueller a Noxon, 1990). Při aktivaci komplementu a následném vzniku anafylaktoidních faktorů C3a a C5a se však může uplatnit libovolný antigen proti němuž cirkuluje protilátka třídy IgG či IgM (Beneš aj., 1986). Anafylaktický šok může být vyvolán i tzv. paraalergickou reakcí. Například mellitinem z včelího jedu, některými antibiotiky, kodeinem, morfinem, dextranem, látkou 48/80 a dalšími látkami, které mohou přímo uvolňovat mediátory z žírných buněk či bazofilů (Beneš aj., 1986; Wenke aj., 1984).

Kožní reakce na intradermálně vpravený histamin nám může poskytnout cenné informace o sklonu (dispozici) jedince k alergickým projevům (K a l e n s k ý, 1978). U jedinců náchylných na alergické stavy se projevuje zvýšená kožní reakce na intradermálně vpravený histamin.

Při degranulaci žírných buněk a bazofilů dochází k uvolňování mediátorů přecitlivělosti, mezi které patří histamin, heparin, metabolity kyseliny arachidonové (prostaglandiny, tromboxany, leukotrieny), anafylaktický faktor chemotaktický pro eozinofily a faktor aktivující destičky. Uvolněné mediátory intenzívně moduluji mikroprostředí svého okolí. Zvýšená permeabilita usnadňuje lokální nahromadění plazmatických proteinů, neutrofilů, eozinofilů a lymfocytů. Aktivace trombocytů tromboxany navozuje vznik mikrotrombů (B e n e š aj. 1986). Z buněk zapojených do reakcí přecitlivělosti byly receptory pro histamin prokázány na žírných buňkách, bazofilech, neutrofilech a tlumivých T lymfocytech (B e n e š aj., 1986). Histamin uvolněný při degranulaci se jednak váže na bílkoviny krevní plazmy (histaminopexie) a jednak je rozkládán histaminázou uvolněnou z eozinofilů.

Nenavázaný či nerozložený histamin může ovlivňovat i další buňky v těle. Jeho molekulární účinky zprostředkují receptory histaminu označované H_1 a H_2 . Stimulace H_1 receptorů zvyšuje kontrakci hladkých svalů v bronších, permeabilitu cév a nitrobuňčnou hladinu cyklického guanosinu monofosfátu, dále stimuluje sekreci nosní sliznice a způsobuje chemotaxi leukocytů. Stimulace H_2 receptorů zvyšuje sekreci sliznic v dolních cestách dýchacích, způsobuje bronchodilataci, zvyšuje nitrobuňčnou hladinu cyklického adenosin monofosfátu a inhibuje chemotaxi neutrofilů a eozinofilů (M u e l l e r a N o x o n, 1990).

V literatuře jsme doposud nezaznamenali údaje o intradermální aplikaci histaminu selatům, za účelem zjištění jejich náchylnosti k alergickým stavům. Po intradermální aplikaci 50 μ g histaminu selatům činila průměrná velikost pupenu, posuzovaná za 20 min, 12 mm a po aplikaci 100 μ g histaminu byla 20 mm (R a s z y k a P i l l i c h, 1989, 1990). Požití vyšší koncentrace histaminu zvýšilo kožní reakci selat o 54 %. U 8 až 10 % vyšetřených selat byla zjištěna výrazně vyšší kožní reakce na histamin. Tato selata jsme považovali za selata s náchylností k alergickým stavům. Vzhledem ke skutečnosti, že histamin je hlavním mediátorem anafylaktické reakce u prasat (M u e l l e r a N o x o n, 1990), považujeme tyto nálezy za významné.

Lidé s projevenou přecitlivělostí (alergií) se od zdravých osob odlišují v některých parametrech vnitřního prostředí. Alergici obecně reagují nepřiměřeně s řadou antigenů či alergenů, které u normálních jedinců nevyvolávají odpověď vůbec nebo až po dlouhé expozici (N o u z a a J o h n, 1987). Dále je u nich častěji zjišťována kombinace HLA A_1B_8 a HLA $A_1B_8DW_3$ (P e t r ů a H o n z o v á, 1988), mají sníženou citlivost buněk na β -adrenergní podněty (B e n e š aj., 1986), jejich T lymfocyty nadměrně produkují interleukin 4 (H r u š k o v i č aj., 1990), v krvi mají vysoké hladiny IgE (N o v o t n ý aj., 1989), na bazofilech mají zvýšený počet receptorů pro IgE (N o u z a a J o h n, 1987), mají sníženou histaminopexi, tj. schopnost bílkovin krevního séra vázat volný histamin (S t r e j č e k a L o k a j, 1985) a mají nižší počet tlumivých T lymfocytů (N o u z a a J o h n, 1987). Lze předpokládat, že některé „znaky“ přecitlivělosti by se mohly vyskytovat i u prasat s náchylností k alergickým stavům.

Veterinární lékaři, zabezpečující veterinární péči ve velkochovech prasat, nás informovali o výskytu výrazných postvakcinačních reakcí u dospělých prasat po vakcinaci olejovou vakcínou proti slintavce a u selat po vakcinaci proti pleuropneumonii. Dále jsme byli informováni o výskytu postaplikačních anafylaktických reakcí u selat po intramuskulární aplikaci Feridextranu a o projevech přecitlivělosti u selat po dezinfekci povrchu jejich těla 1% roztokem manganistanu draselného. V literatuře jsme v roce 1990 zachytili údaje o přecitlivělosti selat na sóju (krmivová alergie), která je pravděpodobně způsobena glycinem a betakonglycinem (L i aj., 1990). Dále jsme zaznamenali údaje o přecitlivělosti selat na chloramfenikol (S u d h a n aj., 1990), v tomto případě jde pravděpodobně o paraaminoskupinovou přecitlivělost (současná přecitlivělost na chloramfenikol, prokain, sulfonamidy, kyselinu p-aminosalicylovou a fenacetin). Z dřívější literatury jsou nám známy případy fotosenzibilizace prasat vyvolané zkrmováním pohanky (fagopyrismus) či perorálním podáním anthelmintika fenothiazinu (S w a l e s aj., 1942). Lékaři využívají selata jako modelová zvířata, u kterých lze snadno vyvolat kontaktní alergickou dermatitidu oxazolonom. Na takto ošetřených selatech jsou pak testovány protizánětlivé účinky nově vyvíjených dermatologických přípravků (B i l s k i a T h o m s o n, 1984). Lze předpokládat, že stavy přecitlivělosti se u prasat vyskytují v mnohem větším rozsahu, než si připouštíme (unikají nám pro naši nevšímavost). Podle našeho soudu lze v nejbližším období očekávat nárůst alergických stavů u prasat.

V této souvislosti je významný poznatek, že u dětí-alergiků nastávají častěji po očkování výrazné nežádoucí reakce, než u dětí-nealergiků (G e t l í k, 1989). Při sledování imunologického profilu u dětí se závažnými postvakcinačními reakcemi se zjistilo, že mají v krvi značně zvýšené hladiny IgA a v anamneze doložené alergické onemocnění (B e r g m a n n o v á aj., 1988). Uvedené poznatky dokládají souvislost mezi imunitním stavem dítěte a následnou postvakcinační reakcí.

Fytohemagglutinin (PHA) je lektin izolovaný z fazole (*Phaseolus vulgaris*) a stimuluje především T lymfocyty. Reaguje s cukernými znaky povrchových lymfocytových glykoproteinů a aktivuje lymfocyty bez zapojení receptoru pro antigen. Receptor CD₃, přivádějící stimulující podněty do T lymfocytu je místem, kde se uskutečňuje aktivační zásah PHA (N o u z a a J o h n, 1987). Aktivace T lymfocytu antigenem či nespecifickým mitogenem (PHA) se projeví zvýšením jeho metabolické aktivity, syntézou proteinů a enzymů, tvorbou blastů a mitotickým dělením (P r o c h á z k o v á a J o h n, 1986). Aktivované T lymfocyty rovněž uvolňují lymfokiny, které ovlivní různé druhy leukocytů, jež pak následně prostupují do těsné blízkosti aktivovaných T lymfocytů a podílí se na vytváření buněčného infiltrátu. Histologické vyšetření kožní reakce (indurace) selat na intradermálně aplikovaný PHA prokázalo, že celulární odpověď byla převážně mononukleární (B l e c h a aj., 1983).

V literatuře jsme doposud našli osm prací, jejichž autoři využili intradermální test s PHA k hodnocení buněčné imunity u selat (B l e c h a aj., 1983, 1984, 1985; M a n n a H a r g i s, 1985; B l o d g e t aj., 1988; R a f a i aj., 1988, 1989; K o r n e g a y aj., 1989). Intradermálně byly selatům aplikovány různé objemy (0,1–1,0 ml), s odlišnou koncentrací PHA (25–250 µg), na různá místa povrchu těla (mediální část slabiny, předkolenní řasa, krajina břišní a hřbetní). Byla měřena tloušťka kožní řasy

před aplikací PHA a za 24 h (48 h). K měření tloušťky kožní řasy byly používány elektrické kontaktní kalipery, které se odlišovaly velikostí kontaktní plochy (3–10 mm) a vyvíjeným tlakem na 1 mm² kůže selat (10–28 g).

Z poznatků, které výše uvedení pracovníci zveřejnili, považujeme za nejvýznamnější tři: 1. prokázání vysoké shody mezi reakcí lymfocytů na PHA *in vitro* (test blastické transformace lymfocytů) a kožní reakcí selat na PHA *in vivo* (intradermální test); 2. důkaz, že opakovaná intradermální aplikace PHA jednotlivým selatům nemění jejich kožní reakci na PHA; 3. zjištění, že reakce na intradermální aplikaci PHA dosahuje u selat svého vrcholu již za 24 h (Blecha aj., 1983; Mann a Hargis, 1985; Blodgett aj., 1988).

Po intradermální aplikaci 100 µg PHA selatům činila průměrná velikost indurace, posuzovaná za 24 h, 8 mm a po aplikaci 200 µg PHA byla 13 mm (Raszyk a Pillich, 1989, 1990). Použití vyšší koncentrace PHA zvýšilo kožní reakci selat o 62 %. U 7–10 % vyšetřených selat jsme zjistili výrazně sníženou kožní reakci na PHA, tato selata jsme považovali za selata se sníženou buněčnou imunitou. Pouze u 2–3 % vyšetřovaných selat byla současně zjištěna jak zvýšená kožní reakce na histamin, tak i snížená kožní reakce na PHA.

V předkládané práci jsme nahradili dovozový PHA (Wellcome) čs. přípravkem (ÚSOL, Praha). Tím jsme chtěli zajistit jeho všeobecnou dostupnost, která by umožňovala praktické provádění imunologických kožních testů u selat. PHA (ÚSOL, Praha), na rozdíl od zahraničního přípravku PHA, nemá uvedenou přesnou koncentraci PHA, získanou naředěním lyofilizovaného PHA fyziologickým roztokem. Intradermální aplikace 0,1 ml naředěného PHA (ÚSOL, Praha) vyvolává u selat výraznější kožní reakci (16 mm), než koncentrace 100 µg a 200 µg PHA anglické provenience. Rovněž využitím čs. přípravku PHA jsme u 8 % selat doložili sníženou kožní reakci na PHA (z toho u 2 % selat současně zvýšenou kožní reakci na histamin). Lze doporučit používání stejné výrobní šarže PHA po delší dobu (expirace činí 12 měsíců).

Jako kožní reakci na intradermálně aplikované přípravky jsme měřili velikost pupenu (za 20 min) či indurace (za 24 h). Tento způsob je obvyklý v humánní medicíně. K tomuto způsobu nás vedly následující důvody. Jestliže jsme jednotlivým selatům aplikovali intradermálně PHA na kůži hřbetu a současně i do předkolenní řasy, tak jsme zjistili, že měření ztlustění kožní řasy (posuvným kutimetrem, který obvykle používají terénní veterinární lékaři při tuberkulinačních zkouškách) je méně přesné, než měření velikosti pupenu či indurace. Měření ztlustění kožní řasy nedovoluje zaznamenat jemné odchylky kožních reakcí selat, které jsou zřejmě při hodnocení velikosti pupenu či indurace. Další důvod je ten, že na přehledném aplikačním poli vidíme vedle sebe rozvoj i odeznívání kožní reakce na všechny tři používané přípravky (fyziologický roztok, histamin, fytohemaglutinin), a to po celou dobu sledování (24 h). Třetí důvod je ten, že velikost pupenu a indurace můžeme překreslit na celofánový proužek, a tak nález trvale dokumentovat.

V ČSFR se v současné době kalipery k určování tloušťky kožní řasy nevyrábí. Firma Somet v Teplicích je přestala vyrábět již před řadou let. Z toho důvodu se příležitostně dováží Harpendenův a Bestův kaliper, které však zdaleka nestačí pokrýt zvýšenou poptávku čs. zdravotnic-

kých zařízení, kde se především využívají k určování stupně obezity u rizikových pacientů.

Do publikace jsme zařadili i čtyři fotografie, kterými jsme chtěli dokumentovat „obvyklé“ kožní reakce u selat i reakce odchylné, to jest zvýšenou kožní reakci na histamin a sníženou kožní reakci na fytohemaglutinin. Vzhledem ke skutečnosti, že v dosud zachycených publikacích o imunologických kožních reakcích u selat nejsou ani v jedné práci uvedené fotografie popisovaných kožních reakcí, jde s největší pravděpodobností o první zveřejněné fotografie imunologických kožních testů u selat.

Praktický imunologický kožní test je určen k orientačnímu hodnocení náchylnosti selat k alergickým stavům a jejich buněčné imunity. Lze jej provádět opakovaně u těchže selat.

Hlavní indikaci pro jeho využití spatřujeme v chovech prasat, kde se u selat projeví reakce přecitlivělosti, a to: po aplikaci některých vakcín, preventivních či terapeutických přípravků; po příjmu některých komponent krmných směsí; po použití některých dezinfekčních prostředků; po dotyku s některými náterovými či izolačními hmotami; jako reakce na napadení ektoparazity atd. Dále jej lze využít v chovech prasat s podezřením na buněčnou imunodeficienci. To jsou chovy selat s těžkými a neobvyklými průběhy infekčních onemocnění, s opakovanými bakteriálními infekcemi v daném chovu, s infekcemi způsobenými podmíněně patogenními mikroorganismy.

Obecnou kontraindikací jsou akutní exacerbace základního onemocnění či jakékoliv jiné akutní a infekční onemocnění u selat. Dále jsou kontraindikací choroby selat, u kterých by patologické změny na kůži znemožnily správné provedení a odečítání kožních reakcí.

Veterinární lékař s jedním asistentem mohou tímto testem denně vyšetřit v daném chovu 20 selat. Náklady na vyšetření jednoho selete činí 2,30 Kčs (cenové relace v roce 1990).

Navržený praktický imunologický kožní test je u selat snadno proveditelný, je levný a je založen na běžně dostupných přípravcích čs. provenience. Lze ho použít k orientačnímu hodnocení náchylnosti k alergickým stavům a buněčné imunity selat. U 8 % vyšetřovaných selat jsme jím doložili odchylné imunologické kožní reakce, projevující se zvýšenou kožní reakcí na histamin (náchylnost k alergickým stavům) či sníženou kožní reakcí na fytohemaglutinin (snížená buněčná imunita). Selata s odchylnými kožními reakcemi mohou představovat rizikovou část subpopulace prasat, která se obtížněji vyrovnává se zátěží velkochovů prasat.

Literatura

- BENEŠ, S. aj.: Alergologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1986, 416 s.
BERGMANNOVÁ, V. — STEHLÍKOVÁ, J. — DOMORÁZKOVÁ, E. — DAŇKOVÁ, E.: Sledování skupiny dětí se závažnými reakcemi po smíšené očkovací látce proti záškrtu, tetanu a dávivému kašli z hlediska jejich imunologického profilu. Čs. Pediat., 43, 1988, s. 599—601.
BILSKI, A. J. — THOMSON, D. S.: Allergic contact dermatitis in the domestic pig. A new model for evaluating of the topical anti-inflammatory activity of drugs and their formulations. Brit. J. Dermatol., 111, 1984 (Suppl. 27), s. 143.
BLECHA, F. — POLLMANN, D. S. — NICHOLS, D. A.: Weaning pigs at an early age decreases cellular immunity. J. anim. Sci., 56, 1983, s. 396—400.

- BLECHA, F. — POLLMANN, D. S.: Phytohaemagglutinin skin-test responses in pigs: What measurements are necessary. *J. anim. Sci.*, 59, 1984 (Suppl. 1), s. 319.
- BLECHA, F. — POLLMANN, D. S. — NICHOLS, D. A.: Immunologic reactions of pigs regrouped at or near weaning. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 1934—1937.
- BLODGETT, D. J. — KORNEGAY, E. T. — SCHURIG, G. G. — MELDRUM, J. B. — BONNETTE, E. D.: Vitamin E — selenium and immune response to selected antigens in swine. *Nutr. Rep. Int.*, 38, 1988, s. 37—43.
- DVOŘÁK, M. — VĚŽNÍK, Z.: Použitelnost intradermálního testu s antivepřovým sérem pro stanovení stupně reaktivnosti organismu selat. *Docum. veter. (Brno)*, 5, 1966, s. 31 až 36.
- GETLÍK, A.: Očkovanie detí s imunodeficientom a s inými chorobnými stavmi. *Čs. Pediat.*, 44, 1989, s. 238—239.
- GUÉRIN-FAUBLEE, V. — EILLER, M. CH.: Les anticorps anaphylactiques chez les mammifères domestiques: revue bibliographique. *Revue Méd. vétér.*, 138, 1987, s. 607—617.
- HRUŠKOVIČ, I. — PÁLENÍKOVÁ, O. — BREZINA, M. — KAYSEROVÁ, H.: Súčasně názory na reguláciu syntézy IgE. *Čs. Pediat.*, 45, 1990, s. 279—282.
- KALENSKÝ, J.: Dermatologická propedeutika. 1. vyd. Praha, Univerzita Karlova ve SPN 1978, 108 s.
- KORNEGAY, E. T. — van HEUGTEN, P. H. G. — LINDEMANN, M. D. — BLODGETT, D. J.: Effects of biotin at high copper levels on performance and immune response of weanling pigs. *J. anim. Sci.*, 67, 1989, s. 1471—1477.
- LI, D. F. — NELSEN, J. L. — REDDY, P. G. — BLECHA, F. — HANCOCK, J. D. — ALLEE, G. L. — GOODBAND, R. D. — KLEMM, R. D.: Transient hypersensitivity to soybean meal in the early-weaned pig. *anim. Sci.*, 68, 1990, s. 1790—1799.
- LÓPEZ, V. — STARKEY, D. D. — SMITH, N. J.: Studies in infantile marasmus. Impairment of immunologic responses in the marasmic pig. *Pediat. Res.*, 6, 1972, s. 779—788.
- MANN, D. — HARGIS, J. W.: Intradermal testing of swine to monitor changes in delayed hypersensitivity response. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, s. 2363—2365.
- MUELLER, D. L. — NOXON, J. D.: Anaphylaxis: pathophysiology and treatment. Continuing Education for the Practicing Veterinarian, 12, 1990, s. 157—170.
- NOVOTNÝ, F. aj.: Obecná dermatologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1989, 312 s.
- NOUZA, K. — JOHN, C.: Imunologie zdraví a nemoci. 1. vyd. Praha, Avicenum 1987, 356 s.
- PETRŮ, V. — HONZOVÁ, S.: Polinóza — 1. část. *Čs. Pediat.*, 43, 1988, s. 32—35.
- PROCHÁZKOVÁ, J. — JOHN, C.: Vybrané diagnostické metody lékařské imunologie. 1. vyd. Praha, Avicenum 1986, 268 s.
- RAFAI, P. — TUBOLY, S. — JAKAB, L. — GLÁVITS, R. — MOLNÁR, L. — PAPP, Z. — BIRÓ, H.: A tartós ACTH — kezelés hatása a növendék sertések védehező mechanizmusára. I. Az ACTH — kezelés hatása a humoralis immunválaszra és néhány cellularis immunparaméterre. *Magy. Allatorv. Lap.*, 43, 1988, s. 683—689.
- RAFAI, P. — TUBOLY, S. — BIRÓ, H. — JAKAB, L. — PAPP, Z. — MOLNÁR, L.: Effect of selenium, vitamin E and riboflavin supplementation of the humoral and cell-mediated immune responses of growing pigs. *Acta Veter. Hung.*, 37, 1989, s. 201—217.
- RASZYK, J. — PILLICH, J.: Imunologické kožní testy u selat. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989, s. 275—286.
- RASZYK, J. — PILLICH, J.: Jednoduchý imunologický kožní test u selat. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990, s. 553—560.
- STREJČEK, J. — LOKAJ, J.: Imunologie v klinické praxi. 1. vyd. Praha, Avicenum 1985, 293 s.
- SUDHAN, N. A. — THAKUR, D. K. — VERMA, B. B.: Hypersensitivity reaction in pigs due to chloramphenicol. *Indian veter. J.*, 67, 1990, s. 559—560.
- SWALES, W. E. — ALBRIGHT, W. D. — FRASER, L. — MUIR, G. W.: Photosensitization produced in pigs by phenothiazine. *Can. J. comp. Med. veter. Sci.*, 6, 1942, s. 169.
- WENKE, M. — MRAZ, M. — HYNIE, S.: Farmakologie pro lékaře. 1. vyd. Praha, Avicenum 1984, 1316 s.

Došlo dne 19. 8. 1991

RASZYK, J. (Veterinary Research Institute, Brno): *A practical immunological skin test in piglets*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5—6): 269—279.

At present immune system performance in pigs is decreasing, particularly as a result of environment quality deterioration. Immunological skin tests can also be used to determine the degree of immune system impairment in piglets. A practical immuno-

logical skin test was carried out in 48 weaned piglets with the body weight of 15–30 kg. The test was located on the piglets' backs after bristles had been shaved off. The test consists in intradermal injections of a physiological saline (900 μ g NaCl in 0.1 ml), histamine (100 μ g in 0.1 ml) and phytohaemagglutinin (0.1 ml; Institute of Sera and Vaccines, Praha). The size of the papule (in 20 minutes) and the size of the induration (in 24 hours) were measured in two perpendicular directions, and the mean value (in mm) was calculated from the measured data. In 20 minutes the average size of the papule was 9.4 mm after the application of the physiological saline and 20.5 mm after histamine application (Fig. 1). In 24 hours after phytohaemagglutinin application the average size of the induration was 15.9 mm (Fig. 2). In twenty minutes the increased reaction to histamine (the papule larger than 24 mm) was observed in four piglets (8.3 %); these piglets show the predisposition to allergic diseases (Fig. 3). In another four piglets (8.3 %) the decreased reaction to phytohaemagglutinin (induration of 13 mm and less) was observed in 24 hours; these are piglets with the decreased cellular immunity (Fig. 4). The increased reaction to histamine and the decreased reaction to phytohaemagglutinin were found only in one (2.1 %). Piglets with abnormal dermal reaction can represent the risky part of the pig subpopulation which adapt themselves less easily to the stress on large pig farms. A veterinary surgeon and his assistant can examine by this test 20 piglets in the herd. This skin test was recommended as a practical cheap screening test for use in pig herds to evaluate preliminarily the predisposition to allergic diseases and cellular immunity of piglets.

piglet; screening test for use in pig herds; allergy; phytohaemagglutinin; histamine

Adresa autora:

MVDr. Josef R a s z y k, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 7/92 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Holý L., Vaňatka F., Lopatářová M.: Sestup vajíček a embryí u krav superovulovaných sérovým gonadotropinem

Brouček J., Gajdošík D., Letkovičová M., Kovalčík K.: Působenie nadmerného ultrafialového žiarenia na sodík, draslík, vápnik a aldosteron v plazme teliat

Nitray J., Sirotkin A. V., Poltársky J.: Produkcia progesterónu a testosterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných po aplikácii nonapeptidových hormónov *in vitro*

Raszyk J., Dočekalová H., Rubeš J., Navrátil S., Mašek J., Rodák L.: Experimentální chronická intoxikace prasat fenylmerkurichloridem

Bekeová E., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Účinok opakovanej aplikácie karbetocínu (Depotocin, Spofa) v prvých dňoch po pôrode na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a na koncepciu bahníc

Toporčák J., Legáth J., Kulková J.: Koncentrácia ortute vo vzorkách včiel a medu, pochádzajúcich z priemyselne exponovanej a neexponovanej oblasti

INSTITUTE OF SCIENTIFIC AND TECHNICAL INFORMATION FOR AGRICULTURE

Slezská 7, CS 120 56 Praha 2, ČSFR, FAX.: (004222) 25 70 90

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Academy of Agricultural Sciences of the CSFR. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with summaries in English or in English with summaries in Czech or Slovak, except *Scientia agricultura bohemoslovaca*, which is in the English language only.

Subscription to these journals should be sent to the above-mentioned address.

Periodical	Number of	
	issues per year	pages
Rostlinná výroba (Plant Production)	12	96
Veterinární medicína (Veterinary Medicine)	12	64
Živočišná výroba (Animal Production)	12	96
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12	96
Lesnictví (Forestry)	12	96
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	12	64
Ochrana rostlin (Plant Protection)	4	80
Genetika a šlechtění (Genetics and Plant Breeding)	4	96
Zahradnictví (Horticulture)	4	80
Potravinářské vědy (Food Sciences)	4	80
<i>Scientia agriculturae bohemoslovaca</i>	4	96
Meliorace (Soil Science and Amelioration)	2	80
Sociologie zemědělství a venkova (Sociology of Agriculture and Countryside)	2	80

Upozorňujeme na zajímavou publikaci

Nauka o hospodaření zemědělského podniku

(doslovný překlad německé publikace
Leiber F. und Koll.: Landwirtschaftliche
-Betriebswirtschaftslehre)

Publikace má téměř 400 stran, stojí 60 Kčs
a je možno ji objednat na adrese:

Český institut agrární ekonomiky
pí H. Šmejkalová
Těšnov 17
117 05 Praha 1

T. Vendrák, D. Jalč, I. Zelenák, P. Široka

VENDRÁK, T. — JALČ, D. — ZELENÁK, I. — ŠIROKA, P. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Vplyv defaunácie na fermentáciu in vitro*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5—6): 283—292.

V umelom bachore (Rusitec) sme sledovali vplyv defaunácie na fermentáciu dvoch rôznych diét pozostávajúcich zo sena (100 %) resp. sena a jačmeňa (80 % + 20 %). V kontrolných nádobách, kde nebola prevedená defaunácia, sme sledovali prežívanie, ako aj skladbu prvkov v *in vitro* systéme. V experimente sme zaznamenali signifikantné zníženie produkcie celkových UMK, acetátu, butyrátu, stráviteľnosti sušiny, ako aj jednotlivých komponentov vlákniny. Ďalej sa znížila produkcia CH_4 , CO_2 , NH_3-N v effluente a ATP. Zaznamenali sme zvýšenie produkcie propionátu, produkcie mikrobiálneho dusíka na kg fermentovanej organickej hmoty, celkovej bakteriálnej hmoty na kg strávenej sušiny. Hodnoty stechiometrických ukazovateľov a účinnosti mikrobiálnej proteosyntézy (Y_{ATP}) sa tiež zvýšili. Celkový počet bachorových prvkov, ako aj počty jednotlivých druhov v *in vitro* systéme boli výrazne vyššie pri diéte s jačmeňom.

Rusitec; protozoa; defaunácia; fermentácia *in vitro*

Bachorovú fermentáciu možno charakterizovať ako komplexný systém interakcií medzi jednotlivými zložkami bachora. Pri objasňovaní funkcie tohto zložitého prírodného fermentora a jeho významu pre hostiteľské zviera, sa často používajú rôzne manipulačné zásahy. Jedným z takýchto zásahov je aj odstránenie protozoí z fermentačného prostredia a na základe zmien, ktoré takýto zákrok vyvolá, posudzovať ich význam pre bachorovú fermentáciu.

Podiel prvkov na mikrobiálnej biomase v bachore predstavuje 40 až 80 % (Harrison a Mc Allan, 1980), ale ich význam pre hostiteľské zviera napriek intenzívnemu štúdiu v posledných rokoch (Hungate, 1966; Ushida a i., 1986; Hobson a i., 1988; Van Nevel a Demeyer, 1988) nie je celkom jasný. V niektorých prípadoch protozoa mali pozitívny vplyv na rast zvierat (Christiansen a i., 1965), v iných mali negatívny vplyv na ich produkciu (Bird a Leng, 1978) a v niektorých nemali žiadny vplyv (Eadie, 1962). Zdá sa však, že názory, podľa ktorých protozoa nedávajú hostiteľovi žiaden úžitok, sú dnes už prekonané.

Cieľom práce bolo sledovať fermentáciu defaunovaného prostredia v umelom bachore Rusitec.

Fermentácia dvoch kŕmnych dávok (seno 100 % a seno + jačmenný šrot 80:20 %) bola uskutočnená v umelom bachore (Rusitec), ako ho opisuje Czerkawski a Breckenridge [1977]. Použili sme štyri fermentačné nádoby (V) s objemom 800 ml a prietokom umelých slín (Mc Dougallov pufer) asi 800 ml za deň. V prvej a druhej nádobe sa fermentovalo lúčne seno v množstve 14,624 g DM, v tretej a štvrtej nádobe lúčne seno + jačmenný šrot v množstvách 11,7 resp. 2,77 g DM. Druhú a štvrtú nádobu sme defaunovali pridaním 0,8 g Aerosolu OT (sódny dioctylester jantársulfónovej kyseliny) BHD Chemicals Ltd. v dvoch dávkach v dvoch po sebe idúcich dňoch. Diéty boli uzavreté v nylonových vrecúškach o veľkosti ok 200 mikrónov.

Bachorový obsah sme získali od dospelých baranov plemena merino, vybavených permanentnou bachorovou fistulou. Pomer sena a jačmenného šrotu bol u zvierat rovnaký ako v *in vitro* pokuse (100 %, resp. 80 % : 20 %) a zvieratá mali voľný prístup k vode a soli.

Experiment trval 12 dní, pričom prvých 6 dní sa stabilizovali podmienky fermentácie v Rusitecu (tzv. steady state perióda). Odbery vzoriek a meranie potrebné pre štúdium fermentácie boli uskutočnené v 6. až 12. deň. Aby bola zabezpečená izonitrogénosť diét (13 % CP v oboch diétach) bolo potrebné dodať 342,88 mg močoviny do 1 l Mc Dougallovho pufru (V_1 a V_2), resp. 307,25 mg (V_3 a V_4). Inkubačná procedúra a príprava vzoriek na analýzy bola uskutočnená metódou, ktorú stanovili Czerkawski a Breckenridge [1977]. Koncentrácia unikavých mastných kyselín (UMK) v effluente bola stanovená metódou plynovej chromatografie (Czerkawski, 1976) za použitia kyseliny krotónovej ako interného štandardu na chromatografii Perkin-Elmer 8500. Objem produkovaných plynov bol meraný prietokovým plynometrom a plyny boli analyzované plynovým chromatografom Chrom 4 metódou, ktorú stanovili Czerkawski a Claperton [1968]. Amoniakálny dusík ($\text{NH}_3\text{-N}$) v effluente bol stanovený metódou podľa autorov Conway a O'Malley [1942]. Nestrávené zbytky krmiva po premytí Mc Dougallovým pufrom boli sušené do konštantnej hmotnosti pri teplote 105 °C k stanoveniu stráviteľnosti sušiny krmiva (DM), neutrálnej detergentnej vlákniny (NDF), kyslej detergentnej vlákniny (ADF), celulózy a hemicelulózy (Goering a Van Soest, 1970).

Celkový počet protozoí ako aj počty jednotlivých druhov boli počítané mikroskopicky.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Z výsledkov uvedených v tab. I vyplýva, že defaunácia signifikantne znížila stráviteľnosť sušiny krmiva ($P < 0,05$), ako aj jednotlivých komponentov vlákniny — NDF, ADF, celulózy ($P < 0,001$) a hemicelulózy ($P < 0,01$, resp. $P < 0,001$). K rovnakému záveru dospel aj Fuchigami a i. [1989] v *in vitro* pokuse s rôznymi dilučnými rýchlosťami systému. V *in vivo* pokusoch potvrdili rovnaký trend Ushida a i. [1986, 1990], Hobson a Jouany [1988]. Autori poukazujú na presun trávenia digesta z bachora do nižších častí tráviaceho traktu, zapríčinený aj zrýchlenou pasážou bachorového obsahu do tenkého čreva u defaunovaných zvierat, čím sa znižuje stráviteľnosť. Zníženú stráviteľnosť sušiny je možné vysvetliť absenciou protozoálnych celulólytických enzýmov (Williams a Coleman, 1985).

V tab. II uvádzame celkovú produkciu UMK, ako aj produkcie jednotlivých kyselín v mmol na deň. Po defaunácii sa pri oboch diétach signifikantne znížila celková produkcia UMK ($P < 0,01$), produkcia kyseliny octovej, maslovej, izomaslovej a izovalérovej ($P < 0,001$). Naopak, zvýšila sa produkcia kyseliny propiónovej, signifikantne pri diéte s jačmeňom ($P < 0,001$). Zníženie celkovej produkcie UMK môže súvisieť so zníženou stráviteľnosťou sušiny. Defaunáciou sa mení zloženie flóry. Acetát

I. Stráviteľnosť sušiny a vlákny krmiva — The digestibility of dry matter and fibre of feed

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
Stráviteľnosť DM ² (%)	41,97 ± 0,48	33,31 ± 2,84 ⁺	47,25 ± 1,87	40,56 ± 1,73 ⁺
Stráviteľnosť NDF ³ (%)	36,21 ± 0,53	20 ± 3,39 ⁺⁺⁺	39,36 ± 2,15	25,2 ± 2,18 ⁺⁺⁺
Stráviteľnosť ADF ⁴ (%)	30,87 ± 0,57	12,21 ± 3,41 ⁺⁺⁺	24,37 ± 2,68	7,51 ± 2,41 ⁺⁺⁺
Stráviteľnosť HC ⁵ (%)	43,59 ± 0,47	31,4 ± 2,9 ⁺⁺	55,7 ± 1,57	45,01 ± 1,6 ⁺⁺⁺
Stráviteľnosť celulózy ⁶ (%)	42,1 ± 0,48	24,31 ± 3,2 ⁺⁺⁺	39,42 ± 2,15	21,71 ± 2,28 ⁺⁺⁺

¹parameter, ²DM digestibility, ³NDF digestibility, ⁴ADF digestibility, ⁵HC digestibility, ⁶cellulose digestibility

Vysvetlivky pro tab. I—V — Explanatory notes to Tabs. I—V:

Výsledky sú priemerom 6 stanovení: štatistické porovnanie V₁—V₂, resp. V₃—V₄; ⁺P < 0,05; ⁺⁺P < 0,01; ⁺⁺⁺P < 0,001; ± = štandardná stredná chyba (SEM) — The results are the average values of six readings: statistical comparison V₁—V₂, and/or V₃—V₄; ⁺P < 0,05; ⁺⁺P < 0,01; ⁺⁺⁺P < 0,001; ± = standard error of the mean (SEM)

II. Produkcia UMK — The production of VFA

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
Celková produkcia UMK ² (mmol/deň)	42,06 ± 2,18	32,97 ± 1,74++	47,42 ± 1,21	40,1 ± 1,92++
Produkcia kyseliny octovej ³ (mmol/deň)	28,07 ± 1,39	20,54 ± 0,8 +++	30,14 ± 0,9	22,14 ± 1,19+++
Produkcia kyseliny propiónovej ⁴ (mmol/deň)	8,27 ± 0,52	9,88 ± 0,71	9,82 ± 0,25	14,38 ± 0,51+++
Produkcia kyseliny n-maslovej ⁵ (mmol/deň)	4,06 ± 0,19	2,07 ± 0,29+++	4,81 ± 0,09	2,07 ± 0,27+++
Produkcia kyseliny izo-maslovej ⁶ (mmol/deň)	0,34 ± 0,09	stopy ⁹	0,63 ± 0,13	stopy ⁹
Produkcia kyseliny n-valérovej ⁷ (mmol/deň)	0,57 ± 0,03	0,35 ± 0,02+++	0,84 ± 0,02	1,26 ± 0,15+
Kyselina izo-valérová ⁸ (mmol/deň)	0,72 ± 0,05	0,12 ± 0,04+++	1,16 ± 0,08	0,24 ± 0,06+++

¹parameter, ²total production of VFA, ³acetate production, ⁴propionate production, ⁵butyrate production, ⁶iso-butyrate production, ⁷n-valerate production, ⁸iso-valerate production, ⁹traces

produkujúce druhy *Ruminococcus* prestávajú byť predominantnými a stávajú sa nimi producenti succinátu *Bacteroides* (Ushida a i., 1986). Literárne údaje sa rozchádzajú v popise produkcie UMK u defaunovaných zvierat. Tendenciu k vzostupu celkových UMK po defaunácii popisujú Veira a i. (1981), Grummer a i. (1983), pokles zasa Itabashi a i. (1984), Ushida a i. (1986). Znížené hladiny acetátu (mol %) po defaunácii sú v prácach autorov Demeyer (1979), Grummer a i. (1983). Propionát (mol %) bol po defaunácii zvýšený v prácach Demeyer a Van Nevel (1979), Grummer a i. (1983), Ushida a i. (1986) a znížený v prácach Demeyer a i. (1982), Van Nevel a i. (1985). Zvýšenie butyrátu (mol %) po defaunácii zaznamenali Demeyer a i. (1982), zníženie Williams a i. (1973), Demeyer a Van Nevel (1979), Grummer a i. (1983), Ushida a i. (1986). Protichodnosť výsledkov môže byť zapríčinená rozdielnymi podmienkami v experimentoch, ale tiež svedčí o nie celkom vyjasnenom vplyve protozoí na bachorovú fermentáciu.

V tab. III uvádzame produkciu plynov, $\text{NH}_3\text{-N}$ v effluente, utilizáciu a návratnosť vodíka a mikrobiálny dusík na kg fermentovanej organickej hmoty (OMF). Produkcia CH_4 ($P < 0,001$), CO_2 ($P < 0,01$ pri diéte s jačmeňom), celková produkcia plynov ($P < 0,001$ pri diéte s jačmeňom) sa po defaunácii znížili. Podobne aj produkcia $\text{NH}_3\text{-N}$ v effluente ($P < 0,001$, resp. $P < 0,01$) bola v defaunovaných nádobách nižšia. Celková utilizácia H_2 ($P < 0,01$, resp. $P < 0,001$) a návratnosť H_2 ($P < 0,05$, resp. $P < 0,001$) boli taktiež po defaunácii znížené. Produkcia mikrobiálneho dusíka na kg OMF bola v defaunovaných nádobách signifikantne vyššia ($P < 0,001$). Znížená produkcia metánu potvrdila fakt, že defaunácia potláča metanogénu. Protozoa produkujú vodík, ktorý je využívaný metanogénnymi baktériami (Abou Akkada a Howard, 1960). Aj počet metanogénnych baktérií ektozymbioticky prichytených na povrchu prvkov sa defaunáciou znižuje. Vytvorený vodík sa v defaunovanom prostredí využíva na tvorbu propionátu. Prvky tiež zohrávajú dôležitú úlohu v regulácii dusíka v bachore. Bakteriálny dusík, ktorý sa neinkorporuje do protozoálnej bielkoviny, je vydávaný späť do bachorového prostredia a využívaný ostatnými baktériami. Defaunácia však spôsobuje zvýšenie mikrobiálneho dusíka na kg OMF, čo súvisí s pomnožením bakteriálnej populácie v dôsledku vymiznutia požírania baktérií protozoami, ako aj s vymiznutím konkurenčných vzťahov o substrát medzi baktériami a prvkami. Nami zistený pokles CO_2 nekoreluje s údajmi autorov Ushida a i. (1990), ktorí zaznamenali vyššie hodnoty u defaunovaných zvierat v *in vivo* pokuse pri diéte, ktorej základom bola amoniakom upravená pšeničná slama.

Stechiometrické ukazovatele E , E_1 , E_3 (tab. IV) javia v našom experimente signifikantný vzostup v defaunovaných nádobách ($P < 0,001$), s výnimkou E_2 (signifikantný pokles — $P < 0,001$), čo je vlastne podiel fermentovaných hexóz na energii CH_4 . OMF a produkcia ATP však po defaunácii signifikantne klesajú ($P < 0,01$). Signifikantné zvýšenie ($P < 0,001$) účinnosti mikrobiálnej proteosyntézy (Y_{ATP}) súvisí s nárastom bakteriálnej hmoty po defaunácii. Nezaznamenali sme rozdiely medzi defaunovanými a kontrolnými nádobami v produkcii ATP na kg strávenej sušiny, keďže aj ATP aj stráviteľnosť sušiny po defaunácii poklesli. Fosberg a Lam (1977) zistili 10krát vyššie koncentrácie ATP u bachorovej protozoálnej frakcie ako u bakteriálnej. Tento rozdiel môže byť

III. Produkcia plynov, $\text{NH}_3\text{-N}$ v effluente, utilizácia a návratnosť H_2 , mikrobiálny N/kg OFM — The production of gases, $\text{NH}_3\text{-N}$ in effluent, utilization and recovery of H_2 , microbial N/kg OMF

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
Celková produkcia plynov ² (l/deň)	$2,07 \pm 0,11$	$1,88 \pm 0,11$	$2,32 \pm 0,03$	$1,99 \pm 0,05^{+++}$
Produkcia CH_4 ³ (mmol/deň)	$8,72 \pm 1,17$	$1,76 \pm 0,87^{+++}$	$10,66 \pm 0,37$	$0,40 \pm 0,22^{+++}$
Produkcia CO_2 ⁴ (mmol/deň)	$11,91 \pm 1,65$	$7,76 \pm 1,94$	$16,7 \pm 0,76$	$10,64 \pm 1,75^{++}$
Produkcia H_2 ⁵ (mmol/deň)	$82,39 \pm 3,98$	$60,29 \pm 3,33^{+++}$	$91,89 \pm 2,05$	$70,73 \pm 4,06^{+++}$
Celková utilizácia H_2 ⁶ (mmol/deň)	$65,3 \pm 5,55$	$37,19 \pm 5,21^{++}$	$79,41 \pm 1,60$	$44,75 \pm 2,33^{+++}$
Návratnosť H_2 ⁷ (%)	$79,14 \pm 5,66$	$60,46 \pm 5,21^{+}$	$86,54 \pm 1,81$	$63,38 \pm 0,56^{+++}$
$\text{NH}_3\text{-N}$ v effluente ⁸ (mg/l)	$195,62 \pm 6,57$	$153,27 \pm 2,55^{+++}$	$193,6 \pm 3,12$	$151,25 \pm 3,76^{++}$
g mikrobiálneho N/kg OFM ⁹	$20,08 \pm 0,85$	$34,17 \pm 1,96^{+++}$	$22,75 \pm 0,53$	$35,74 \pm 1,81^{+++}$

¹parameter, ²total production of gases, ³ CH_4 production, ⁴ CO_2 production, ⁵ H_2 production, ⁶total utilization of H_2 , ⁷ H_2 recovery,

⁸ $\text{NH}_3\text{-N}$ in effluent, ⁹g of microvial N/kg OMF

IV. Konečné produkty fermentácie v Rusitecu — The end products of fermentation in Rusitec

Ukazovateľ ¹	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
E (%)	73,81 ± 0,14	77,45 ± 0,47+++	74,58 ± 0,09	80,5 ± 0,48+++
E ₁ (%)	74,08 ± 0,12	77,71 ± 0,44+++	74,87 ± 0,13	81,45 ± 0,38+++
E ₂ (%)	16,31 ± 0,12	12,56 ± 0,43+++	15,55 ± 0,12	8,85 ± 0,4 +++
E ₃ (%)	37,67 ± 0,1	39,39 ± 0,25+++	37,42 ± 0,12	39,35 ± 0,29+++
OMF (g/deň)	3,69 ± 0,18	2,86 ± 0,16++	4,15 ± 0,09	3,5 ± 0,18++
Fermentované hexózy ² (mmol/deň)	22,23 ± 1,12	17,28 ± 0,98++	24,8 ± 0,57	20,33 ± 0,99++
Produkcia ATP ³ (mmol/deň)	95,97 ± 2,75	77,69 ± 4,9 ++	112,57 ± 2,66	95,74 ± 4,34++
Y _{ATP} (g/mol)	7,122 ± 0,35	12,003 ± 0,76+++	7,993 ± 0,19	12,43 ± 0,51+++
Produkcia ATP/kg strávene DM ⁴	16,26 ± 1,03	16,27 ± 0,97	16,55 ± 0,56	16,34 ± 0,51

¹parameter, ²fermented hexoses, ³ATP production, ⁴ATP production/kg digested DM

zapríčinený vyššími koncentraciami ATP u protozoí, alebo veľkým počtom baktérií asociovaných na prvoky.

Prežívanie prvkov v *in vitro* systéme Rusitec (tab. V) potvrdilo očakávané vyššie hodnoty pri diéte seno + jačmeň čo do celkového počtu, tak aj pri jednotlivých druhoch ($P < 0,001$). Počty prvkov sa v našom pokuse rýchlo znižovali v prvých troch dňoch po spustení Rusitecu. Potom sa hodnoty viac menej ustáľujú. V *in vitro* systémoch dochádza k výraznému zníženiu protozoálnej populácie, ako aj k vymiznutiu niektorých druhov, čo súvisí s dobou obratu obsahu fermentačných nádob, ktorá je kratšia ako generačný čas prvkov vo fermentore [Czerkawski a Breckenridge, 1977].

V. Celkový počet a počty niektorých druhov prvkov v Rusitecu — Total number and number of some species of protozoa in Rusitec

	Seno ¹ (100 %)	Seno + jačmeň ⁵ (80 % + 20 %)
Celkový počet ¹	8 163 ± 396	17 433 ± 1 292 + + +
Veľké entodiniomorfné protozoa ²	33 ± 21	1 383 ± 275 + + +
Holotrichá ³	6 517 ± 305	9 157 ± 349 + + +

¹total number, ²big entodiniomorphid protozoa, ³holotrichs, ⁴hay, ⁵hay + barley

Záverom možno konštatovať, že defaunácia zvýšila hodnoty stechiometrických ukazovateľov a Y_{ATP} , čo súvisí so zvýšenou produkciou propionátu a bakteriálnej hmoty, resp. so zníženou metanogenézou. Defaunácia znížila stráviteľnosť vlákny, produkciu NH_3 -N, celkovú produkciu UMK, acetát, butyrát, produkciu ATP. Je tiež nutné spomenúť fakt, že v našom experimente použitý spôsob defaunácie nie je najideálnejší, keďže nemožno vylúčiť vplyv defaunačného činidla na ostatné bachorové mikroorganizmy.

Literatúra

- ABOU AKKADA, A. R. — HOWARD, B. H.: The biochemistry of rumen protozoa. III. The carbohydrate metabolism of *Entodinium*. Biochem. J., 76, 1960, s. 445—451.
- BIRD, S. H. — LENG, R. A.: The effect of defaunation of the rumen on the growth of cattle on low-protein high-energy diets. Brit. J. Nutr., 40, 1978, s. 163—167.
- CONWAY, E. J. — O MALLEY, F.: Microdiffusion methods. Amonia and urea using buffered absorbents. Biochem. J., 36, 1942, s. 655—661.
- CZERKAWSKI, J. W.: The use of pivalic acid as a reference substance in measurements of production of volatile fatty acids by rumen microorganisms *in vitro*. Brit. J. Nutr., 36, 1976, s. 311—315.
- CZERKAWSKI, J. W. — BRECKENRIDGE, G.: Design and developement of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). Brit. J. Nutr., 38, 1977, s. 371—384.
- CZERKAWSKI, J. W. — CLAPPERTON, J. L.: Analysis of gas produced by metabolism of microorganisms. Lab. Pract., 17, 1968, s. 994.

- DEMEYER, D. I. — VAN NEVEL, C. J.: Effect of defaunation on the metabolism of rumen micro-organisms. *Brit. J. Nutr.*, 42, 1979, s. 515—524.
- DEMEYER, R. D. — VAN NEVEL, C. J. — VAN DE VOORDE, G.: The effect of defaunation on the growth of lambs fed three urea containing diets. *Arch. Tierernähr.*, 32, 1982, s. 595—604.
- EADIE, J. M.: The development of rumen microbial populations in lambs and calves under various conditions of management. *J. gen. Microbiol.*, 29, 1962, s. 563—578.
- FORSBERG, C. W. — LAM, K.: Use of adenosine-5-triphosphate as an indicator of the microbiota biomass in rumen contents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1977, s. 528—537.
- FUCHIGAMI, M. — SENSU, T. — HORIGUCHI, M.: A simple continuous culture system of rumen microbial digestion study and effects of defaunation and dilution rates. *J. Dairy Sci.*, 72, 1989, s. 3070—3078.
- GOERING, H. K. — VAN SOEST, P. J.: Forage analyses. U. S. D. A., Agriculture Handbook, č. 379, 1970, s. 1—20.
- GRUMMER, R. R. — STAPLES, C. R. — DAVIS, C. L.: Effect of defaunation on ruminal volatile fatty acids and pH of steers feed a diet high in dried whole whey. *J. Dairy Sci.*, 66, 1983, s. 1738—1741.
- HARRISON, D. S. — Mc ALLAN, A. B.: Factors affecting microbial growth yields in the reticulo-rumen. In: RUCKEBUCH, Y. — THIVEND, P. (eds): Digestive physiology and metabolism in ruminants, MTP Press, Lancaster, 1980, s. 205—226.
- HOBSON, P. N.: The rumen microbial ecosystem. London — New York, Elsevier Applied Science, 1988.
- HOBSON, P. N. — JOUANY, J. P.: Models, mathematical and biological of the rumen function. In: The Rumen Microbial Ecosystem. London — New York, Elsevier Applied Science, 1988, s. 461—512.
- HUNGATE, R. E.: The rumen and its microbes. New York, Academic Press 1966.
- CHRISTIANSEN, W. C. — KAWASHIMA, R. — BURROUGHS, W.: Influence of protozoa upon rumen acid production and liveweight gains in lambs. *J. Anim. Sci.*, 24, 1965, s. 730—734.
- ITABASHI, H. — KOBAYASHI, J. — MATSUMOTO, M.: The effect of rumen ciliate protozoa on energy, metabolism and some constituents in rumen fluid and blood plasma of goats. *Jap. J. zootechn. Sci.*, 55, 1984, s. 248—256.
- USHIDA, K. — JOUANY, J. P. — THIVEND, P.: Role of rumen protozoa in nitrogen digestion in sheep given two isonitrogenous diets. *Brit. J. Nutr.*, 56, 1986, s. 407—419.
- USHIDA, K. — KAYOULI, C. — DE SMET, S. — JOUANY, J. P.: Effect of defaunation on protein and fibre digestion in sheep fed on ammonia-treated straw-based diets with or without maize. *Brit. J. Nutr.*, 64, 1990, s. 765—775.
- VAN NEVEL, C. J. — DEMEYER, D. I.: Manipulation of rumen fermentation. In: The rumen microbial ecosystem. London — New York, Elsevier Applied Science, 1988, s. 387—444.
- VAN NEVEL, C. J. — DEMEYER, D. I. — VAN DE VOORDE, G.: Effect of defaunating the rumen on growth and carcass composition of lambs. *Arch. Tierernähr.*, 35, 1985, s. 331—337.
- VEIRA, D. M. — IVAN, M. — JUI, Y.: The effects of partial defaunation on rumen metabolism in sheep. *Can. J. anim. Sci.*, 61, 1981, s. 1086—1087.
- WILLIAMS, A. G. — COLEMAN, G. S.: Hemicellulose — degrading enzymes in rumen ciliate protozoa. *Curr. Microbiol.*, 12, 1985, s. 85—90.
- WILLIAMS, P. P. — DINUSSON, W. E.: Ruminal volatile fatty acid concentrations and weight gains of calves reared with and without ruminal ciliated protozoa. *J. Anim. Sci.*, 36, 1973, s. 588—591.

Došlo dňa 16. 9. 1991

VENDRÁK, T. — JALČ, D. — ZELENÁK, I. — SIROKA, P. [Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Sciences, Košice]: *The effects of defaunation on in vitro fermentation*. *Veter. Med. [Praha]*, 37, 1992 (5—6): 283—292.

An experiment was conducted to investigate the effects of defaunation on the fermentation of two different diets consisting of hay (100 %) and hay + barley (80 % + 20 %) in a rumen pouch (RUSITEC). The survival and composition of protozoa were investigated in an *in vitro* system in control vessels where no defaunation was carried out. Defaunation decreased the production of total volatile fatty acids ($P < 0.01$), acetate, butyrate ($P < 0.001$) — Tab. II; dry matter digestibility ($P < 0.05$) and

detergent fibre digestibility: acid detergent fibre (ADF), neutral detergent fibre (NDF), cellulose ($P < 0.001$), hemicellulose ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively) in our experiment (Tab. I). These parameters also decreased: production of CH_4 ($P < 0.001$), CO_2 ($P < 0.01$ for the barley diet), total production of gases ($P < 0.001$ for the barley diet), total utilization ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively) and recovery of H_2 ($P < 0.05$ and $P < 0.001$, respectively), $\text{NH}_3\text{-N}$ in effluent ($P < 0.001$ and $P < 0.01$, respectively) — Tab. III; and production of ATP ($P < 0.01$) — Tab. IV, as a result of fermentation in our experiment. On the other hand, there was a significant increase in the following parameters: production of propionate ($P < 0.001$ for the barley diet) — Tab. II; microbial nitrogen/kg of organic matter fermented — OMF ($P < 0.001$), Tab. III; energy yield — E of volatile fatty acids (VFA), proportion of VFA energy with respect to fermented hexose energy — E_1 , proportion of energy in bacterial cells with respect to fermented hexose energy — E_3 ($P < 0.001$) and the effectiveness of microbial proteosynthesis — Y_{ATP} ($P < 0.001$), Tab. IV, as a result of defaunation. The total number of protozoa and the number of some species, especially the number of big entodiniomorphid protozoa, were markedly higher ($P < 0.001$) for the barley diet — Tab. V. The number of protozoa decreased rapidly within three days after the system initiation. Later on, the values were more or less steady.

protozoa; defaunation; *in vitro* fermentation; Rusitec

Adresa autorov:

MVDr. Tibor Vendrák, MVDr. Dušan Jalč, CSc., MVDr. Imrich Zelenák, DrSc., RNDr. Peter Siroka, Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

ZMENY V ZASTÚPENÍ AMINOKYSELÍN V HYDROLYZÁTOCH BAKTÉRIÍ ADHEROVANÝCH NA STENU BACHORA OVIEC PRI SKŔMOVANÍ DIÉTY S NÍZKYM A VYSOKÝM OBSAHOM DUSÍKA

J. Legáth

LEGÁTH, J. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Zmeny v zastúpení aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na stenu bachora oviec pri skŕmovaní diéty s nízkym a vysokým obsahom dusíka*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5–6): 293–305.

Sledovali sme vplyv nízko- a vysokodusíkovej diéty na zastúpenie aminokyselín v hydrolyzátoch bachorových baktérií, adherovaných na stene bachora v štyroch jeho topograficko-anatomických častiach (dorzálna, ventrálna, kaudálna časť a retikulum) na 18 ovciach plemena slovenské merino, rozdelených na tri pokusné skupiny. Na príjem rôzneho množstva dusíka v diéte najcitlivejšie reaguje skupina epimurálnych bachorových baktérií dorzálnej a ventrálnej časti bachora oviec. V hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel dorzálnej časti bachora sa menilo 15 aminokyselín a na epitel ventrálnej časti bachora 14 aminokyselín. Na rôzny príjem dusíka v diéte u oviec v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií citlivo reagovali nasledovné aminokyseliny: alanín, histidín, tyrozín, arginín a prolín. Koncentrácia alanínu a histidínu v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií vo všetkých topograficko-anatomických častiach bachora pri kŕmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka signifikantne stúpila a naopak, pri kŕmení oviec s nízkodusíkovou diétou signifikantne klesla. Pri kŕmení oviec vysokodusíkovou diétou, v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií všetkých častí bachora, signifikantne klesli hladiny tyrozínu a prolínu a naopak, pri kŕmení nízkodusíkovou diétou signifikantne oproti kontrole stúpili koncentrácie uvedených dvoch aminokyselín. Naše zistenia, týkajúce sa zmien aminokyselinového zloženia proteínov zmesi baktérií adherovaných na epitel bachora nepotvrdzujú predpoklady niektorých autorov, že baktérie adherované na epitel bachora sú málo citlivé na zmeny v kŕmení a že sú málo závislé na diéte. Naše pokusy ukazujú, že rôzny príjem dusíka v diéte sa odzrkadľuje v zmenách koncentrácie niektorých aminokyselín zmesi bachorových baktérií adherovaných na epitel dorzálnej, ventrálnej, ale aj kaudálnej časti bachora a čepca.

ovce; bachor; adherentné baktérie; aminokyseliny; diéta s nízkym a vysokým obsahom dusíka

Cheng a Costerton (1979) definovali tri základné subpopulácie baktérií v bachore prežúvavcov. Jednou z nich je subpopulácia baktérií existenčne viazaná na epitel bachora, ktorá má svoje špecifické postavenie v procese trávenia u prežúvavcov.

Existencia taxonometricky ohraničených druhov baktérií na bachorovom epiteli poukazuje na to, že táto populácia sa vyvinula ako odraz na

špecifické faktory prostredia. Jedným z nich je difúzia kyslíka cez bachorovú stenu. Prítomnosť populácie baktérií na povrchu epitelu bachora, v ktorej sa nachádzajú fakultatívne anaeróby, vytvára výborné podmienky pre obligátne anaeróbne baktérie tým, že prenikajúci kyslík je spotrebovaný epimurálnymi fakultatívnymi anaeróbmami už v stene bachora (Cheng a i., 1979). To je prvá dôležitá úloha epimurálnych baktérií. Druhou dôležitou úlohou je podiel na recyklizácii epitelu bachora, teda i živín v bachore prežúvavcov. Distálne epiteliálne bunky bachora sú aktívne kolonizované a trávené adherentnými mikroorganizmami jedného morfológického typu (McCowan a i., 1978). Vzhľadom na to, že epitel bachora predstavuje asi 1 % hmotnosti celého prežúvavca, pri kontinuálnom odlupovaní epiteliálnych buniek ich degradácia baktériami je značným príspevkom k ekonomickému využívaniu proteínov v tráviacom trakte prežúvavcov. Recyklizáciou odumretého epiteliálneho tkaniva prostredníctvom mikroorganizmov, prežúvavec denne získa až 4 % proteínov požadovaných telom zvierat (Cheng, 1984). Tretiu dôležitú úlohu má epimurálna bachorová mikroflóra pri recyklizácii endogénnej močoviny cez stenu bachora (Bryant, 1963; Cook, 1976). Ureázna bola jednoznačne dokázaná v baktériách adherovaných na epitel bachora (Wozny a i., 1977). To, že ureázová aktivita je vlastná baktériám a nie bachorovému tkanivu, dokázali vo svojich pokusoch s využitím antibiotík Muller a Carroll (1964), Cheng a i., (1979). Cheng a i., (1977) premývaním bachorovej steny antibiotikami zaznamenali 97 až 99 % pokles ureázovej aktivity.

Hustotu osídlenia bachorovej steny baktériami značne ovplyvňuje mechanické pôsobenie čistočiek potravy. Najhustejšie je kolonizovaná dorzálna časť bachora, menej ventrálna časť a najmenej kraniálny pil (McCowan a i., 1980).

Epimurálne baktérie sa taxonometricky značne líšia od baktérií adherovaných na častky krmiva v bachorovom obsahu. Mikroflóra bachorovej steny je tvorená prevažne z grampozitívnych kokov a paličiek, ktoré boli zaradené k rodom *Propionibacterium*, *Eubacterium*, *Butyrivibrio*, *Streptococcus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Flavobacterium*, *Selemonas*, *Lactobacillus*, *Hemophetus* a i. Pravdaže sa tu nachádza i skupina bližšie neidentifikovaných anaeróbných baktérií (Cheng a i., 1979, 1981).

Existuje ešte celá rada funkcií, v ktorých dôležitú úlohu zohráva adherentná bachorová mikroflóra. Za zmienku stojí jej úloha pri ochrane epitelu bachora pred kolonizáciou patogénnymi zárodkami vytvorením tzv. biofilmu autochtónnych baktérií (Costerton, 1985).

V literatúre sa objavili tvrdenia, že epimurálne bachorové baktérie sú málo citlivé na zmeny kŕmenia a že sú málo závislé na diéte (Wallace a i., 1979; Cheng a Costerton, 1980). Preto cieľom našej práce bolo zistiť, či diéty s vysokým alebo s nízkym obsahom dusíka ovplyvňujú zloženie aminokyselín v hydrolyzátoch bielkovín bachorových baktérií adherovaných na stene bachora oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Do pokusu bolo zaradených 18 kusov oviec-jarín vo veku 7–9 mesiacov a hmotností 20–25 kg, plemena slovenské merino, ktoré boli rozdelené do troch pokusných skupín po 6 kusov. Po 28dňovej adaptácii prvá skupina (kontrola) bola kŕmená zbilancovanou kŕmnom dávkou (ČSN 46 7070), ktorá obsahovala seno lúčne priemerné

— 1 kg a Melasové krmivo — 0,46 kg, obsahujúce melasu, miagany ovos, pšeničnú krmnú múku, pšeničné a ražne otruby a minerálne krmné prísady [90,7 g stráviteľných dusíkatých látok — SNL na kg sušiny, 0,588 škrobových jednotiek — ŠJ na kg sušiny, dusíkato-energetický koeficient — NEK [SNL/ŠJ] = 153,5]. Voda bola podávaná *ad libitum*. Ovce II. pokusnej skupiny sme krmili zbilancovanou krmnou dávkou totožnou s krmnou dávkou použitou v kontrolnej skupine. K tejto zbilancovanej krmnej dávke sme postupne pridávali počas 16 dní močovinu tak, že každým dňom sme zvyšovali pôvodnú dávku močoviny o 1 g (v intervale od 1 do 16 g). Na 16. deň prijímala každá ovca zaradená do tejto skupiny 16 g močoviny. Uvedenú diétu s prídavkom 16 g močoviny ovce skrmovali v experimente 28 dní. Voda bola podávaná *ad libitum*. Postupné denné zvyšovanie močoviny v diéte o 1 g a maximálny príjem močoviny — 16 g na kus a deň, vychádza z údajov autorov Bartík a Rosival (1971) o zásadách pri kŕmení oviec močovinou. Prídavok močoviny k zbilancovanej krmnej dávke zvýšil hodnotu stráviteľných dusíkatých látok pri predpokladanej 50–80% utilizácii dusíka o 45,25 % oproti norme. Pri prepočte na množstvo stráviteľného dusíka (N), vyvážená krmná dávka obsahuje 12,8 g N a krmná dávka s prídavkom 16 g močoviny 17,95 g N. K zbilancovanej krmnej dávke s prídavkom 16 g močoviny [133,4 g SNL . kg⁻¹ sušiny, 0,529 ŠJ . kg⁻¹ sušiny, NEK = 252,1] sme pridávali sacharózu v množstve 161 g za účelom zabezpečiť čo najlepšie využitie dusíka z diéty, resp. s cieľom predísť akútnej intoxikácii pokusných zvierat močovinou (amoniakom). Ovce tretej pokusnej skupiny sme krmili diétou obsahujúcou o 78,1 % menej stráviteľných dusíkatých látok ako diéta, ktorá bola skrmovaná kontrolnou skupinou oviec. Hodnoty škrobových jednotiek, vlákniny, sušiny a minerálne krmné prísady boli v súlade s požiadavkami na živiny pre danú kategóriu oviec. Diéta obsahovala nasledovné komponenty: slama pšeničná — 0,9 kg, otruby pšeničné — 0,16 kg a kukuričný škrob — 0,347 kg [22,1 g SNL . kg⁻¹ sušiny, 0,604 ŠJ . kg⁻¹ sušiny, NEK = 36,6]. Voda bola podávaná *ad libitum*.

Pre štúdium proteosyntézy baktérií adherovaných na stenu bachora oviec, sme si zvolili nami modifikovaný a kvantifikovaný postup (elúciu baktérií izotonickým pufovaným roztokom pri teplote 4°C), ktorý umožnil získať koncentrát nepoškodených epimurálnych bachorových baktérií. Výťažnosť metodiky bola určená rastovou elektrónovou mikroskópiou a predstavovala 93,3 % (Legáth a i., 1990).

Po 28dňovom skrmovaní jednotlivých diét, vzorky bachora pre následnú elúciu sme odoberali ihneď po odporazení oviec, a to zo štyroch topograficko-anatomických miest (*saccus ruminis dorzalis*, *sacci rumini caudalis*, *saccus ruminis ventralis* a *reticulum*).

Koncentrát trikrát prepraných epimurálnych baktérií sme hydrolyzovali v 10 ml 6M kyseliny chlorovodíkovej v uzavretom prostredí pri teplote 105°C po dobu 24 hodín. Aminokyseliny v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií sme stanovili chromatograficky na prístroji Amino Acids Analyzer T 339 (Mikrotechna Praha).

Výsledky jednotlivých analýz sme spracovali osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus s grafickou tlačiarňou Alphacom 32.

VÝSLEDKY

Nakoľko vzorky u kontrolnej, II. a III. pokusnej skupiny oviec boli odoberané zo štyroch miest bachora a vzájomne porovnávané, pristúpili sme k hodnoteniu zmien v zastúpení aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií vždy v jednom anatomicko-topografickom mieste bachora.

AMINOKYSELINY HYDROLYZÁTOV BACHOROVÝCH BAKTÉRIÍ ADHEROVANÝCH NA EPITEL DORZÁLNEHO VAKU BACHORA OVIEC (*SACCUS RUMINIS DORZALIS*)

Pri kŕmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka (II. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny boli v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel dorzálnej časti bachora zistené signifikantne vyššie hladiny alanínu, glycínu a kyseliny asparágovej a naopak, signifikantne nižšie hladiny boli zistené u tyrozínu, arginínu, izoleucínu a leucínu. Zastúpenie ostatných sledovaných aminokyselín (treonín, serín, kyselina glutámová, prolín, valín, fenylalanín, histidín a lyzín) sa pri skrmovaní vysokodusíkovej diéty ovcami v hydrolyzátoch

epimurálnych bachorových baktérií dorzálnej časti bachora výrazne nemenilo.

Pri kŕmení oviec s nízkodusíkovou diétou (III. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny sa v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií dorzálnej časti bachora zistil signifikantný pokles hladín treonínu, histidínu, alanínu a izoleucínu. Signifikantne zvýšené hladiny boli u prolínu, tyrozínu, fenylalanínu a kyseliny glutámovej. U ostatných sledovaných aminokyselín pri skrmovaní diéty s nízkym obsahom dusíka ovcami k výrazným zmenám v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií dorzálnej časti bachora nedošlo.

Výsledky analýz hydrolyzátoch epimurálnych baktérií dorzálnej časti bachora oviec kontrolnej, II., III. pokusnej skupiny na aminokyseliny sú uvedené v tab. I.

I. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií dorzálnej časti bachora oviec — Concentration of amino acids in hydrolyzates of epimural bacteria of dorsal part of the ovine rumen

Aminokyseliny ¹	Pokusná skupina ²					
	I. (k)		II. (v. d.)		III. (n. d.)	
	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,03	0,34	18,03 ⁺	0,44	18,16	0,75
Thr	10,26	0,40	10,49	0,53	8,96 ⁺	0,21
Ser	9,51	0,30	10,02	0,64	9,69	0,69
Glu	19,02	0,37	18,35	1,20	19,69 ⁺	0,54
Pro	5,70	0,53	4,13	1,26	8,68 ⁺	0,83
Gly	14,50	0,22	15,40 ⁺	0,43	14,20	0,49
Ala	15,02	0,45	16,42 ⁺	0,88	14,28 ⁺	0,28
Val	9,58	0,16	9,40	0,48	9,40	0,14
Ile	7,82	0,14	7,29 ⁺	0,40	7,16 ⁺	0,09
Leu	13,21	0,35	12,82 ⁺	0,35	13,05	0,29
Tyr	1,16	0,65	0,21 ⁺	0,06	3,43 ⁺	0,75
Phe	5,24	0,15	5,54	0,38	5,58 ⁺	0,09
His	7,85	1,22	9,13	1,92	4,34 ⁺	0,58
Lys	10,16	0,31	10,02	0,48	10,02	0,48
Arg	7,00	0,62	6,03 ⁺	0,30	6,79	0,25

¹amino acids, ²experimental group

Vysvetlivky pro tab. I—IV — Explanations for Tabs I—IV:

Hy — hydrolyzáty epimurálnych bachorových baktérií — Hydrolyzates of epimural ruminal bacteria

+ — štatistická významnosť rozdielov priemerov ($\bar{x}$) pri daných smerodajných odchýlkach (sd) na hladine $p < 0,05$ hodnotená nepárovým t -testom oproti kontrolnej skupine — statistical significance of differences of means ($\bar{x}$) with given standard deviations (sd) at the level $p < 0.05$ valued by unpair t -test in comparison with the control group

K — kontrolná skupina — control group

v. d. — ovce kŕmené diétou s vysokým obsahom dusíka — sheep fed the diet with high-nitrogen content

n. d. — ovce kŕmené diétou s nízkym obsahom dusíka — sheep fed the diet with low-nitrogen content

Pri kŕmení oviec diétou obsahujúcou vysoký obsah dusíka (II. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny bola v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel ventrálnej časti bachora zistená signifikantne vyššia hladina u alanínu, histidínu a serínu, zatiaľ čo signifikantný pokles bol zaznamenaný u arginínu, tyrozínu a prolínu. Zastúpenie ostatných aminokyselín sa pri kŕmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora výrazne nemenilo.

Pri kŕmení oviec diétou s nízkym obsahom dusíka (III. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny sa v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec zistil signifikantný pokles hladín treonínu, histidínu, alanínu, leucínu, lyzínu a arginínu. Súčasne sa zistili signifikantne zvýšené hladiny prolínu a tyrozínu. U ostatných sledovaných aminokyselín, pri kŕmení pokusných oviec diétou s nízkym obsahom dusíka, k výrazným zmenám v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel ventrálnej časti bachora nedošlo.

Výsledky analýz hydrolyzátov epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec kontrolnej, II. a III. pokusnej skupiny na aminokyseliny sú uvedené v tab. II.

AMINOKYSELINY HYDROLYZÁTOV BACHOROVÝCH BAKTÉRIÍ ADHEROVANÝCH
NA EPITEL KAUDÁLNYCH VAKOV BACHORA OVIEC (*SACCI RUMINI CAUDALIS*)

Pri kŕmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka (II. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny bola v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na kaudálnu časť bachora zistená signifikantne vyššia hladina u alanínu a naopak, signifikantne nižšie hladiny arginínu a lyzínu. U ostatných sledovaných aminokyselín v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných v kaudálnej časti bachora pokusných oviec sme nezaznamenali výrazne zmeny.

Pri kŕmení oviec s diétou s nízkym obsahom dusíka (III. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny bolo v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií kaudálnej časti bachora zistené signifikantné zníženie hladín treonínu a histidínu a signifikantne sa zvýšili hodnoty prolínu, tyrozínu a fenylalanínu. U ostatných sledovaných aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií kaudálnej časti bachora nedošlo k výrazným zmenám.

Výsledky analýz hydrolyzátov epimurálnych baktérií kaudálnej časti bachora oviec kontrolnej, II. a III. pokusnej skupiny na aminokyseliny sú uvedené v tab. III.

AMINOKYSELINY HYDROLYZÁTOV EPIMURÁLNYCH BAKTÉRIÍ ADHEROVANÝCH
NA EPITEL RETIKULA OVIEC

Pri kŕmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka (II. pokusná skupina) v porovnaní s ovcami kontrolnej skupiny boli v hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na epitel retikula zistené signifikantne vyššie hladiny alanínu a histidínu, zatiaľ čo signifikantný pokles bol

II. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec — Concentration of amino acids in hydrolyzates of epimural bacteria of ventral part of ovine rumen

Aminokyseliny ¹	Pokusná skupina ²					
	I. (k)		II. (v. d.)		III. (n. d.)	
	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,17	1,27	17,23	0,57	18,24	0,30
Thr	10,38	1,03	10,30	0,37	9,23 ⁺	0,32
Ser	9,18	0,41	9,61 ⁺	0,37	9,48	0,23
Glu	19,61	1,10	19,00	0,31	19,52	0,14
Pro	6,99	1,52	4,45 ⁺	1,94	9,29 ⁺	0,41
Gly	14,38	1,13	15,42	0,17	14,54	0,42
Ala	15,03	0,38	16,47 ⁺	0,62	14,60 ⁺	0,24
Val	9,23	0,86	9,75	0,53	9,70	0,11
Ile	7,38	0,38	7,46	0,35	7,60	0,08
Leu	13,21	0,88	12,79	0,47	12,27 ⁺	0,32
Tyr	1,85	1,65	0,15 ⁺	0,02	4,10 ⁺	0,48
Phe	5,57	0,36	5,39	0,36	5,78	0,10
His	5,33	1,28	9,22 ⁺	1,66	3,56 ⁺	0,18
Lys	10,54	0,16	10,16	0,29	10,04 ⁺	0,25
Arg	7,10	0,50	6,02 ⁺	0,18	6,41 ⁺	0,27

For 1—2 see Tab. I

III. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií kaudálnej časti bachora oviec — Concentration of amino acids in hydrolyzates of epimural bacteria of caudal part of ovine rumen

Aminokyseliny ¹	Pokusná skupina ²					
	I. (k)		II. (v. d.)		III. (n. d.)	
	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,40	0,58	18,43	1,54	17,19	1,29
Thr	10,19	0,70	10,76	0,71	9,19 ⁺	0,30
Ser	9,50	0,24	10,14	0,67	9,17	0,35
Glu	19,63	1,21	18,47	1,29	19,88	1,08
Pro	5,82	1,30	2,56	1,48	9,36 ⁺	0,65
Gly	14,32	0,49	16,25	0,46	13,67	0,91
Ala	15,30	0,25	16,10 ⁺	1,05	14,61	0,69
Val	9,59	0,24	9,06	1,11	9,47	0,52
Ile	7,20	0,23	7,22	0,38	7,45	0,23
Leu	12,68	0,26	11,98	0,76	12,83	0,56
Tyr	1,50	0,47	0,09	0,01	4,11 ⁺	0,29
Phe	5,09	0,29	5,52	0,18	5,63 ⁺	0,21
His	6,61	0,81	10,48	1,85	3,67 ⁺	0,22
Lys	10,64	0,68	10,06 ⁺	0,44	10,31	0,44
Arg	7,10	0,46	5,58 ⁺	0,73	6,86	0,31

For 1—2 see Tab. I

zistený u tyrozínu, arginínu a prolínu. Zastúpenie ostatných aminokyselín sa pri skrmovaní vysokodusíkovej diéty ovcami, v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií retikula nemenilo.

Pri kŕmení oviec s nízкодusíkovou diétou (III. pokusná skupina) v porovnaní s kontrolnou skupinou oviec sa v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií retikula zistil signifikantný pokles treonínu a histidínu a signifikantné zvýšenie hodnôt tyrozínu a prolínu. Zastúpenie ostatných aminokyselín pri skrmovaní diéty s nízkym obsahom dusíka sa v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií retikula výrazne nemenilo.

Výsledky analýz hydrolyzátoz baktérií adherovaných na epitel retikula oviec kontrolnej, II. a III. pokusnej skupiny na aminokyseliny sú uvedené v tab. IV.

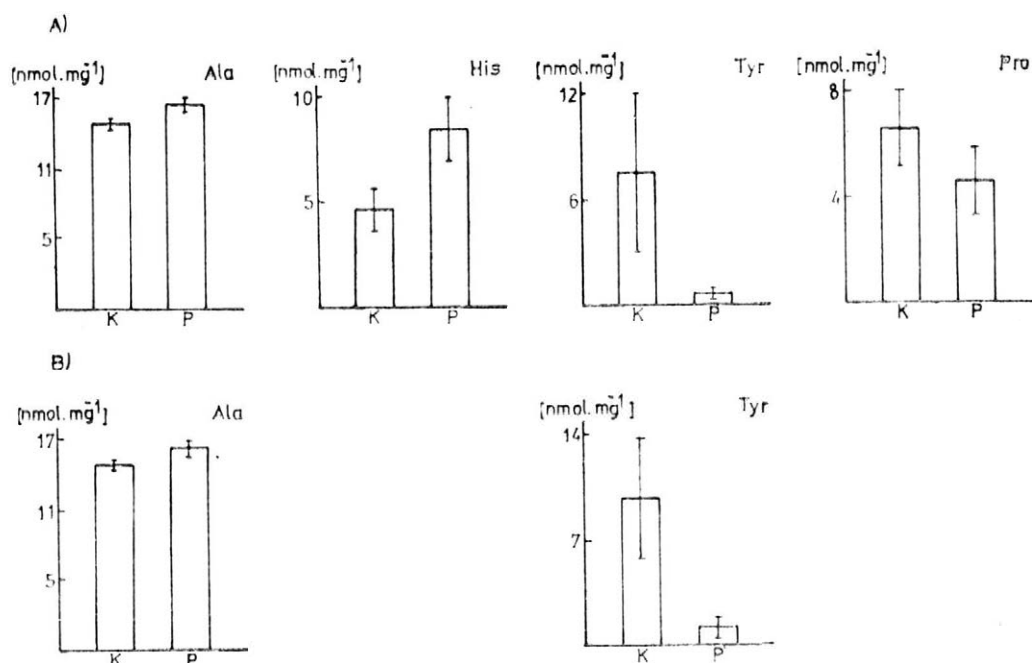
IV. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel retikula oviec — Concentration of amino acids in hydrolyzates of bacteria adhered to epithelium of bovine reticulum

Aminokyseliny ¹	Pokusná skupina ²					
	I. (k)		II. (v. d.)		III. (n. d.)	
	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd	$\bar{x}$ (n = 6) nmol . mg ⁻¹ Hy	sd
Asp	17,21	0,36	17,28	0,77	18,33	0,46
Thr	10,56	0,36	10,67	0,85	9,31 ⁺	0,16
Ser	9,75	0,28	9,31	0,29	9,35	0,56
Glu	18,50	0,66	18,12	0,49	18,87	0,28
Pro	5,64	1,56	3,73 ⁺	1,60	9,30 ⁺	0,50
Gly	14,65	0,43	14,54	1,02	14,50	0,32
Ala	15,26	0,54	16,82 ⁺	1,12	15,09	0,38
Val	10,06	0,29	10,05	0,35	10,10	0,26
Ile	7,62	0,32	7,58	0,31	7,53	0,18
Leu	12,81	0,32	12,78	0,56	12,63	0,26
Tyr	1,54	0,61	1,05 ⁺	0,10	4,58 ⁺	0,23
Phe	5,62	0,39	5,52	0,38	5,95	0,30
His	6,32	0,49	7,50 ⁺	1,15	3,34 ⁺	0,12
Lys	10,83	0,20	10,12	0,20	10,19	0,42
Arg	6,80	0,31	5,88 ⁺	0,20	6,58	0,13

For 1—2 see Tab. I

DISKUSIA

Ako z výsledkov vyplýva, najcitlivejšie na príjem rôzneho množstva dusíka v diéte reaguje skupina bachorových baktérií adherovaných na epitel ventrálnej a dorzálnej časti bachora oviec, kde sa v bakteriálnych proteínoch pochádzajúcich z epitelu dorzálnej časti bachora signifikantne menilo 15 aminokyselín a v proteínoch pochádzajúcich z epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora sa signifikantne menilo 14 aminokyselín, oproti ôsmim aminokyselinám v kaudálnej časti bachora a deviatim aminokyselinám retikula oviec (obr. 1, 2).

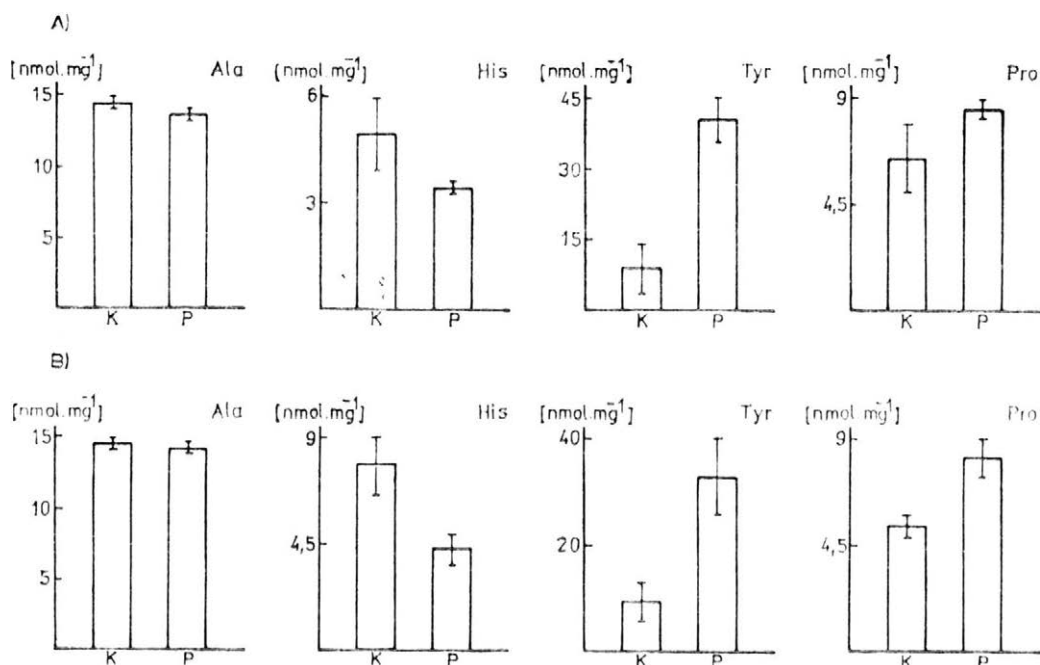


1. Vybrané aminokyseliny hydrolyzátov baktérií adherovaných na epitel ventrálnnej [A] a dorzálnej [B] časti bachora pri skŕmovaní vysokodúsikovej diéty; K — kontrolná skupina, P — II. pokusná skupina — Some amino acids of hydrolyzates of bacteria adhered to epithelium of ventral [A] and dorsal [B] parts of the ovine rumen in feeding high-nitrogen diet; K — control group, P — experimental group II

Naše zistenia, týkajúce sa zmien aminokyselinového zloženia proteínov baktérií adherovaných na epitel bachora oviec nie sú v súhlase s údajmi autorov Wallace a i. (1979) a Cheng a Costerton (1980), ktorí tvrdia, že baktérie adherované na epitel bachora sú málo citlivé na zmeny kŕmenia a že sú málo závislé na diéte.

Napriek tomu, že každý druh baktérií má zloženie aminokyselín v bielkovinách geneticky dané, dochádza v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií k zmenám v zastúpení aminokyselín. Keďže bachorové baktérie adherované na epitel bachora boli definované ako populácia taxonometricky rôznorodá (Cheng a i., 1979), vysvetľujeme si zmeny v koncentráciách aminokyselín v proteínoch epimurálnych baktérií pravdepodobne zmenou v druhovom zastúpení baktérií adherovaných na epitel bachora oviec v závislosti na rôznych dietetických podmienkach.

Experimentálne na orientačných predpokusoch sme zistili, že prídavok 160 g sacharózy do zbilancovanej kŕmnej dávky nám signifikantne neovplyvnil zloženie aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií pochádzajúcich zo všetkých štyroch topograficko-anatomických častí bachora oviec. Uvedenú skutočnosť si vysvetľujeme tým, že zbilancovaná kŕmna dávka obsahovala melasu a že ďalší prídavok sacharózy výrazne neovplyvnil vnútorné prostredie bachora (Legáth, 1988).



2. Vybrané aminokyseliny hydrolyzátov baktérií adheroovaných na epitel ventrálnej (A) a dorzálnnej (B) časti bachora oviec pri skŕmovaní nízkodusíkovej diéty; K — kontrolná skupina, P — III. pokusná skupina — Some amino acids of hydrolyzates of the bacteria adhered to epithelium of ventral (A) and dorsal (B) parts of ovine rumen in feeding low-nitrogen diet; K — control group, P — experimental group III

V hydrolyzátoch epimurálnych baktérií zo všetkých sledovaných častí bachora oviec, po skŕmovaní diéty s vysokým obsahom dusíka, sme zaznamenali signifikantný vzostup koncentrácie aminokyselín alanínu, glycínu, histidínu a signifikantný pokles tyrozínu, arginínu a prolínu. V našich pokusoch sme dospeli k podobným výsledkom ako Tamminga (1979), ktorý sledoval závislosť aminokyselinového zloženia tráveniny duodéna na aminokyselinách, ktoré sa nachádzajú v bachore. Pri skŕmovaní diéty s vysokým obsahom dusíka na báze sojového proteínu autor zaznamenal v bakteriálnej frakcii bachorového obsahu malé zvýšenie glycínu, alanínu, treonínu a lyzínu a malé zníženie arginínu, prolínu a serínu.

Výsledky, získané v našich pokusoch, charakterizujúce zmeny aminokyselinového zloženia v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií bachora oviec v závislosti na množstve prijatého dusíka, sú v súlade i s výsledkami práce Hvelplunda (1986), ktorý sledoval zmeny aminokyselinového zloženia zmesi baktérií bachorového obsahu v závislosti na diétach s rôznym obsahom dusíka. Preukázal, že dochádza k zmenám v zastúpení aminokyselín bakteriálneho pôvodu v bachore a tým následne i v duodéne v závislosti na množstve prijatého dusíka.

Z výsledkov našich experimentov vyplýva, že na rôzny príjem dusíka v diéte citlivo reagovali aminokyseliny bakteriálnych proteínov — alanín, histidín, tyrozín, arginín a prolín.

Koncentrácia alanínu a histidínu v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií pri krmení oviec diétou s vysokým obsahom dusíka signifikantne stúpala a naopak, pri kŕmení diétou s nízkym obsahom dusíka signifikantne klesla.

Zmeny v koncentráciách alanínu je možné vysvetliť tým, že alanín je súčasťou mechanizmu pre krátkodobé skladovanie amoniaku v bakteriálnych bunkách (Bartoš, 1987). Skutočnosť, že alanín je pri nedostatku deaminovaný späť na pyruvát (Havassy, 1976) vysvetľuje signifikantný pokles alanínu v hydrolyzátoch bakteriálnych proteínov pri kŕmení oviec nízkodusíkovou diétou. Taktiež môžeme vysvetliť signifikantné zníženie alanínu pri nedostatku aminokyselinového dusíka tým, že alanínový skelet v uvedených podmienkach je zabudovávaný do 80 % aminokyselin syntetizovaných *de novo* bachorovými baktériami (Syväoja a Kreula, 1980).

Syntéza histidínu prebieha samostatnou metabolickou cestou, do ktorej je zapojených najmenej deväť enzýmov (Bartoš, 1987). Z tohoto dôvodu syntéza histidínu bachorovými baktériami adherovanými na epitel bachora je pravdepodobne priamo závislá od dostatočného prísunu dusíkatých látok, čo sa odzrkadlilo v tom, že signifikantne vyššia koncentrácia histidínu oproti kontrole bola zaznamenaná v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií pri skrmovaní diéty s vysokým obsahom dusíka. Naopak signifikantne nižšia koncentrácia histidínu v uvedených hydrolyzátoch vo všetkých sledovaných častiach bachora bola zaznamenaná pri kŕmení oviec nízkodusíkovou diétou.

Pri kŕmení oviec vysokodusíkovou diétou sme pozorovali v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií bachora signifikantný pokles tyrozínu, prolínu, arginínu a naopak, pri skrmovaní nízkodusíkovej diéty sme zistili v proteínoch bachorových epimurálnych baktérií signifikantné zvýšenie koncentrácie tyrozínu a prolínu. Teda koncentrácia tyrozínu a prolínu v proteínoch baktérií adherovaných na stenu bachora nepriamo závisí od množstva dusíka v diéte.

Nami popísané zmeny v zastúpení aminokyselin v proteínoch epimurálnych baktérií svedčia o tom, že baktérie adherované na stenu bachora citlivo reagujú na prísun dusíka v diéte, resp. prísun dusíka z iných zdrojov, ktoré sú inhibované alebo aktivované pri zvýšenom alebo zníženom príjme exogénneho dusíka. Ide o endogénnu močovinu (Havassy, 1987), ktorú prežívavce v čase hladovania zadržiava v krvi a aktívne sekretuje do bachora. Môže sa jednať aj o aminokyseliny, resp. krátke peptidy, ktoré sa transportujú do bachora cez jeho stenu, nakoľko sekrécia krátkych peptidov a aminokyselin bachorovou stenou je v čase hladovania preukazne zvýšená (Várdy, 1985).

Bolo jednoznačne dokázané, že prítomnosť aminokyselin a krátkych peptidov je nevyhnutnou podmienkou a faktorom ovplyvňujúcim rast mikroorganizmov v bachore (Hume, 1970). Uvedené faktory (sekrécia endogénnej močoviny, aminokyselin a peptidov bachorovou stenou) môžu byť rozhodujúcimi pri ovplyvňovaní druhového zastúpenia baktérií na bachorovom epiteli a tým aj koncentrácie jednotlivých aminokyselin v proteínoch baktérií adherovaných na bachorovú stenu v závislosti na

V. Poradie aminokyselín podľa hmotnostného zastúpenia (v g na 100 g aminokyselín) v zmesi baktérií bachorového obsahu (Bartoš, 1987) a v proteínoch baktérií adhe-rovaných na epitel bachora — Sequence of amino acids according to weight represen-tation (in g per 100 g of amino acids) in the mixture of bacteria of ruminal content (Bartoš, 1987) and in proteins of bacteria adhered to ruminal epithelium

Poradie ¹ amino- kyselín	Baktérie bachoro- vého obsahu ²	Amino- kyseliny ³ (g · 100 g ⁻¹)	sd	Epimurálne bachorové baktérie ⁴	Amino- kyseliny ³ (g · 100 g ⁻¹)	sd
1	Asp	11,1	0,64	Glu	14,24	0,19
2	Glu	10,0	0,53	Asp	11,16	0,20
3	Leu	7,5	0,08	Arg	9,56	0,89
4	Ala	7,1	0,21	Leu	8,73	0,26
5	Lys	6,8	0,48	His	8,70	0,15
6	Val	5,8	0,41	Ala	6,68	0,30
7	Ile	5,6	0,52	Thr	6,34	0,39
8	Gly	5,4	0,18	Val	5,58	0,16
9	Thr	5,3	0,27	Gly	5,54	0,15
10	Phe	5,1	0,19	Lys	5,51	0,31
11	Arg	4,8	0,28	Ser	5,22	0,31
12	Tyr	4,6	0,29	Ile	5,14	0,24
13	Ser	4,4	0,28	Phe	4,25	0,28
14	Pro	4,3	0,26	Pro	2,82	0,93
15	His	2,3	0,15	Tyr	0,47	0,23

¹sequence of amino acids, ²bacteria of ruminal content, ³amino acids, ⁴epimural rumi-nal bacteria

rôznych nutričných podmienkach (prísune rôzneho množstva dusíka-tých látok v diéte).

Bartoš (1987) udáva vo svojej práci tabuľku hmotnostného zastúpe-nia jednotlivých aminokyselín v proteínoch baktérií bachorového obsa-hu, zostavenú podľa údajov viacerých autorov. Tieto údaje v zásade sú-hlasia s našimi výsledkami meraní v hydrolyzátoch epimurálnych bakté-rií. Najvyššie hmotnostné zastúpenie aminokyselín v hydrolyzátoch epi-murálnych baktérií sme zistili pri kyseline glutámovej, kyseline aspará-govej, arginíne a najnižšie pri tyrozíne, prolíne a fenylalaníne. Poradie aminokyselín podľa hmotnostného zastúpenia v hydrolyzátoch nami sle-dovaných epimurálnych baktérií a poradie aminokyselín podľa hmot-nostného zastúpenia v bakteriálnych bielkovinách uvedených v práci Bartoša (1987) udáva tab. V.

Literatúra

- BARTÍK, M. — ROSIVAL, I.: Dusičnany a močovina vo výžive zvierat. Bratislava, Pri-roda 1971, s. 47—52.
 BARTOŠ, S.: Mikrobiologie a biochemie trávení v bachoru prežvýkavců. Praha, Acade-mia 1987, s. 96—110.
 BRYANT, M. P.: Symposium on microbial digestion in ruminants: identification of groups of anaerobic bacteria active in rumen. J. anim. Sci., 22, 1963, s. 801—807.

- COOK, A. R.: Urease activity in the rumen of sheep and the isolation of ureolytic bacteria. *J. gen. Microbiol.*, 92, 1976, s. 32—48.
- COSTERTON, J. W.: The role of bacterial exopolysaccharides in nature and disease. *Dev. ind. Microbiol.*, 26, 1985, s. 249—261.
- HAVASSY, I.: Nové mechanizmy bakteriálnej syntézy dusíkatých látok v bachore. In: Zbor. Ref. Symp., Biokoviny, ich zdroje a problémy využitia živočíšnym organizmom, 19.—21. október 1987, Štrbské Pleso.
- HAVASSY, I.: Využitie endogénnej močoviny u prežúvavcov. (Doktorská dizertácia.) Košice, 1976. — Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV.
- HUME, J. D.: Synthesis of microbial protein in the rumen: III. The effect of dietary protein. *Austral. J. Agric. Res.*, 21, 1970, s. 305—314.
- HVELPLUND, R.: The influence of diet on nitrogen and amino acid content of mixed rumen bacteria. *Acta Agric. scand.*, 36, 1986, s. 325—331.
- CHENG, K. J.: Benefiting ruminants manipulation by bacteria that degrade fibrous feeds and bacteria that adhere to the digestive tract surfaces. In: Second FAO/IAEA research coordination meeting on isotope-aided studies on nonprotein nitrogen and agro-industrial by products utilisation in ruminant nutrition with particular reference to developing countries. V. I. C., Vienna, Austria, 1984.
- CHENG, K. J. — AKIN, D. E. — COSTERTON, J. W.: Rumen bacteria: interaction with particular dietary components and response to dietary variation. *Fed. Proc. Fed. Amer. Soc. Exp. Biol.*, 36, 1977, s. 193—197.
- CHENG, K. J. — COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria — their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: RUCKEBUSCH, Y. — THI-REND, P. (eds): Digestive physiology and metabolism in ruminants, MTP Press Ltd., England, 1980, s. 227—250.
- CHENG, K. J. — COSTERTON, J. W.: Adherent rumen bacteria — their role in the digestion of plant material, urea and epithelial cells. In: Digestive physiology and metabolism in ruminants. Proceedings of the 5th. int. Symp. on ruminant physiology, Clermont-Ferrand, MTP Press Ltd. 1979, s. 227—247.
- CHENG, K. J. — FAY, J. P. — COLEMAN, R. N. — MILLIGAN, L. P. — COSTERTON, J. W.: Formation of bacterial microcolonies on feed particles in the rumen. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 1981, s. 298—305.
- CHENG, K. J. — McCOWAN, R. P. — COSTERTON, J. W.: Adherent epithelial bacteria in ruminants and their roles in digestive tract function. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 32, 1979, s. 139—148.
- LEGÁTH, J.: Štúdium aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adhezaných na epitel bachora oviec za rôznych nutričných podmienok. (Kandidátska dizertácia.) Košice 1988. — Vysoká škola veterinárna.
- LEGÁTH, J. — TIMKOVIČOVÁ, M. — TOMÁŠ, J. — JAVORSKÝ, P. — BELÁK, M.: Elúcia baktérií adhezaných na epitel bachora oviec a ich elektrónovomikroskopický dôkaz. *Veter. Med. [Praha]*, 35, 1990, s. 397—402.
- McCOWAN, R. P. — CHENG, K. J. — BAILEY, C. B. M. — COSTERTON, J. W.: Adhesion of bacteria to epithelial cell surfaces within the reticulorumen of cattle. *Appl. Environ. Microbiol.*, 35, 1978, s. 149—155.
- McCOWAN, R. P. — CHENG, K. J. — COSTERTON, J. W.: Adherent bacterial population on the bovine rumen wall: distribution patterns of adherent bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 1980, s. 233—241.
- MUHRER, M. E. — CARROLL, E. J.: Urea utilizing microorganisms in the rumen. *J. anim. Sci.*, 23, 1964, s. 855—859.
- SYVÄOJA, E. L. — KREULA, M.: Incorporation of radioactive carbon from (¹⁴C) alanine in the rumen of a cow given feed containing urea as the sole source of nitrogen. *J. Sci. Agric. Soc. Fin.*, 52, 1980, s. 69—74.
- TAMMINGA, S.: Nitrogen degradation in the forestomachs of ruminants. *J. anim. Sci.*, 49, 1979, s. 1615—1630.
- VÁRADY, J.: Výmenné procesy dusíkatých látok medzi krvou a tráviacim traktom prežúvavcov. *Poľnohosp. Veda, Ser. C*, 1985, s. 11—144.
- WALLACE, R. J. — CHENG, K. J. — DINSDALE, D. — ORSKOV, E. R.: An independent microbial flora of the epithelium and its role in the ecomicrobiology of the rumen. *Nature [London]*, 279, 1979, s. 424—426.
- WOZNY, M. A. — BRYANT, M. P. — HOLDEMAN, L. V. — MOORE, W. E. C.: Urease assay and urease — producing species of anaerobes in the bovine rumen and rumen faeces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1977, s. 1097—1104.

Došlo dňa 17. 6. 1991

LEGÁTH, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Changes of amino-acid levels in hydrolyzates of bacteria adhered to the ovine ruminal wall during feeding with high and low nitrogen diets*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5-6): 293-305.

The effects of low and high nitrogen diets on amino acid levels were studied in hydrolyzates of ruminal bacteria adhered to four topographically different anatomic parts of the ruminal wall (dorsal, ventral and caudal parts as well as reticulum) in 18 sheep of the Slovak Merino breed divided into three experimental groups. The epimural bacteria of the dorsal and ventral parts of the ovine rumen revealed the most sensitive reaction to the varying amounts of nitrogen ingested with the diet. In hydrolyzates of ruminal bacteria adhered to the dorsal and ventral epithelium, 15 and 14 amino acids were changing (Figs. 1, 2). In hydrolyzates of epimural bacteria, a sensitive reaction was observed in the following amino acids: alanin, histidin, thyrosin, arginin and prolin (Tabs. I-IV). In all topographical and anatomical parts of the rumen, both alanin and histidin levels in hydrolyzates of epimural ruminal bacteria significantly increased with the diet with high-nitrogen content fed, but was falling in sheep fed with low-nitrogen diet. Changes in alanin concentrations may be explained by the fact that alanin forms a part of the mechanism for short-time storage of ammonia in bacterial cells (Bartoš, 1987). The fact that alanin is in its lack deaminated to pyruvate (Havassy, 1976) is explained by significant fall in alanin contained in hydrolyzates of bacterial proteins when fed low nitrogen diets. Significant fall in alanin in shortage of amino acid boud nitrogen can be explained by the fact that under these conditions, the alanin skeleton is being incorporated in to 80 % of amino acids synthesized de novo by ruminal bacteria (Syväoja and Kreula, 1980). When sheep flock was fed the high-nitrogen diet, thyrosin and prolin levels were significantly reduced in hydrolyzates of epimural bacteria from all parts of the rumen, while low-nitrogen diet significantly increased the concentrations of both given amino acids in comparison with the control. Bartoš (1987) gives in his study the table containing weight representation of different amino acids in proteins of bacteria of the ruminal content compiled on the basis of data of several authors. These data principally correspond to the results of our measurements in hydrolyzates of epimural bacteria. The highest weight representation of amino acids in hydrolyzates of epimural bacteria was found for glutamic acid, aspartic acid and arginine, while the lowest ones were detected for thyrosin, prolin and phenylalanin. The sequence of amino acids according to weight representation in hydrolyzates of epimural bacteria investigated by us, and the sequence of amino acids according to weight representation in bacterial proteins as referred by Bartoš (1987) is presented in Tab. V. Changes in amino acid composition of proteins observed in bacteria adhered to the ruminal epithelium do not support the suggestion of some authors according to which bacteria adhered to the ruminal epithelium reveal both low sensitivity to feeding changes and low dependence on the diet. Our experiments demonstrated that the ingestion of various nitrogen levels in the diet resulted in the changes in amino acids levels in bacteria adhered to epithelium of the dorsal, ventral and caudal parts of the rumen as well as reticulum.

rumen; adherent bacteria; amino acids; low and high-nitrogen diets

Adresa autora:

MVDr. Jaroslav Legáth, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73,
041 81 Košice

INZERCE

Redakce časopisu nabízí tuzemským i zahraničním firmám možnost inzerce na stránkách časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA. Prostřednictvím inzerátů uveřejňovaných v našem časopise budou o Vašich výrobcích informováni pracovníci z výzkumu a provozu u nás i v zahraničí.

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
k rukám ing. Z. Radošové
Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Slezská 7
120 56 Praha 2

ADVERTISEMENT

The Editors of this journal offer to the Czechoslovak as well as foreign firms the possibility of advertising on pages of the VETERINÁRNÍ MEDICÍNA journal. Through your adverts published in our journal, the specialists both from the field of research and production will be informed about your products.

For a more detailed information; please contact:

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
attn. ing. Z. Radošová
Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
Slezská 7
120 56 Praha 2

OBJEM JADIER BUNIEK ZRNITEJ VRSTVY A VNÚTORNÉHO PUZDRA NAJVÄČŠIEHO DOMINANTNÉHO AJ ATRETICKÉHO TERCIÁRNEHO FOLIKULU OVIEC V PROCESE SELEKCIE

I. Maraček, Z. Maračeková, V. Hendrichovský, M. Maretta

MARAČEK, I. — MARAČEKOVÁ, Z. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARETTA, M. [Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice]: *Objem jadier buniek zrnitej vrstvy a vnútorného puzdra najväčšieho dominantného aj atretického terciárneho folikulu oviec v procese selekcie*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (5—6): 307—317.

Na karyometriu folikulových buniek zrnitej vrstvy (*stratum granulosum*-SG) a vnútorného puzdra (*theca folliculi interna*-TFI) sa použili histologické preparáty z ovárií 18 oviec 3 až 5-ročných, držaných v štandardných podmienkach úžitkového chovu. Prvú kontrolu ($n=3$) tvorili ovce na 15. deň pohlavného cyklu (0. deň). Vaječníky pokusnej skupiny ($n=3$) sa excidovali na 16. deň cyklu, keď 10 a 7 h pred odberom vzoriek sme ovce *i.m.* ošetrili 120 μ g GnRH. Druhú kontrolu ($n=3$) tvorili ovce z 9. alebo 10. dňa estrálneho cyklu (0 hodín) a 3 pokusné skupiny (po $n=3$) tvorili ovce 24,48 a 72 h po *i.m.* podaní 125 μ g cloprostenolu. Ošetrovanie gonadoliberínom GnRH v prípravku Dirigestrán inj. Spôsob zvýšil jadrový objem folikulových buniek SG u dominantného ovulácijschopného folikulu v procese selekcie. Redukoval však objem bunkového jadra nielen folikulových buniek SG veľkých atretických folikulov, ale aj sekrečných buniek TFI obidvoch dominantných ovulácijschopných folikulov aj atretických folikulov. Cloprostenol podporné pôsobil na folikulové bunky SG u dominantného ovulácijschopného folikulu na ostatné sledované bunkové typy u obidvoch kategórií veľkých antrálnych folikulov znižuje objem bunkových jadier. Zdá sa, že v interpretácii procesu selekcie dominantného preovulačného folikulu u oviec je opodstatnená hypotéza aktívnej eliminácie.

ovca; objem jadier; folikulové bunky; karyometria; pohlavný cyklus; GnRH; cloprostenol; dominantný Graafov folikul

U väčšiny plemien oviec jeden, prípadne dva folikuly ovulujú na konci ruje v každom pohlavnom cykle a osudom väčšiny ovariálnych folikulov je atrézia. Vytvorenie preovulačného dominantného folikulu je výsledkom komplexnej interakcie rastúcich folikulov vaječníka a hypotalamo-hypofyziálneho systému s intraovariálnymi a parakrinnými regulačnými mechanizmami (Driancourt a i., 1985a, b; Murdoch, 1985, 1986; Erickson, 1986; Hsueh, 1986; Findlay a Clarke, 1987). Dej diferenciácie dominantného folikulu je dvojstupňový proces, v ktorom rastúce terciárne folikuly sú zvýhodnené intenzívnym rastom

v dôsledku gonadotropnej stimulácie. Vývoj folikulov s väčším priemerom ako 2 mm sa volá rekrutácia a folikuly s priemerom 2–5 mm sú rekrutované. Po ich ďalšej stimulácii nastupuje proces selekcie folikulov s priemerom väčším ako 5 mm a výsledkom je jeden, výnimočne dva dominantné ovulujúce folikuly, pričom ostatné folikuly podliehajú atrezii (Driancourt a i., 1985a, b; Murdoch, 1985). Rekrutácia nastupuje v čase okolo luteolýzy a selekčný proces vo folikulárnej fáze. Finalizácia diferenciacie dominantného folikulu sa interpretuje dvoma hypotézami, a to hypotézou vývojevej stability a hypotézou aktívnej eliminácie (Driancourt a i., 1985).

Vzájomný vzťah medzi zmenami veľkosti bunkového jadra a látkovou výmenou buniek určuje základný problém využívania karyometrie ako významnej kvantitatívnej histologickej alebo cytologickej metódy hlavne vo výskume centrálnej nervovej a endokrinnnej sústavy.

Z dostupných literárnych údajov vyplýva, že sa zistil zväčšený jadrový objem buniek žliaz s vnútornou sekréciou, rôznych štruktúr medzi mozgu a endokrinných štruktúr vaječníka, keď skúmaný orgán alebo štruktúra bola aktívnejšia a zmenšený objem bunkových jadier, keď aktivity činnosti sledovaného ústroja alebo jeho štruktúry sa utlmila (Mess, 1962; Maraček a Arendarčík, 1976, 1978). Vysoké dávky účinných látok až trojnásobne zväčšili objem bunkových jadier alebo ho trojnásobne redukovali (Palkovits, 1961).

V práci sme sústredili pozornosť na karyometrickú analýzu folikulových buniek zrnitej vrstvy (*stratum granulosum*-SG) a sekrečných buniek vnútorného púzdra (*theca folliculi interna*-TFI) v priebehu selekcie dominantného ovulácie schopného folikulu (DOF).

Cieľom bolo zistiť rozdiely v objeme bunkového jadra folikulových buniek zrnitej vrstvy a sekrečných buniek vnútorného púzdra vo veľkých dominantných ovulácie schopných folikuloch (DOF) v porovnaní s atretickými folikulmi (AF) s overením možnosti využitia metódy variačno-statistickej karyometrickej analýzy na hodnotenie priebehu selekčného procesu dominantného ovulácie schopného terciárneho folikulu.

MATERIÁL A METÓDY

V práci sme použili histologické preparáty z veľkých dominantných ovulácie schopných terciárnych folikulov a veľkých antrálnych atretických terciárnych folikulov z vaječníkov 18 oviec vo veku 3–5 rokov. Zvieratá sa chovali v štandardných podmienkach kontrolovaného úžitkového chovu. Prvú kontrolnú skupinu vaječníkov troch oviec plemena zošľachtená valaška sme odobrali na 15. deň pohlavného cyklu (0. deň = deň ruje). Pokusnú skupinu vaječníkov z troch valašských oviec sme excidovali na 16. deň pohlavného cyklu, pričom 10 a 7 hodín pred excíziou sme ovce i. m. ošetrili 120 µg gonadoliberínom (GnRH) v prípravku Dirigestan inj. Spofa.

Druhú kontrolnú skupinu tvorili vaječníky troch oviec plemena slovenská cigája, ktoré sa excidovali 9. alebo 10. deň pohlavného cyklu, t. j. vo fáze rozkvetu žltého telieska (0 hodín). V tomto čase boli ošetrené druhé pokusné ovce i. m. podaním 125 µg cloprostenolu v prípravku Oestrophan inj. Spofa. Na 24., 48. a 72. hodinu po ošetrení sa excidovali vaječníky vždy od troch oviec.

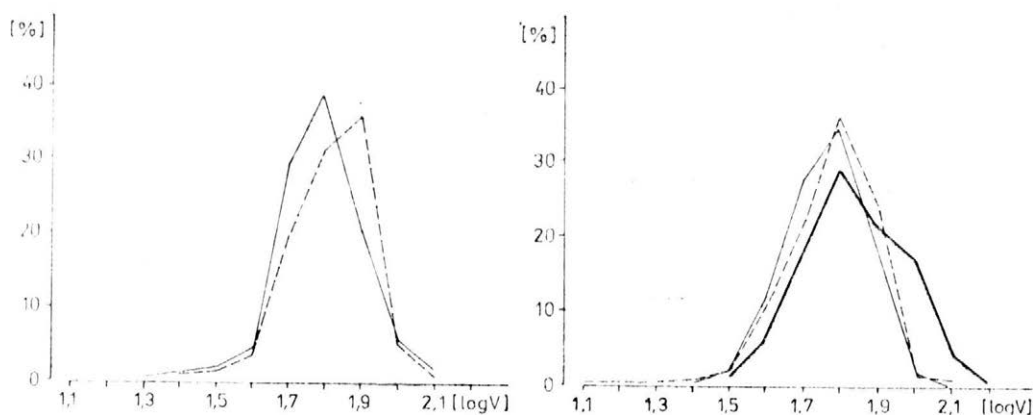
Excidované vaječníky sme fixovali v 10% neutrálnom formalíne a štandardne histologicky spracovali po prirezaní na segmenty v intervale 4 mm. Priechne 5–7 µg hrubé parafínové rezy sme ofarbili hematoxylín-eozínom s použitím hematoxylínu podľa Harris. Po výbere preparátov s rezom cez dominantný ovulácie schopný folikul ako aj preparátov s rezom cez veľký terciárny atretický folikul sme pomocou mikroskopu DO-CUVAL Carl Zeiss Jena merali jadrá folikulových buniek SG a sekrečných buniek TFI pri 2200násobnom zväčšení. Pri karyometrickej analýze sme postupovali metódou podľa Palkovitsa (1961) s využitím osobného počítača PMD 85-1 s programom Karyotest 03

[Maraček a i., 1991]. Z každého hodnoteného folikulu sme analyzovali jadrá z 200 buniek zrnitej vrstvy (SG) a 200 buniek vnútorného púzdra (TFI) to znamená, že sme karyometricky zhodnotili 7200 buniek.

VÝSLEDKY

Výsledky karyometrickej analýzy folikulových buniek zrnitej vrstvy — SG dominantných ovulácie schopných folikulov — DOF v priebehu selekcie v luteálnej fáze, prvej tretine folikulárnej fázy pohlavného cyklu a po ovplyvnení s gonadoliberínom alebo luteolyticky pôsobiacim cloprosteno-
 nom sú zhrnuté v tab. I a znázornené vo variačných krivkách na obr. 1. Z ľavej polovice obr. 1 je vidieť, že u DOF stimulačne pôsobí na bunkové jadrá SG ošetrovanie dvomi dávkami GnRH. Dokumentuje to posun variačnej krivky do prava po podaní GnRH v porovnaní s kontrolou. Podanie cloprostenolu nevyvolalo posun variačnej krivky, pritom však znížením miery variácie zúžením variačnej krivky sa prejavil podporný účinok luteolyticky pôsobiaceho prostaglandínu na bunky SG u dominantných folikulov.

Z tab. I a obr. 2 je vidieť, že obidva spôsoby ošetrovania s GnRH vo folikulárnej fáze, ako aj cloprostenolom v luteálnej fáze pohlavného cyklu



1. Variačné krivky jadrového objemu folikulárnych buniek zrnitej membrány u dominantných folikulov — The variation curves of the nuclear volume of the follicular cells of the *stratum granulosum* in dominant follicles

Vysvětlivky pro obr. 1—4 — Explanatory notes to Figs. 1—4:

Kontrola I (GnRH): ——— 15. deň cyklu, — — — 10 a 7 h; kontrola II (cloprostenol): ——— 0 h, ——— 24 h, — — — 48 h, — . . . — 72 h — Control I (GnRH): ——— 15th day of the cycle, — — — 10 and 7 h; control II (cloprostenol): ——— 0 h, ——— 24 h, — — — 48 h, — . . . — 72 h

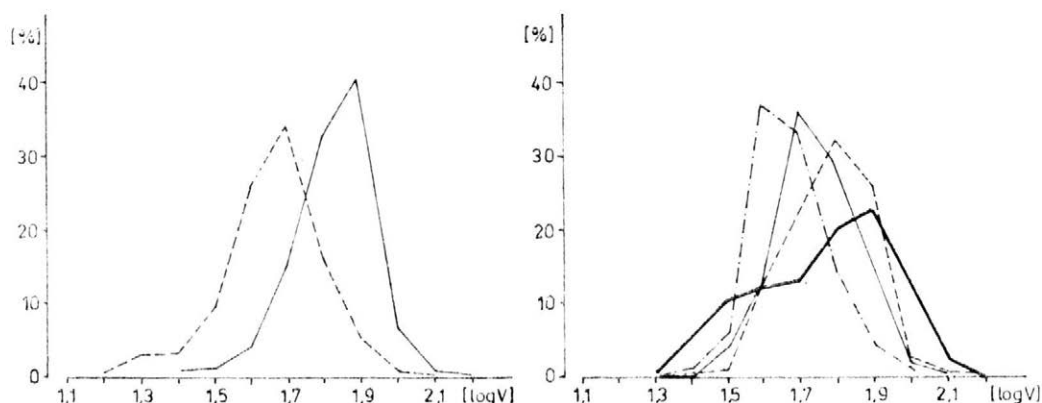
I. Priemerný percentuálny rozpočet objemu jadier folikulových buniek zrnitej vrstvy (*stratum granulosum*) najväčších terciárnych folikulov dominantných (DOF) a atretických (AF) — Mean percentage of the nuclear volume of the follicular cells in the *stratum granulosum* of the largest dominant ovulatory follicles (DOF) and atretic follicles (AF)

log V μm^3	Počet jadier ¹ (%)											
	dominantný ovulácie schopný folikul ²						atretický folikul ³					
	kontrola 15. deň cyklu ⁴	GnRH	cloprostenol				kontrola 15. deň cyklu ⁴	GnRH	cloprostenol			
			0 h	24 h	48 h	72 h			0 h	24 h	48 h	72 h
0,8												
0,9	—	—	—	—	0,12	—	—	—	—	—	—	—
1,0	—	—	—	—	0,13	—	—	—	—	—	—	—
1,1	—	—	—	—	0,13	—	—	0,66	—	—	—	—
1,2	0,25	—	—	—	—	—	—	3,33	0,50	0,50	0,12	0,25
1,3	1,25	0,66	—	0,50	0,70	—	0,50	3,33	5,83	0,16	0,88	1,75
1,4	2,00	1,50	1,33	1,83	2,00	—	1,00	9,66	10,17	4,00	1,50	6,00
1,5	4,75	3,66	6,83	12,33	11,00	—	4,00	25,50	12,50	13,83	13,00	27,25
1,6	24,00	18,66	18,00	28,83	21,88	—	15,25	34,33	13,16	35,83	22,50	33,25
1,7	39,00	31,00	29,33	35,33	36,62	—	32,50	16,00	20,00	228,83	32,25	15,50
1,8	21,00	36,16	21,50	18,83	24,88	—	38,00	5,83	22,67	14,83	26,25	5,00
1,9	6,00	7,00	17,83	1,50	2,12	—	7,00	1,00	12,16	1,83	2,88	1,00
2,0	1,75	1,33	4,83	0,83	0,37	—	1,00	0,33	2,83	0,16	0,50	—
2,1	—	—	0,33	—	—	—	0,75	—	0,16	—	0,12	—
2,2												

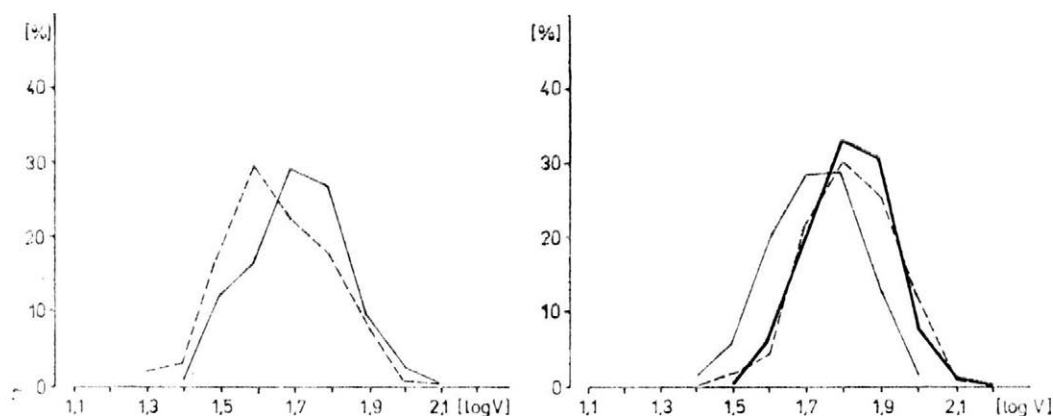
¹number of nuclei, ²dominant ovulatory follicle, ³atretic follicle, ⁴control day 15 of the cycle

u veľkých antrálnych atretických folikulov — AF inhibične pôsobí na folikulové bunky SG, o čom svedčí posun variačnej krivky do ľava, t. j. objem bunkových jadier sa redukuje.

Z tab. II a priebehu variačných kriviek jadrového objemu sekrečných buniek vnútorného púzdra TFI tak z DOF (obr. 3) ako aj z AF (obr. 4) je vidieť, že obidva postupy ošetrovania nielen s GnRH, ale aj cloprostenolom inhibične pôsobili na sekrečné bunky vnútorného púzdra TFI. Dokazujú to posuny variačných kriviek do ľava u pokusných skupín oviec.



2. Variačné krivky jadrového objemu folikulárnych buniek zrnitej membrány u atretických folikulov — The variation curves of the nuclear volume of the follicular cells of the *stratum granulosum* in atretic follicles



3. Variačné krivky jadrového objemu folikulárnych buniek vnútorného obalu u dominantných folikulov — The variation curves of the nuclear volume of the follicular cells of the *theca folliculi interna* in dominant follicles

II. Priemerný percentuálny rozpočet objemu jadier sekréčných buniek vnútorného puzdra [*theca folliculi interna*] najväčších terciárnych folikulov dominantných (DOF) a atretických (AF) — Mean percentage of the nuclear volume of the secretory cells in the *theca folliculi interna* of the largest dominant ovulatory follicles (DOF) and atretic follicles (AF)

log V μm^3	Počet jadier ¹ [%]											
	dominantný ovulációschný folikul ²						atretický folikul ³					
	kontrola 15. deň cyklu ⁴	GnRH	cloprostenol				kontrola 15. deň cyklu ⁴	GnRH	cloprostenol			
			0 h	24 h	48 h	72 h			0 h	24 h	48 h	72 h
1.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.2	—	2,33	—	—	—	—	0,75	1,83	—	0,66	—	—
1.3	0,75	3,33	—	1,50	0,83	—	0,25	4,66	6,50	3,33	1,00	0,50
1.4	12,25	18,33	0,33	6,16	2,12	—	13,00	31,16	13,33	13,00	7,63	16,00
1.5	17,00	29,66	6,50	20,00	5,00	—	25,75	23,83	14,50	24,33	20,87	33,50
1.6	29,50	22,50	19,00	28,50	22,00	—	23,00	21,16	19,50	24,00	34,87	26,50
1.7	27,25	18,33	33,67	28,83	30,25	—	28,75	10,33	20,84	22,50	25,63	16,00
1.8	10,00	9,16	31,00	13,33	26,13	—	8,50	6,50	17,84	10,16	8,75	6,75
1.9	3,00	1,16	8,33	1,66	12,37	—	1,00	1,00	5,00	1,83	1,15	0,75
2.0	0,25	0,16	1,00	—	1,25	—	—	—	2,16	0,16	—	—
2.1	—	—	0,16	—	0,37	—	—	—	0,33	—	—	—
2.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

For 1—4 see Tab. I

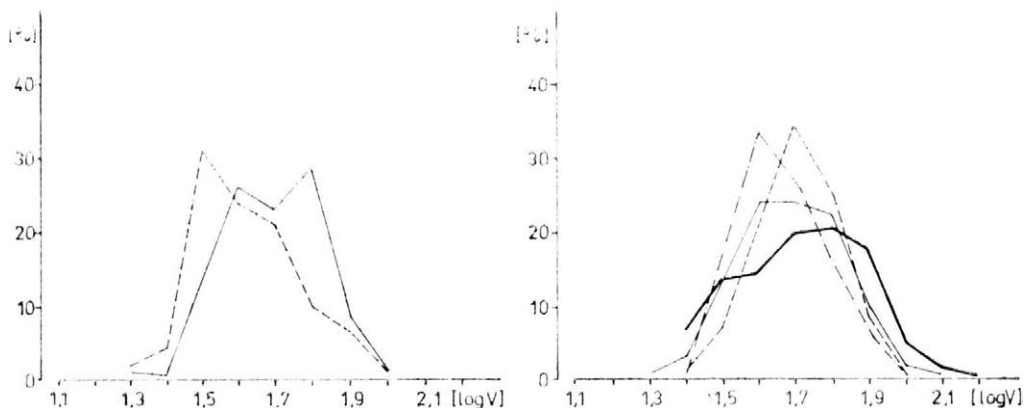
III. Priemerný objem jadra folikulových buniek zrnitej vrstvy (*stratum granulosum*) najväčších terciárnych folikulov dominantných (DOF) a atretických (AF) — Mean nuclear volume of the follicular cells in the *stratum granulosum* of the largest dominant ovulatory follicles (DOF) and atretic follicles (AF)

Ukazovateľ ¹	Objem ² (μm^3)											
	dominantný ovulációschný folikul ³						atretický folikul ⁴					
	kontrola 15. deň cyklu ⁵	GnRH	cloprostenol				kontrola 15. deň cyklu ⁵	GnRH	cloprostenol			
			0 h	24 h	48 h	72 h			0 h	24 h	48 h	72 h
$\bar{x}$	50,50	54,25	56,50	46,32	48,01	—	54,97 ^a	37,78 ^a	49,46	44,37	48,05 ^b	37,70 ^b
σ	13,31	12,08	13,28	10,93	11,30	—	13,89	11,19	11,84	9,99	11,35	9,11
m	7,68	6,97	7,67	6,31	6,52	—	8,02	6,46	6,84	5,77	6,55	5,26
pomer meraných osí ⁶												
L : B	1,09	1,07	1,13	1,10	1,13	—	1,08	1,10	1,10	1,08	1,12	1,09

a = štatistická významnosť $P < 0,001$ ($t = 9,02788$) — statistical significance $P < 0,001$ ($t = 9,02788$)

b = štatistická významnosť $P < 0,05$ ($t = 2,77681$) — statistical significance $P < 0,05$ ($t = 2,77681$)

¹parameter, ²volume, ³dominant ovulatory follicle, ⁴atretic follicle, ⁵control day 15 of the cycle, ⁶ratio of measured axes



4. Variačné krivky jadrového objemu folikulárných buniek vnútorného obalu v atretických folikuloch — The variation curves of the nuclear volume of the follicular cells of the *theca folliculi interna* in atretic follicles

V tab. III sú zhrnuté výsledky skutočných priemerných objemov jadier folikulových buniek zrnitej vrstvy v μm^3 najväčších (DOF a AF) terciárnych folikulov. Z údajov tab. III je vidieť, že pri štatistickom hodnotení priemerných údajov trojčlenných súborov dominantných ovulációschopných ako aj atretických folikulov z 200 meraných bunkových jadier sa zaznamenali signifikantné rozdiely priemerných objemov u atretických folikulov tak po podaní GnRH, aj po cloprostenole.

Z výsledkov stanovenia priemerného objemu buniek vnútorného púzdra v mikrometroch kubických (tab. IV) vyplýva, že použitý prípravok na báze cloprostenolu hlavne ovplyvňuje a vyvoláva signifikantné zmeny u dominantných ovulációschopných folikulov na bunkách vnútorného púzdra — *theca folliculi interna*.

DISKUSIA

Zmenený objem bunkového jadra veľmi citlivo signalizuje funkčnú zmenu na úrovni metabolizmu a syntézy enzymatických systémov alebo určitých produktov (hormóny, neurotransmitery a iné). Napriek tejto skutočnosti sa plne nevyužívajú výhody karyometrickej analýzy v experimentálnej kvantitatívnej morfológii. Príčinou tohoto stavu je spravidla časovo náročný systém hodnotenia a spracovávanie výsledkov. V našej práci sme využili prv vypracovaný software pre osobný počítač PMD 85-1 [Marček a i., 1991], ktorý urýchlil časove náročné klasické hodnotenie karyometrickej analýzy a umožnil simultánne stanoviť skutočný objem v μm^3 a jeho dekadický logaritmus ako aj zatriedenie do príslušnej veľkostnej triedy pre zhotovenie a hodnotenie variačných kriviek.

Dosiahnuté výsledky sú porovnateľné s klasickými nálezmi, hlavne čo sa týka zmeny veľkosti jadra a pomeru elongovaných a elipsoidných jadier buniek granulózy v priebehu atrézie. Zaznamenané podporné účinky

IV. Priemerný objem jadra sekréčných buniek vnútorného púzdra (*theca folliculi interna*) najväčších terciárnych folikulov dominantných (DOF) a atretických (AF) — Mean nuclear volume of the secretory cells in the *theca folliculi interna* of the largest dominant ovulatory follicles (DOF) and atretic follicles (AF)

Ukazovateľ ¹	Objem ² (μm^3)											
	dominantný ovulációschný folikul ³						atretický folikul ¹					
	kontrola 15. deň cyklu ⁵	GnRH	cloprostenol				kontrola 15. deň cyklu ⁵	GnRH	cloprostenol			
			0 h	24 h	48 h	72 h			0 h	24 h	48 h	72 h
$\bar{x}$	42,44	37,86	53,12 ^a	42,57 ^a	53,96 ^b	—	42,79	34,58	44,56	39,69	41,46	37,58
σ	11,69	12,38	0,92	6,54 ^b	8,19	—	10,68	8,73	11,64	11,09	10,34	8,81
m	6,75	7,15	6,87	5,89	7,21	—	6,17	5,04	6,72	6,40	5,97	5,09
pomer meraných osí ⁶												
L : B	1,32	1,28	1,16	1,25	1,34	—	1,35	1,26	1,20	1,26	1,34	1,23

a = štatistická významnosť $P < 0,01$ ($t = 8,09583$) — statistical significance $P < 0.01$ ($t = 8.09583$)

b = štatistická významnosť $P < 0,05$ ($t = 3,10110$) — statistical significance $P < 0.05$ ($t = 3.10110$)

For 1—6 see Tab. III

cloprostenolu na sledované bunkové typy podporujú stanoviská o kľúčovom význame luteolýzy pri rekrutácii a po jej ukončení nastupuje selekcia v procese rastu a zrenia dominantného ovulációschného folikulu (Driancourt a i., 1985a, b; Murdoch, 1985, 1986; Erickson, 1986). Inhibujúci efekt GnRH na bunky téky tak u dominantného a atretického folikulu ako aj na folikulové bunky SG podporujú názory o uplatnení hypotézy aktívnej eliminácie v terminálnej fáze selekcie dominantného ovulációschného Graafovho folikulu, kde môžu hrať významnú úlohu peptidy podobné gonadoliberínu (Driancourt a i., 1985a, b; Murdoch, 1985, 1986, 1988; Findlay a Clarke, 1987).

Výsledky štatistického hodnotenia zmien priemerných hodnôt stanovených objemov jadier folikulových buniek zrnitej vrstvy a sekrečných buniek vnútorného púzdra poukazujú na to, že hlavný účinok cloprostenolu sa uplatňuje v štruktúre vnútorného púzdra u dominantných ovulációschných Graafových folikulov.

Literatúra

- DRIANCOURT, M. A. — GIBSON, W. R. — CAHILL, L. P.: Follicular dynamics throughout the oestrous cycle in sheep. *Rev. Reprod. Nutr. Develop.*, 25, 1 A, 1985a, s. 1—15.
- DRIANCOURT, M. A. — CAHILL, L. P. — BINDON, B. M.: Ovarian follicular populations and preovulatory enlargement in Booroola and control Merino ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 73, 1985b, s. 93—107.
- ERICKSON, G. F.: An analysis of follicle development and ovum maturation. In: *Seminars in Reproductive Endocrinology* 4, 1986, s. 233—254.
- FINDLAY, J. K. — CLARKE, I. J.: Regulation of the secretion of FSH in domestic ruminants. *J. Reprod. Fertil.*, 34, 1987, s. 27—37.
- HSUEH, A. J. W.: Paracrine mechanisms involved in granulosa cell differentiation. *Clin. Endocrin. Metab.*, 15, 1986, s. 117—134.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J.: Histologické a karyometrické zmeny adenohipofýzy oviec vo vzťahu k aktivite FSH a ICSH po aplikácii estradiol dipropionátu. *Folia veter.*, 20, 1976, s. 25—36.
- MARAČEK, I. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M.: Histologické a karyometrické zmeny periodického žltého telieska jalovic po aplikácii melengestrol acetátu. *Veter. Med. (Praha)*, 23, 1978, s. 669—680.
- MARAČEK, R. — ELEČKO, J. — MARAČEK, I.: Program na stanovenie objemu jadra endokrinných buniek a hodnotenie karyometrických parametrov buniek žltého telieska oviec po podaní cloprostenolu aplikáciou počítača PMD 85-1. *Zbor. ved. Prác Košice*, 7, 1991, s. 47—59.
- MESS, B.: A pajzsmirigy szövetei képeinek kvantitatív értékelő módszerei. In: *A kísérleti orvostudomány vizsgáló módszerei VI. kötet, szerkesztette Kovács, A., Akadémiai Kiadó, Budapest*, 1962, s. 494—522.
- MURDOCH, W. J.: Follicular determinants of ovulation in the ewe. *Domestic animal Endocrinology*, 2, 1985, s. 106—121.
- MURDOCH, W. J.: Accumulation of thromboxane B₂ with in periovulatory ovine follicles: relationship to adhesion of platelets to endothelium. *Prostaglandins*, 32, 1986, s. 597—604.
- MURDOCH, W. J.: Disruption of cellular associations within the granulosa compartment of periovulatory ovine follicles: relationship to maturation of the oocyte and regulation by prostaglandins. *Cell Tissue Res.*, 252, 1988, s. 459—462.
- PALKOVITS, M.: A sejtmegvariációs statisztikai eljárás módszerének egyszerűsítése és a mérési hibaforrások kiküszöbölésének feltételei. *Kísér. Orvostudom.*, 14, 1961, s. 249—262.

Došlo dňa 16. 1. 1991

MARAČEK, I. — MARAČEKOVÁ, Z. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARETTA, M. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice): *Nuclear volume of the granulosa and internal theca cells in the largest dominant as well as atretic tertiary follicles of sheep in the process of selection. Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5—6): 307—317.

According to available literary data, an increased nuclear volume of endocrine gland cells, various structures of the diencephalon and endocrine ovarian structures could be observed when the respective organs and structures were more active; a decreased nuclear volume was revealed when the activity of the respective organ or its structure was suppressed [Mess, 1962; Maraček and Arendarčík, 1976, 1978]. Attention was paid to the karyometric analysis of follicular cells of the *stratum granulosum* (SG) and secretory cells of the *theca folliculi interna* (TFI) during selection of the dominant ovulatory follicle (DOF). The aim of this study was to determine differences in the nuclear volumes of the granulosa follicular cells and the secretory cells of the inner theca of the DOF in comparison with the largest atretic follicles (AF) as well as to verify the use of karyometric variance analysis for the evaluation of the selection process of the dominant ovulatory tertiary follicle. Histological sections were prepared from large DOF and AF from the ovaries of 18 sheep aged 3–5 years and held under standard conditions of a controlled herd. Control group I ($n=3$) consisted of Wallachian sheep on day 15 of the sexual cycle (day 0). Excisions of ovaries from the animals of the experimental group ($n=3$) were made on day 16 of the cycle after *i. m.* treatment with 120 μg GnRH 10 and 7 hours prior to sampling. Control group II ($n=3$) consisted of Tsigai sheep at the 9th or 10th day of the oestrous cycle (hour 0) and three experimental groups ($n=3$ each) consisted of Tsigai sheep 24, 48 and 72 hours after *i. m.* treatment with 125 μg cloprostenol. After excision the ovaries were fixed in neutral formaline, cut into 4 mm thick transverse segments and subjected to standard histological processing. After staining with Harris' HE the 5–7 μm thick sections were karyometrically evaluated at a magnification of 2200 $\times$ according to the method of Palkovits [1961] using the PC programme Karyotest 03 [Maraček et al., 1991]. 200 cells were evaluated from each sample and both cell types; altogether 7200 cells were examined. GnRH treatment (Dirigestan inj. Spofa) increased the nuclear volume of follicular cells (SG) in the dominant ovulatory follicle in the process of selection (Tab. I, Fig. 1). The former, however, reduced the nuclear volume not only of the SG follicular cells of LAF (Tab. II, Fig. 2) but also of the secretory cells of both the DOF and AF theca interna (Tab. II, Figs. 3, 4). Cloprostenol treatment (Oestrophan inj. Spofa) affected the follicular cells of the granulosa in the dominant ovulatory follicle. In the remaining cell types of both follicle categories (DOF and AF) Cloprostenol resulted in a decrease of the nuclear volume (Tab. II, III, IV). The results achieved in this study are comparable with classical findings mainly with regard to nuclear volume changes of both GC nuclear volume and the elongate:ellipsoid nuclei ratio in the course of atresia. The positive effects of cloprostenol on the cell types under examination supported the views according to which luteolysis played a significant role in follicle recruitment. After completion of the latter, selection occurs in the process of dominant follicle growth and maturation [Driancourt et al., 1985a, b; Murdoch, 1985, 1986; Erickson, 1986]. The inhibitory effect of GnRH on the cells of the theca in both dominant and atretic follicles supported the hypothesis of active elimination in the terminal phase of selection of the dominant ovulatory Graaf follicle, in which gonadoliberein-like peptides could play an important role [Driancourt et al., 1985a, b; Murdoch, 1985, 1986, 1988; Findlay and Clarke, 1987]. The results of statistical analysis of changes in the mean nuclear volumes of both SG follicular cells and internal theca secretory cells suggested the main effect of cloprostenol to become apparent in the structure of the internal theca of dominant ovulatory Graaf follicles.

sheep; sexual cycle; dominant Graaf follicle; GnRH cloprostenol; karyometry; follicular cells; nuclear volume

Adresy autorov:

Doc. MVDr. Imrich Maraček, DrSc., MVDr. Zuzana Maračeková, MVDr. Valentín Hendrichovský, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1, 040 01 Košice

Prof. MVDr. Milan Mareš, DrSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

Vážení uživatelé,

sděluje vám, že v letošním roce byla zástupci zemědělských informačních institucí zemí střední a východní Evropy — Bulharska, ČSFR, Maďarska, Polska, Rumunska a SNS — založena informační síť Východ—Západ, jejímž cílem je udržovat kontakty s významnou zemědělskou informační institucí CAB International a rozšiřovat využívání jejích informačních produktů. ČSFR zastupuje v této síti Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství.

V listopadu 1991 byla podepsána dohoda mezi CAB International a Agroinformem Budapešť, který se stal z titulu svého členství v CAB International koordinátorem činnosti sítě Východ—Západ. Na základě podpisu této smlouvy mohou členské země sítě objednávat informační materiály CAB International za zvýhodněných finančních podmínek za předpokladu, že objednávky informačních institucí v jednotlivých členských zemích budou shromažďovány v jednom místě u národního zástupce sítě a budou předávány CAB International hromadně prostřednictvím koordinátora sítě Agroinformu Budapešť.

Na informační produkty CAB International objednané tímto způsobem budou poskytovány následující slevy:

- | | |
|---|------------|
| 1. Tištěné referátové časopisy, primární časopisy a ostatní seriálové publikace | |
| předplatné běžného roku | sleva 13 % |
| starší ročníky | |
| 2— 3 roky | sleva 13 % |
| 4— 8 let | sleva 33 % |
| 9—13 let | sleva 58 % |
| > 13 let | sleva 83 % |
| 2. CAB Abstracts na magnetické pásky nebo diskety, služby SDI, poskytování kopií primárních dokumentů | sleva 13 % |
| 3. Knihy a anotované bibliografie | sleva 18 % |
| 4. Báze dat na CD-ROM | sleva 13 % |

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství jako členská instituce informační sítě Východ—Západ Vám nabízí zprostředkování objednávek informačních produktů CAB International za uvedených slev.

Bližší informace Vám poskytne:

Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství

Ing. Helena Slezáková

odbor informačních systémů a mezinárodních vztahů

120 56 Praha 2, Slezská 7

tel. 25 74 75, 25 75 41/207; fax 25 70 90.

ANTIPROTEOLYTICKÉ AKTIVITY KRVNEJ PLAZMY A CERVIKÁLNEHO HLIENU OVIEC PO HORMONÁLNO M OVPLYVNENÍ OVÁRIÍ A OŽAROVANÍ GAMA LÚČMI (2,45 Gy) V ANESTRI

M. Molnárová, J. Arendarčík, P. Molnár

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁR, P. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Antiproteolytické aktivity krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po hormonálnom ovplyvnení ovárií a ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy) v anestri*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 [5—6]: 319—332.

Antiproteolytické aktivity v krvnej plazme (KP) a cervikálnom hliene (CH) oviec po superovulačných stimuláciách v anestri sú ovplyvnené ožarovaním gama lúčmi. Na 100 ovciach plemena merino sme sledovaním trypsín inhibičných aktivít — TIA (trypsín-modelová serínová proteáza) v KP a CH, 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4) v KP a priemerných počtov ovulácií, zistovali účinky dávky 2,45 Gy na tieto parametre. Ovce mladšie — jarky (J) a staršie-bahnice (B) reagovali na ožarovanie a superovulačné stimulácie odlišne, nielen v závislosti na veku, ale aj na druhu stimulácie (folikuly stimulujúcim hormónom — FSH, sérovým gonadotropínom — SG). Zmeny trypsín inhibičných aktivít KP boli štatisticky významné u bahnic (zvýšenie $P < 0,001$, spôsobené stimuláciou bolo žiarením eliminované). Jarky reagovali na stimuláciu nesignifikantnými (ns) zmenami priemerných hodnôt TIA KP, ale odpovede v jednotlivých dňoch boli odlišné 13. a 14. deň. Zmeny podobného charakteru sme zaznamenali aj vo frakcii nízkomolekulových (n) TIA KP: Hodnoty TIA CH sa v priemere po stimulácii FSH a SG menili ns u bahnic, žiarenie znížilo ($P < 0,002$) TIA CH len po stimulácii FSH. Po stimulácii a ožiarení sa znížovalo množstvo cervikálneho hlienu, znížovala sa hrúbka svaloviny a epitelu vajčkovodov, odlišne v jednotlivých častiach. Aj keď sme zaznamenali u stimulovaných a ožiarovaných oviec ovulácie, pri ich navrátení späť do chovu ani jedna neostala kotná. Dávka 2,45 Gy gama lúčov spôsobila po superovulačných stimuláciách nefertilné ovulácie oviec.

ovce; antiproteolytické aktivity; krvná plazma; cervikálny hlien; ovulácie; superovulačné stimulácie; ožarovanie

Zvyšovanie antiproteolytických hodnôt krvnej plazmy býva dávané do súvisu so znižovaním plodnosti (Ashley, 1987). Wyshak a i. (1988) pokládajú faktory pôsobiace vytváranie veľkých neovulovaných folikulov až cýst za jednu z príčin porúch ovulácie. Younis a i. (1988) zistili, že stimulácie k superovuláciám menia niektoré funkcie pečene. Keďže po superovulačných stimuláciách bývajú najmä hladiny estrogénov dočasne zvýšené nad bezpečný rozsah stanovený pre indukciu ovulácie, môžu čiastočne vysvetľovať niektoré abnormality. Za ďalšie faktory pôsobiace lokálne v ováriách môžu byť považované antiproteázy krvnej plazmy. Navot a i. (1987) pozorovaním zvýšenej permeability ciev po su-

perovulačných stimuláciách, Rom a i. (1987) detekciou alfa₂ makroglobulínu (plazmatický inhibítor proteáz) vo folikulárnej tekutine preovulačných folikulov, Imoedemhe a Shaw (1986) zistením vyššej fertility oocytov z folikulov, ktorých obsah alfa₁ antitrypsínu bol < 2 g inhibovaného trypsínu v 1 l folikulárnej tekutiny, poukázali na dôležitosť rovnováhy proteáza — inhibítor vo folikuloch. Stimulácia k superovuláciám mení túto rovnováhu v krvi (Kaaja a i., 1989; Spanel-Borowski a Heiss, 1986), ale aj lokálne v ováriách. Folikuly stimulujúci hormón (FSH) a luteinizačný hormón (LH) riadia syntézu aj lokalizáciu plazminogénových aktivátorov (serínové proteázy), ako aj ich inhibítorov (Knecht, 1986; Smokovitis a i., 1988).

Ožarovanie x-lúčmi poškodzuje ovariálne folikulárne populácie. Driancourt a Mariana (1982) zistili, že po ožiarení oviec dávkami 800 a 2400 R (7,8 a 23,5 Gy) boli na 50 % znížené počty preantrálnych a na 40 % počty antrálnych folikulov, nepozorovali náznaky folikulárnej kompenzácie, ale cyklická ovariálna činnosť zostala zachovaná. Driancourt a i. (1983) zistili, že zníženie počtu folikulov vyúsťuje do zmenenej ovariálnej spätnej väzby, čo indukuje prechodnú modifikáciu hladín FSH.

V našich predchádzajúcich prácach sme sledovali vplyv celotelového ožarovania gama lúčmi dávkami 6,7 Gy (700 R) počas 7 dní, 4,96 Gy (500 R) počas 5 dní na niektoré reprodukčné parametre (Arendarčík a i., 1980, 1986; Molnárová a i., 1984). V snahe zistiť dávku, ktorá by minimálne poškodila reprodukčné orgány, použili sme ožarovanie gama lúčmi dávkou 2,45 Gy (250 R) počas 5 dní. V predkladanej práci hodnotíme účinky takéhoto ožarovania na zmeny trypsín — inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy (KP) a cervikálneho hlienu (CH), koncentrácie progesterónu (P₄) a 17 beta-estradiolu (E₂) v KP, hrúbky svaloviny a epitelu vajíčkovodov a priemerných počtov ovulácií po superovulačných stimuláciách.

MATERIÁL A METÓDY

K pokusom sme použili ovce tzv. zemskeho plemena merino jarky (ž. h. 20—25 kg) a bahnice 2—4ročné (ž. h. 30—40 kg) v anestríckom období (máj—jún).

V 1. pokuse sme 40 oviec zaradili do trinástich skupín: jarky (J), bahnice (B). Pred začatím ožarovania (1. deň) boli ovciam instilované Agelínové poševné hubky — A (20 mg chlorsuperlutinu na kus; Galena, Komárov). Počas 5 dní (v 6.—11. dni) bola časť oviec ožarovaných (Ž) gama lúčmi celkovou dávkou 2,45 Gy. Ich vzdialenosť od zdroja (⁶⁰Co) bola volená tak, aby za 23 h obdržali dávku 0,49 Gy, jedna hodina denne bola ponechaná na kŕmenie a otáčanie oviec v klietkach. Stimulácie ožarovaných a neožarovaných B a J boli robené:

a) folikuly stimulujúcim hormónom — FSH (Folistiman, bývalá NDR), v celkovej dávke 450 IU podanej frakcionovane — 11. deň 2 × 75 IU, 12. deň 2 × 60 IU, 13. deň 2 × 52,5 IU, 14. deň 2 × 37,5 IU;

b) sérovým gonadotropínom — SG (Ivanovice na Hané) v celkovej dávke 1500 IU podanej 11. deň 500 IU, 12. deň 2 × 500 IU;

c) choriovým gonadotropínom — HCG (Praedyn, Spofa), v celkovej dávke 1500 IU podanej spolu s 6., 7. a 8. dávkou FSH (13. deň 500 IU, 14. deň 2 × 500 IU).

Ovce boli kŕmené štandardným kŕmivom s prídáním polyvitamínového prípravku Rorboran H (Spofa, Farmacon, Olomouc) v dávke 15 g na ovcu a deň a Celaskonu (a. u. v. 25 %) v dávke 1 g na ovcu a deň. Rozdelenie oviec do skupín v 1. pokuse:

- I. ($n = 2$) B, A
- II. ($n = 2$) B, A, Ž
- III. ($n = 2$) J, A
- IV. ($n = 2$) J, A, Ž
- V. ($n = 4$) B, A, FSH
- VI. ($n = 5$) B, A, Ž, FSH
- VII. ($n = 3$) B, A, SG
- VIII. ($n = 4$) B, A, Ž, SG
- IX. ($n = 3$) J, A, SG
- X. ($n = 3$) J, A, Ž, SG
- XI. ($n = 4$) J, intaktné kontroly
- XII. ($n = 3$) J, A, FSH
- XIII. ($n = 3$) J, A, FSH + HCG

$\Sigma \quad n = 40 \text{ (20 B + 20 J)}$

V 2. pokuse sme použili 30 B a 30 J; instiláciu Agelínových hubiek, ožarovanie a kŕmenie sme robili rovnako ako v 1. pokuse. Stimuláciu sme robili 1500 IU SG, rovnako ako v 1. pokuse. Časť oviec sme po stimulácii aj ožiarení a stimulácii vrátili do pôvodného chovu a sledovali ich fertilitu.

Rozdelenie oviec do skupín v 2. pokuse:

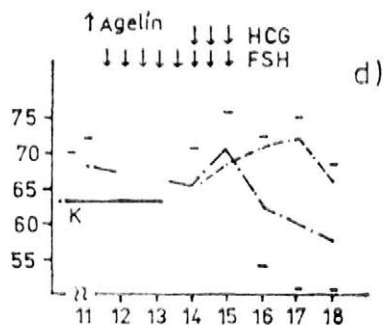
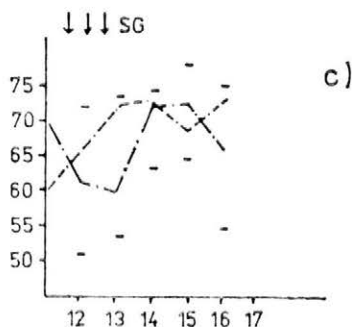
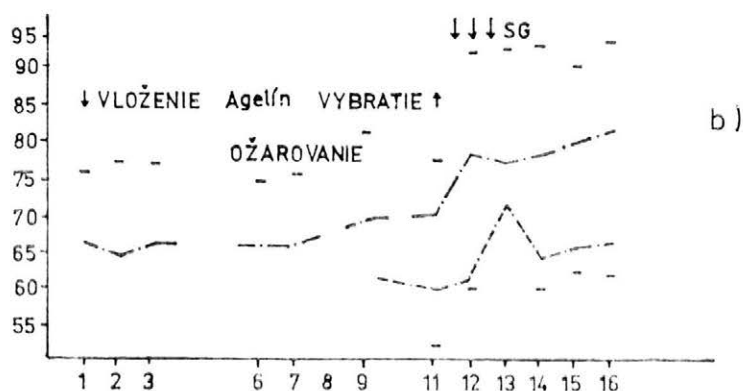
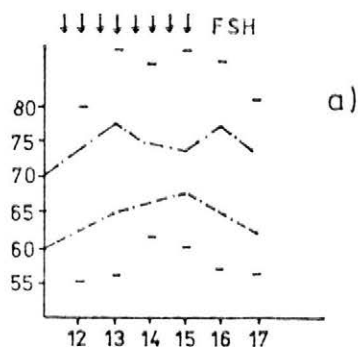
- 1.a ($n = 6$) B, A, Ž, SG
- 1.b ($n = 10$) B, A, Ž, SG — vrátené do chovu
- 2.a ($n = 4$) B, A, —, SG
- 2.b ($n = 10$) B, A, —, SG — vrátené do chovu
- 3.a ($n = 6$) J, A, Ž, SG
- 3.b ($n = 10$) J, A, Ž, SG — vrátené do chovu
- 4.a ($n = 4$) J, A, —, SG
- 4.b ($n = 10$) J, A, —, SG — vrátené do chovu

$\Sigma \quad n = 60 \text{ (30 B + 30 J)}$

Krv sme odoberali z *v. jugularis* na heparín, krvná plazma až do spracovania (TIA, 17 beta-estradiol, progesterón) bola uskladnená pri teplote -25°C . Cervikálny hlien bol odoberaný na vatové tampóny a po zväžení eluovaný $0,05 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Tris-HCl pufrom, pH 8,1. Trypsín (trypsin-modelová serínová proteáza) inhibičnú aktivitu (TIA) sme stanovovali zo spomalenia hydrolýzy N-alfa-tosyl-L-arginyl-p-nitroanilidu (TAPA) trypsinom (Bartík a i., 1974). Zníženie 0,1 ml KP alebo 1 mg hlienu sme vyjadrovali v percentách, keď za 100 % sme považovali $\Delta A_{405} \text{ nm} = 1,0$ po 10 min inkubácie pri teplote 25°C , v $0,2 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ Tris-HCl pufrí, pH = 8,1. Frakciu nízkomolekulových (n) TIA sme získali po úprave plazmy kyselinou chloristou, k stanoveniam sme použili neutralizovanú supernatantnú frakciu a TIA stanovili obdobne ako celkovú TIA. Koncentrácie 17 beta-estradiolu a progesterónu sme stanovovali RIA metódami pomocou kitov ^3H značených 17 beta-estradiolu a progesterónu firmy CEA SORIN. Štatistické vyhodnotenia sme robili Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Na obr. 1 sú znázornené zmeny celkových trypsin inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy oviec v anestríckom období. V dňoch 1.—11. boli instilované Agelínové vaginálne hubky, v 6.—11. dni bola časť oviec ($n = 16$) ožarovaná (2,45 Gy počas 5 dní). Neožarované aj ožarované bahnice boli po ukončení ožarovania a po vybratí Agelínu stimulované 450 IU FSH (obr. 1a), alebo 1500 IU SG (obr. 1b). Priemerné hodnoty TIA KP v 11.—16. (17.) dni sa stimuláciou zvyšovali ($P < 0,001$), ožarovanie toto zvýšenie eliminovalo. Jarky na stimuláciu 1500 IU SG reagovali odlišne,



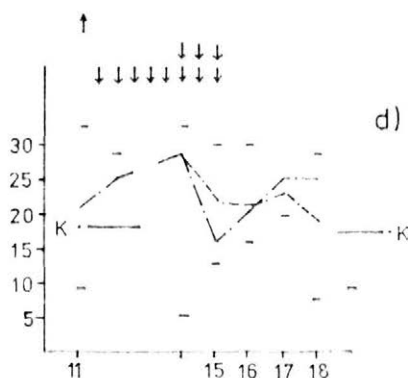
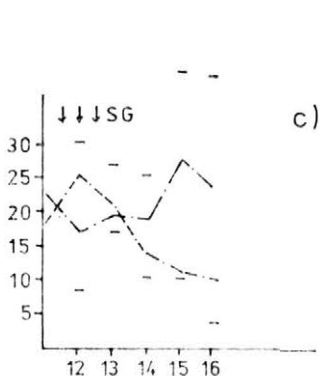
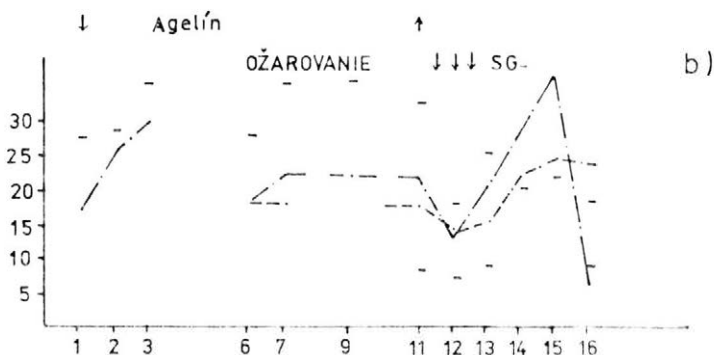
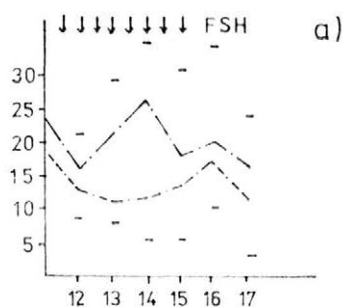
1. Celková trypsin inhibičná aktivita krvnej plazmy (TIA KP) v anestríckom období počas 10-dňovej instilácie Agelínových poševných hubiek (20 mg chlórsuperlutínu na kus) a 5-dňového ožarovania gama lúčmi (2,45 Gy), ($\bar{x} \pm \sigma = 66,25 \pm 10,56$ % TIA); osi: x — dni pokusu, y — % TIA: a) TIA KP po stimulácii bahnic 450 IU FSH v 8 dávkach, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — V. skupina ($n=4$) neožiarené ($\bar{x} = 75,48 \pm 10,6$ % TIA), - - - - - VI. skupina ($n=5$) ožiarené ($\bar{x} = 64,96 \pm 7,8$ % TIA); b) TIA KP po stimulácii bahnic 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — VII. skupina ($n=3$) neožiarené ($\bar{x} = 79,74 \pm 5,2$ % TIA), - - - - - VIII. skupina ($n=4$) ožiarené ($\bar{x} = 66,47 \pm 5,2$ % TIA); c) TIA KP po stimulácii jariet 1500 IU

SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — IX. skupina ($n=3$) neožiarené ($\bar{x}=69,46 \pm 9,38$ % TIA), — — — X. skupina ($n=3$) ožiarené ($\bar{x}=70,65 \pm 5,6$ % TIA); d) TIA KP po stimulácii jariet 450 IU FSH a 1500 HCG, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — XI. skupina ($n=4$) intaktné kontroly ($\bar{x}=63,30 \pm 7,3$ % TIA), — — — XII. skupina ($n=3$) stimulované FSH ($\bar{x}=68,65 \pm 3,7$ % TIA), — — — XIII. skupina ($n=3$) stimulované FSH + HCG ($\bar{x}=64,11 \pm 9,26$ % TIA) — The total trypsin inhibiting activity of the blood plasma (BP TIA) in the anoestrus period during the 10-day instillation of Agelin vaginal tampons (20 mg chlorsuperlutin per head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), ($\bar{x} \pm \sigma = 66.25 \pm 10.56$ % TIA); x-axis — days of the trial, y — % TIA: a) BP TIA lambing ewe after stimulation with 450 IU FSH in eight doses, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ time of administration — — — group V ($n=4$) nonirradiated ($\bar{x}=75.48 \pm 10.6$ % TIA), — — — group VI ($n=5$) irradiated ($\bar{x}=64.96 \pm 7.8$ % TIA); b) BP TIA lambing ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — group VII ($n=3$) nonirradiated ($\bar{x}=79.74 \pm 5.2$ % TIA), — — — group VIII ($n=4$) irradiated ($\bar{x}=66.47 \pm 5.2$ % TIA); c) BP TIA after the stimulation of yearling ewes with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — group IX ($n=3$) nonirradiated ($\bar{x}=69.46 \pm 9.38$ % TIA), — — — group X ($n=3$) irradiated ($\bar{x}=70.65 \pm 5.6$ % TIA); d) BP TIA after stimulation of yearling ewes with 450 IU FSH and 1500 HCG, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — group XI ($n=4$) intact controls ($\bar{x}=63.30 \pm 7.3$ % TIA), — — — group XII ($n=3$) FSH stimulated ($\bar{x}=68.65 \pm 3.7$ % TIA), — — — group XIII ($n=3$) FSH + HCG stimulated ($\bar{x}=64.11 \pm 9.26$ % TIA)

priemerné hodnoty sa počas 5 dní po stimulácii 1500 IU SG aj po ožarovaní a stimulácii menili nesignifikantne (obr. 1c). Na porovnanie stimulácie jariet 450 IU FSH zvyšovala priemerné hodnoty počas 5 dní TIA KP (14.—18. deň pokusu; $P < 0,01$) oproti kontrolným hodnotám nesynchronizovaných oviec v jednom ovariálnom cykle (obr. 1d).

Priemerné hodnoty frakcie nízkomolekulových (n) TIA (obr. 2) sa po stimulácii bahníc 450 IU FSH počas 5 dní menili nesignifikantne, ožiarenie ich znižovalo ($P < 0,02$; obr. 2a). Aj keď sme zaznamenali značné individuálne odchýlky, po ožiarení chýba maximum v 14. dni pokusu, v 16. dni je znížené. Zmeny priemerných hodnôt nTIA počas 5 dní po stimulácii bahníc 1500 IU SG aj po ožiarení sa menili ns, aj tu sú patrné po ožiarení menšie individuálne odchýlky a nižšie maximálne hodnoty (obr. 2b). Priemerné hodnoty nTIA KP po stimulácii jariet 1500 IU SG sa menili ns, ale priebeh v jednotlivých dňoch po stimulácii a po ožiarení a stimulácii poukazuje na odlišný mechanizmus pôsobenia žiarenia na staršie a mladšie zvieratá (obr. 2c). Pre porovnanie stimulácia jariet 450 IU FSH zvýšila nTIA KP počas 5 dní ($P < 0,05$) oproti kontrolným hodnotám nesynchronizovaných oviec v jednom ovariálnom cykle (obr. 2d).

Priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu (CH) bahníc sa počas 6 dní po stimulácii 450 IU FSH zmenili ns oproti kontrolám v 0. dni pokusu, hodnoty po ožiarení boli nižšie ($P < 0,002$; obr. 3a). Priemerné hodnoty po stimulácii bahníc 1500 IU SG sa menili ns (obr. 3b). Stimulácia jariet 1500 IU SG síce priemerné hodnoty TIA CH menila ns, ale vidíme maximálne hodnoty v čase 36—60 hodín po ukončení podávania SG, u ožiarených nebolo možné získať cervikálny hlien v dostatočnom množstve (obr. 3c). Priemerné hodnoty TIA CH jariet sa po stimuláciách 450 IU FSH líšili ns od hodnôt intaktných oviec (obr. 3d). Priemerné počty ovulácií sa v jednotlivých skupinách líšili nesignifikantne.



2. Nízkomolekulové trypsin inhibičné aktivity (nTIA) v krvnej plazme oviec počas 10-dňovej instilácie Agelínových poševných hubiek [20 mg chloresuperlutínu na kus] a 5-dňového ožarovania gama lúčmi (2,45 Gy), ($\bar{x} \pm \sigma = 18,95 \pm 11,06$ % TIA), osi: x — dni pokusu, y — % TIA; a) nTIA KP po stimulácii bahníc 450 IU FSH v 8 dávkach ↓↓↓↓↓↓↓↓ čas podávania, — — — V. skupina neožiarené ($\bar{x} = 19,06 \pm 11,80$ % TIA), — — — — — VI. skupina ožiarené ($\bar{x} = 12,21 \pm 6,7$ % TIA); b) nTIA KP po stimulácii bahníc 1500 IU SG, ↓↓↓↓ čas podávania, — — — — — VII. skupina neožiarené ($\bar{x} = 21,47 \pm 13,6$ % TIA), — — — — — VIII. skupina ožiarené ($\bar{x} = 20,54 \pm 6,7$ % TIA); c) nTIA KP po stimulácii jariet 1500 IU SG, ↓↓↓↓ čas podávania,

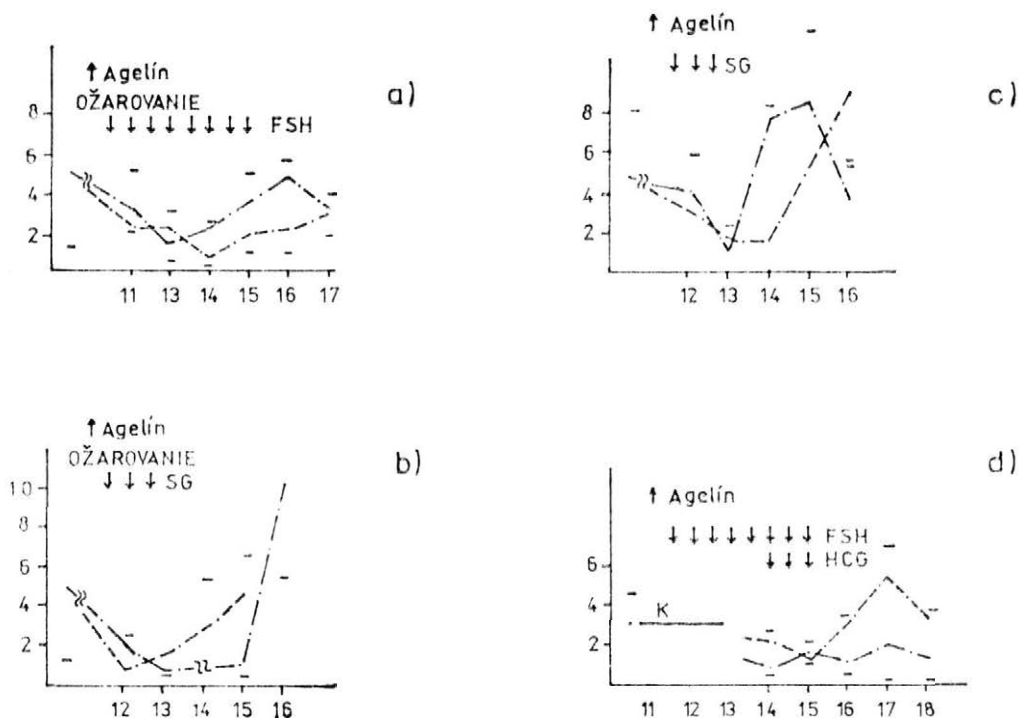
— . — . — IX. skupina neožiarené ($\bar{x} = 18.62 \pm 9.3$ % TIA), — . — . — . — . — X. skupina ožiarené ($\bar{x} = 16.4 \pm 9.8$ % TIA); d) nTIA po stimulácii jariet 450 IU FSH a 1500 IU HCG, $\downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow$ čas podávania. ——— XI. skupina intaktné kontroly ($\bar{x} = 18.82 \pm 11.26$ % TIA), — . — . — XII. skupina stimulovaná FSH ($\bar{x} = 24.8 \pm 9.1$), — . — . — XIII. skupina stimulovaná FSH + HCG ($\bar{x} = 22.62 \pm 5.3$ % TIA) — Low-molecular trypsin inhibiting activities (nTIA) in the blood plasma of ewes during the 10-day instillation of Agelin vaginal tampons (20 mg chloresuperlutin/head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), ($\bar{x} \pm \sigma = 18.95 \pm 11.06$ % TIA), x-axis: days of the trial, y — % TIA: a) BP nTIA lambing ewe after stimulation with 450 IU FSH in eight doses, $\downarrow \downarrow \downarrow \downarrow$ time of administration, — . — . — group V nonirradiated ($\bar{x} = 19.06 \pm 11.80$ % TIA), — . — . — group VI irradiated ($\bar{x} = 12.21 \pm 6.7$ % TIA); b) BP nTIA lambing ewe after stimulation with 1500 IU SG, $\downarrow \downarrow \downarrow$ time of administration, — . — . — group VII nonirradiated ($\bar{x} = 21.47 \pm 13.6$ % TIA), — . — . — . — group VIII irradiated ($\bar{x} = 20.54 \pm 6.7$ % TIA); c) BP nTIA after yearling ewe stimulation with 1500 IU SG, $\downarrow \downarrow \downarrow$ time of administration, — . — . — group IX nonirradiated ($\bar{x} = 18.62 \pm 9.3$ % TIA), — . — . — group X irradiated ($\bar{x} = 16.4 \pm 9.8$ % TIA); d) nTIA after yearling ewe stimulation with 450 IU FSH and 1500 IU HCG, $\downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow \downarrow$ time of administration, ——— group XI intact controls ($\bar{x} = 18.82 \pm 11.26$ % TIA), — . — . — group XII FSH stimulated ($\bar{x} = 24.8 \pm 9.1$ % TIA), — . — . — . — group XIII FSH + HCG stimulated ($\bar{x} = 22.62 \pm 5.3$ % TIA)

Pri overovaní účinkov kontinuálneho 5dňového ožarovania dávkou 2,5 Gy na väčších počtoch zvierat sme rovnako v anestríckom období (máj až jún) zistili zvýšené hodnoty TIA KP ožiarených a stimulovaných ($P < 0,01$) bahníc (obr. 4a). Priemerné hodnoty TIA KP jariet sa po ožiarení a stimulácii líšili nesignifikantne (obr. 4b), aj keď v jednotlivých dňoch vidíme odlišný priebeh zmien.

Značne odlišné priemerné hodnoty sme zaznamenali vo frakcii nízkomolekulových (n) TIA KP (obr. 5). Bahnice na ožiarenie a stimuláciu reagovali zvýšením nTIA KP ($P < 0,001$) počas 6 dní od ukončenia ožarovania (obr. 5a), jarky naopak znížením (obr. 5b; $P < 0,001$).

Zmeny priemerných hodnôt TIA cervikálneho hlienu (obr. 5) boli počas 3—7 dní od ukončenia ožarovania a stimulácie nesignifikantné u bahníc aj jariet (obr. 6a, b) podobne, ako počty ovulácií. Zistený počet ovulácií zvierat usmrtených 120—160 h po ožiarení a stimuláciách sa po vrátení ostatných zvierat do pôvodného chovu neprejavil. Neožiarené ovce vykazovali 68,1% zabrezávanie so 78,7% natalitou, u ožiarených sa nepodarilo zistiť ani jedno zabreznutie a kotnosť, čo by mohlo poukazovať na negatívny vplyv tejto dávky gama žiarenia (2,45 Gy) na reprodukčné schopnosti. Žiarenie nepriaznivo ovplyvňuje hrúbku svaloviny vajčíkovodu v celom jeho priebehu. Citlivejšie na škodlivé pôsobenie gama žiarenia (2,45 Gy) sú jarky; tu sme pozorovali nepriamu závislosť medzi znížením hrúbky svaloviny a zvýšením výšky epitelu sliznice. Bahnice reagovali znížením hrúbky svaloviny aj epitelu. Rozdiely v ovplyvnení sme pozorovali aj v jednotlivých úsekoch: ampulárnom, ampulo-istmicom a istmicom, čo môže znamenať zmeny v sekrečnej činnosti vajčíkovodov aj v rýchlosti postupu ovulovaných vajčiek a ich neprimeranom vývoji.

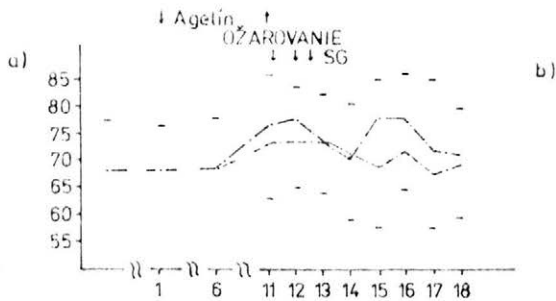
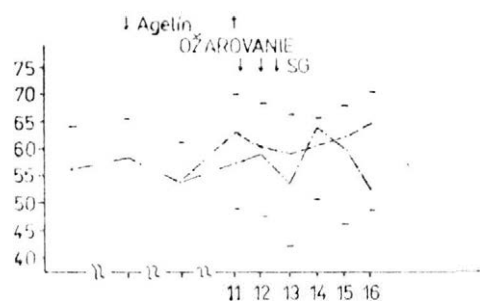
Porovnaním priemerných hodnôt TIA KP (celkových aj nízkomolekulových) a TIA cervikálneho hlienu na obr. 7 vidíme rozdiely jednak v stupni inhibície po stimulácii samotnej (najmä skupina VII oproti skupine 2), ale aj v reakcii na ožarovanie (skupina V, VI, VII a VIII, oproti skupine



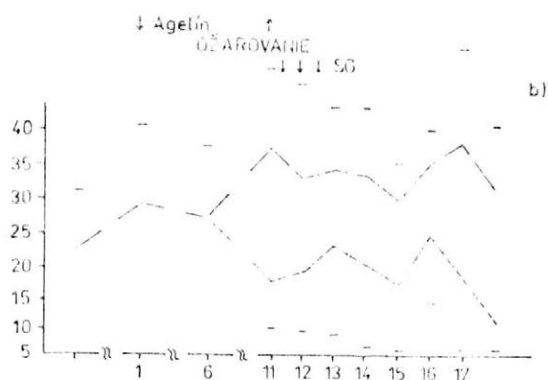
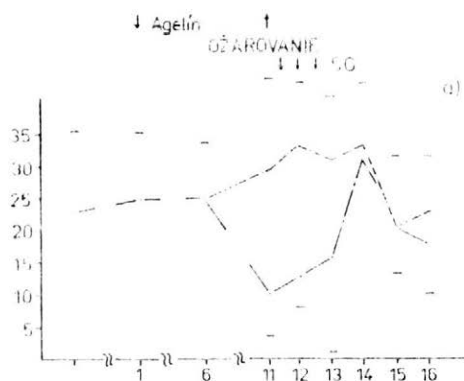
3. Trypsín inhibičné aktivity cervikálneho hlienu (TIA CH) oviec po 10-dňovej inštalácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutínu na kus) a 5-dňovom ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy), osi: x — dni pokusu, y — % TIA: a) TIA HC po stimulácii bahníc 450 IU FSH v 8 dávkach, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — V. skupina neožiarené ($\bar{x} = 3,4 \pm 2,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,0 \pm 1,2$ ovulácií) — — — — — VI. skupina ožiarené ($\bar{x} = 2,2 \pm 1,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,8 \pm 1,0$ ovulácií); b) TIA CH po stimulácii bahníc 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — VII. skupina neožiarené ($\bar{x} = 3,8 \pm 1,7$ % TIA), — — — — — VIII. skupina ožiarené ($\bar{x} = 3,2 \pm 2,7$ % TIA, $\bar{x} = 1,8 \pm 0,4$ ovulácií); c) TIA CH po stimulácii jariet 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — IX. skupina neožiarené ($\bar{x} = 5,5 \pm 3,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,0 \pm 0$ ovulácií), — — — — — X. skupina ožiarené ($\bar{x} = 4,7 \pm 4,5$ % TIA, $\bar{x} = 1,7 \pm 0,5$ ovulácií); d) TIA CH intaktných jariet: — — — — — XI. skupina ($\bar{x} = 3,2 \pm 1,5$ % TIA, 0 ovulácií) a stimulovaných 450 IU FSH v 8 dávkach, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ čas podávania, 1500 IU HCG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — XII. skupina stimulovaná FSH ($\bar{x} = 3,2 \pm 1,6$ % TIA, $0,7 \pm 0,9$ ovulácií), — — — — — XIII. skupina stimulované FSH + HCG ($\bar{x} = 1,4 \pm 1,2$ % TIA, $1,0 \pm 0,8$ ovulácií) — Trypsín inhibiting activities of cervical mucus (CM TIA) in ewes after the 10-day instillation of Agelín vaginal tampons (20 mg chlorsuperlutin/head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), x-axis: days of the trial, y-axis — % TIA: a) CM TIA lambing ewe after stimulation with 450 IU FSH in eight doses, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group V nonirradiated ($\bar{x} = 3,4 \pm 2,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,0 \pm 1,2$ ovulations), — — — — — group VI irradiated ($\bar{x} = 2,2 \pm 1,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,8 \pm 1,0$ ovulations); b) CM TIA lambing ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group VII nonirradiated ($\bar{x} = 3,8 \pm 1,7$ % TIA), — — — — — group VIII irradiated ($\bar{x} = 3,2 \pm 2,7$ % TIA, $\bar{x} = 1,8 \pm 0,4$ ovulations); c) CM TIA yearling ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group IX nonirradiated ($\bar{x} = 5,5 \pm 3,4$ % TIA, $\bar{x} = 1,0 \pm 0$ ovulations), — — — — — group X irradiated ($\bar{x} = 4,7 \pm 4,5$ % TIA, $\bar{x} = 1,7 \pm 0,5$ ovulations); d) CM TIA of intact yearling ewes: — — — — — group XI ($\bar{x} = 3,2 \pm 1,5$ % TIA, 0 ovulation) and 450 IU FSH stimulated ewes in eight doses, ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ ↓ time of administration, 1500 IU HCG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group XII FSH stimulated ($\bar{x} = 3,2 \pm 1,6$ % TIA, $0,7 \pm 0,9$ ovulations), — — — — — group XIII FSH + HCG stimulated ($\bar{x} = 1,4 \pm 1,2$ % TIA, $1,0 \pm 0,8$ ovulations)

2 a 1) pre TIA KP. Obdobné rozdiely sa prejavili aj vo frakcii nízkomolekulových TIA KP. Rozdiely priemerných TIA CH boli väčšinou po stimulácii a po ožiarení a stimulácii nesignifikantné okrem zníženia ($P < 0,02$) po ožiarení a stimulácii FSH (450 IU).

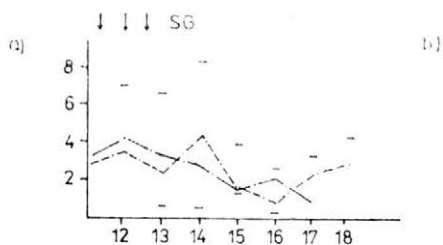
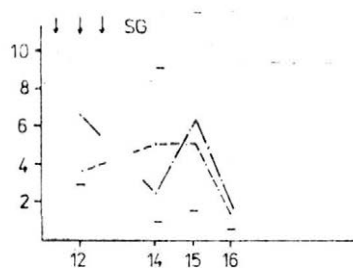
Nepriaznivý vplyv ožarovania sa prejavil aj na priemerných hodnotách 17 beta-estradiolu a progesterónu v krvnej plazme. Po stimulácii bahníc 450 IU folikuly stimulujúceho hormónu ožarovanie spôsobilo pokles E_2 v 11.—16. dni pokusu ($P < 0,002$) z kontrolných $177,5 \pm 34,5$ na $140,8 \pm 4,2$ pg . ml⁻¹, zatiaľ čo stimulácia zvyšovala hodnoty oproti kontrolným na $223,5 \pm 49,0$ pg . ml⁻¹. Rozdiel spôsobený ožarovaním pred stimuláciou bol $P < 0,001$. Priemerné hodnoty progesterónu v rovnakom období a stimulácii bahníc klesali ($P < 0,001$) oproti kontrolným $6,32 \pm 0,16$ na $1,67 \pm 1,2$ ng . ml⁻¹, ožarovanie tento pokles tlmilo na $2,87 \pm 0,96$ ng . ml⁻¹ ($P < 0,001$). Zmeny po stimulácii 1500 IU sérového gonadotropínu spôsobené ožarovaním boli menej výrazné. Zníženie E_2 ožarovaním predstavovalo $149,0 \pm 28,0$ oproti $179,0 \pm 4,6$ pg . ml⁻¹ stimulovaných ($P < 0,01$), zmeny P_4 ožarovaním boli v rozsahu v rovnakom časovom úseku (11.—16. deň pokusu) nesignifikantné.



4. Trypsín inhibičné aktivity v krvnej plazme (TIA KP) oviec počas 10-dňovej instilácie Agelínových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutínu na kus) a 5-dňovom ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy), osi: x — dni pokusu, y — % TIA: a) TIA KP po stimulácii bahníc 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 1. skupina ožiarené ($\bar{x} = 60,1 \pm 7,9$ % TIA), — — — — — 2. skupina neožiarené ($\bar{x} = 55,9 \pm 9,6$ % TIA); b) TIA KP po stimulácii jariet 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 3. skupina ožiarené ($\bar{x} = 70,5 \pm 9,9$ % TIA), — — — — — 4. skupina neožiarené ($\bar{x} = 72,4 \pm 9,5$ % TIA) — Trypsín inhibiting activities in the blood plasma (BP TIA) of ewes during the 10-day instillation of Agelin vaginal tampons (20 mg chlorsuperlutin/head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), x-axis — days of the trial, y — % TIA: a) BP TIA after lambing ewe stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group 1 irradiated ($\bar{x} = 60.1 \pm 7.9$ % TIA), — — — — — group 2 nonirradiated ($\bar{x} = 55.9 \pm 9.6$ % TIA); b) BP TIA yearling ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group 3 irradiated ($\bar{x} = 70.5 \pm 9.9$ % TIA), — — — — — group 4 nonirradiated ($\bar{x} = 72.4 \pm 9.5$ % TIA)

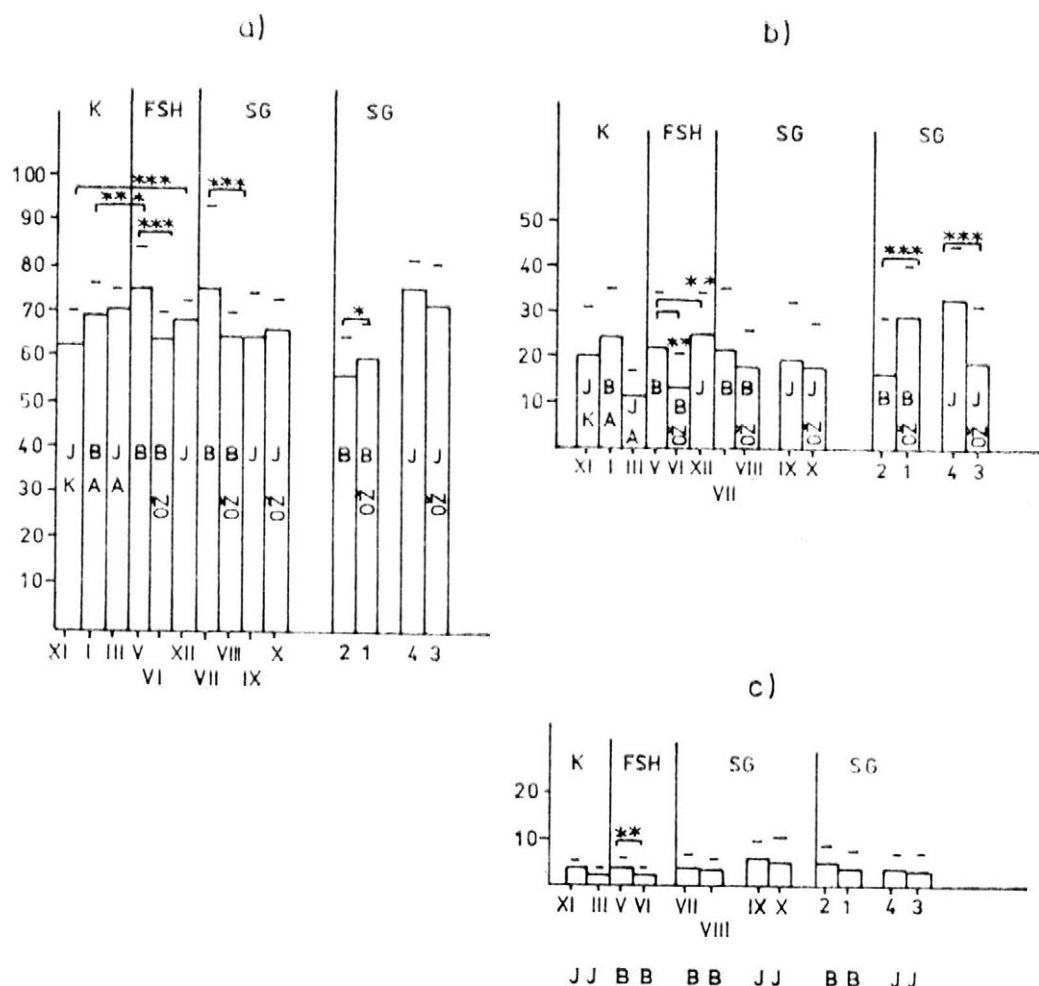


5. Nizkomolekulové (n) trypsín inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy (TIA KP) oviec počas 10-dňovej inštalácie Agelinových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutínu na kus) a 5-dňovom ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy), osi: x — dni pokusu, y — % TIA: a) nTIA KP po stimulácii bahnič 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 1. skupina ožiarené ($\bar{x} = 29,0 \pm 11,8$ % TIA), — — — — — 2. skupina neožiarené ($\bar{x} = 16,6 \pm 12,8$ % TIA); b) nTIA KP po stimulácii jariet 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 3. skupina ožiarené ($\bar{x} = 19,0 \pm 12,5$ % TIA), — — — — — 4. skupina neožiarené ($\bar{x} = 33,2 \pm 12,3$ % TIA) — Low-molecular (n) trypsin inhibiting activities (TIA) of the blood plasma (BP TIA) in ewes during the 10-day instillation of Agelin vaginal tampons (20 mg chlorsuperlutin/head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), x axis — days of the trial, y axis — % TIA: a) BP nTIA lambing ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group 1 irradiated ($\bar{x} = 29.0 \pm 11.8$ % TIA), — — — — — group 2 non-irradiated ($\bar{x} = 16.6 \pm 12.8$ % TIA); b) BP nTIA yearling ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — — group 3 irradiated ($\bar{x} = 19.0 \pm 12.5$ % TIA), — — — — — group 4 nonirradiated ($\bar{x} = 33.2 \pm 12.3$ % TIA)



6. Trypsín inhibičná aktivita v cervikálnom hliene (TIA CH) oviec po 10-dňovej inštalácii Agelinových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutínu na kus) a 5-dňovom ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy), osi: x — dni pokusu, y — % TIA: a) TIA CH po stimulácii bahnič 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 1. skupina ožiarené ($\bar{x} = 3,6 \pm 3,1$ % TIA, $\bar{x} = 0,66 \pm 1,0$ ovulácií), — — — — — 2. skupina neožiarené ($\bar{x} = 3,9 \pm 4,2$ % TIA, $\bar{x} = 0,75 \pm 0,5$ ovulácií); b) TIA CH po stimulácii jariet 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ čas podávania, — — — — — 3. skupina ožiarené ($\bar{x} = 3,1 \pm 3,6$ % TIA, $\bar{x} = 1,0 \pm 1,5$ ovulácií), — — — — — 4. skupina neožiarené ($\bar{x} = 3,3 \pm 2,9$ % TIA, $\bar{x} = 1,25 \pm 1,3$ ovulácií) — Trypsin inhibiting activity in cervical mucus (CM TIA) in ewes after the 10-day instillation of Agelin vaginal tampons (20 mg chlorsuperlutin/head) and five-day gamma irradiation (2.45 Gy), x-axis — days of the trial, y — % TIA: a) CM TIA lambing ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of

administration, — — — — group 1 irradiated ($\bar{x} = 3.6 \pm 3.1$ % TIA, $\bar{x} = 0.66 \pm 1.0$ ovulations), — — — — group 2 nonirradiated ($\bar{x} = 3.9 \pm 4.2$ % TIA, $\bar{x} = 0.75 \pm 0.5$ ovulations); b) CM TIA yearling ewe after stimulation with 1500 IU SG, ↓ ↓ ↓ time of administration, — — — — group 3 irradiated ($\bar{x} = 3.1 \pm 3.6$ % TIA, $\bar{x} = 1.0 \pm 1.5$ ovulations), — — — — group 4 nonirradiated ($\bar{x} = 3.3 \pm 2.9$ % TIA, $\bar{x} = 1.25 \pm 1.3$ ovulations)



7. Zmeny $\bar{x} \pm \sigma$ TIA KP, nTIA KP, TIA CH oviec po hormonálnom ovplyvnení ovárií a celotelovom ožarovaní gama lúčmi (2,45 Gy), osi: x — pokusné skupiny, y — % TIA: K — kontrolné skupiny, FSH — skupiny stimulované 450 IU FSH, SG — skupiny stimulované 1500 IU SG; a — celková TIA KP, b — nízkomolekulová TIA KP, c — TIA cervikálneho hlienu; B — bahnice, J — jarky, ož — vplyv ožarovania, A — vplyv Agelínu — The changes $\bar{x} \pm \sigma$ in BP TIA, BP nTIA, CM TIA of ewes after the hormonal treatment of ovaries and whole-body gamma irradiation (2.45 Gy), x-axis — test groups, y — % TIA: K — control groups, FSH — the groups stimulated with 450 IU FSH, SG — the groups stimulated with 1500 IU SG; a — total BP TIA, b — low-molecular BP TIA, c — TIA of cervical mucus; B — lambing ewes, J — yearling ewes, ož — the effect of irradiation, A — the effect of Agelín

Vplyv žiarenia na reprodukčné ukazovatele opísali mnohí autori. Pri sledovaní vplyvu jednorázového lokálneho ožiarenia ovárií dávkami 4,78 Gy, 9,67 Gy, 19,14 Gy x-lúčov zistili A r e n d a r č i k a i. (1985) a M o l n á r o v á a i. (1983) určité reparačné zmeny krčku maternice, rohov maternice, podepítelového tkaniva a trypsín inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu v priebehu 10—100 dní po ožiarení. Tiež proťahované celotelové ožarovanie gama lúčmi dávkami 6,7 a 4,9 Gy spôsobovalo zmeny TIA KP, TIA CH a morfologickej štruktúry cervixu bahníc (M o l n á r o v á a i., 1984). Tieto pokusy boli vykonávané v anestríckom období bez hormonálnych stimulácií ovárií. V predkladanej práci sme použili nižšiu celkovú dávku ožarovania (2,45 Gy počas 5 dní) s cieľom zistiť mieru poškodenia folikulov ovárií. Keďže ovce plemena merino nevykazujú striktný anestrus, použili sme na synchronizáciu vaginálne hubky s Agelínom (20 mg chlorsuperlutínu na kus). Zmenené priemerné hodnoty TIA KP po instilácii hubiek, ožarovaní a stimulácii ovárií 450 IU FSH alebo 1500 IU SG oproti neožarovaným, poukazujú na ich účasť pri týchto dejoch. Nesignifikantné zmeny v priemerných počtoch ovulácií dokazujú, že použitá dávka ožarovania nepoškodila všetky prevulačné folikuly a aj keď zníženie priemerných hodnôt E_2 bolo po ožarovaní a stimuláciách signifikantné ($P < 0,001$), zvyšné folikuly ovulovali. Tieto nálezy sú podporované zisteniami autorov D r i a n c o u r t a M a r i a n a (1982), že zvieratám s nízkymi priemernými počtami ovulácií stačí k ovulácii minimálna folikulárna populácia. Títo autori zistili zhoršenú sekrečnú aktivitu následných žltých teliesok, čo naznačuje, že premena folikulárnych buniek na bunky luteinové bola žiarením poškodená (D r i a n c o u r t a i., 1983). Keďže proteázy a ich inhibítory sa zúčastňujú na prebudovávaní tkanív (K n e c h t, 1986) a v ováriách je ich syntéza a sekrecia hormonálne riadená, zaujímalo nás, do akej miery budú ožarovaním zmenené aktivity inhibítorov serínových proteáz v krvnej plazme. Zloženie folikulárnej tekutiny je ovplyvňované vnútroovariálnymi faktormi (lokálna stimulácia syntézy a sekrecie jednotlivých zložiek), ale aj zložením krvnej plazmy. Zmenená permeabilita ciev, ale aj bunkových membrán, ako následok ožarovania, môže túto závislosť meniť. Keď sa rovnováha proteáza — inhibítor poruší, následne môže dochádzať k zmenenému vývoju folikulov a oocytov. Stimulácie k superovuláciám gonadotropnými hormónami tieto zmeny zvýraznia. Aj zmenené prostredie oviduktov a maternice na strane jednej, alebo zmenené vlastnosti cervikálneho hlienu na strane druhej, môžu ovplyvňovať fertilitu. Aj keď sme väčšinou nezistili signifikantné zmeny priemerných hodnôt TIA CH počas 6 dní od skončenia ožarovania a následnej stimulácie, rozdiely v jednotlivých dňoch boli významnejšie. Koncentrácie proteáz a ich inhibítorov v cervikálnom hliene ovplyvňujú motilitu spermii (S m o k o v i t i s a i., 1987). Faktory spôsobujúce zmeny koncentrácií serínových proteáz a ich inhibítorov nielen v cervikálnom hliene, ale aj v semennej plazme môžu ovplyvňovať fertilitu. P e a r c e a R o b i n s o n (1985) sa domnievajú, že poruchy fertility po synchronizácii, výrazne najmä po umelej inseminácii, sú spôsobované porušeným transportom spermii cervixom. Tento fenomén je pričítaný vplyvu progesterónu a žiarením môže byť zvýraznený. Presné načasovanie inseminácie v relácii k vlne LH, kedy sa predpokladajú optimálne podmienky pre prechod

spermii ovčím cervixom, môže byť žiarením pozmenený. Zmeny hrúbky epitelu a svaloviny vajčkovodov po ožarovaní mohli spolupôsobiť pri neplodnosti ožarovaných oviec.

Záverom možno konštatovať, že po 5dňovom ožarovaní oviec gama lúčmi celkovou dávkou 2,45 Gy boli natoľko zmenené ich reprodukčné parametre, že ovulácie boli nefertilné.

Literatúra

- ARENDARČIK, J. MARAČEK, I. — STANÍKOVÁ, A. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Vplyv ionizujúceho žiarenia na gonadotropnú funkciu hypotalamo-hypofýzového systému oviec. [Č. u. V-6-4/6.] Košice, Univerzita P. J. Šafárika, 1980, 96 s.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — HALAGAN, J. — RAJTOVÁ, V. — STANÍKOVÁ, A. — TOKOŠ, M. — PÁSTOROVÁ, B.: Účinnok protirahovaného ožarovania na reprodukčné schopnosti oviec. I. a II. časť. [Č. ú. V-6-5/06.] Košice, Univerzita P. J. Šafárika 1980/1986, 125/132 s.
- ASHLEY, M. J.: Smoking, alpha 1 — antitrypsin and decreased fertility in women. Medical hypotheses, 22, 1987, s. 277—285.
- BARTÍK, M. — CHAVKO, M. — KASAFÍREK, E.: N-alpha-tosyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrate in color test and polarographic test of trypsin. Clin. chim. Acta, 56, 1974, s. 23—30.
- DRIANCOURT, M. A. — MARIANA, J. C.: Short and long term effects of x-irradiation on ovarian follicular populations in the ewe. Reprod. Nutr. Dévelop., 22, 1982, s. 813 to 823.
- DRIANCOURT, M. A. — BLANC, M. R. — MARIANA, J. C.: Hormonal levels after ovarian x-irradiation of ewes. Reprod. Nutr. Dévelop., 23, 1983, s. 775—781.
- IMOEDEMHE, D. — SHAW, R. W.: Follicular fluid alpha antitrypsin correlation with fertilizing capacity of oocytes. Brit. J. Obst. Gynaec., 93, 1986, s. 863—868.
- KAAJA, R. — SIEGBERG, R. — TIITINEN, A. — KOSKIMIES, A.: Severe ovarian hyperstimulation syndrome and deep venous thrombosis. The Lancet, 1989, s. 1043.
- KNECHT, M.: Production of A cell-associated and secreted plasminogen activator by cultured rat granulosa cells. Endocrinology, 118, 1986, s. 348—353.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M.: Dynamika zmien aktivít inhibujúcich trypsin [TIA] v cervikálnom hlienu, krvi a histomorfologickej stavby maternice oviec ožiarených x-lúčmi. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, s. 605—612.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P.: Vplyv protirahovaného celotelového gama žiarenia 6,7 Gy a 4,8 Gy (700 a 500 R) na trypsin inhibičnú aktivitu [TIA] krvi, cervikálneho hlienu a morfológickú štruktúru cervixu bahňíc. Veter. Med. (Praha), 29, 1984, s. 549—562.
- NAVOT, D. — MARGALIOH, E. J. — LAUFER, N. — BIRKENFELD, A. — RABINOWITZ, R. — RELOU, A. — BRZEZINSKI, A. — ROSLER, A. — SCHENKER, J. G.: Direct correlation between plasma renin activity and severity of the ovarian hyperstimulation syndrome. Fertil. and Steril., 48, 1987, s. 47—54.
- PEARCE, D. T. — ROBINSON, T. L.: Plasma progesterone concentration, ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized estrus. J. Reprod. Fertil., 75, 1985, s. 49—62.
- ROM, E. — REICH, R. — LAUFER, N. — LEWIN, A. — RABINOWITZ, R. — PEVSNER, B. — LANCET, M. — SHENKER, J. G. — MISKIN, R. — ADELMANN-GRILL, B. C. — TSAFRIRI, A.: Follicular fluid contents as predictors of succes of *in vitro* fertilization — embryo transfer. Hum. Reprod., 2, 1987, s. 505—510.
- SMOKOVITIS, A. — KOKOLIS, N. — ALEXAKI-TZIVANIDOU, E.: The plasminogen activator activity is markedly increased mainly at the area of the rupture of the follicular wall at the time of ovulation. Anim. Reprod. Sci., 16, 1988, s. 285—294.
- SMOKOVITIS, A. — KOKOLIS, N. — ALEXOPOULOS, C. — ALEXAKI, E. — ELEFTHARIOU, E.: Plasminogen activator activity, plasminogen activator inhibition and plasmin inhibition in spermatozoa and seminal plasma of man and various animal species — effect of plasmin on sperm motility. Fibrinolysis, 1, 1987, s. 253—257.
- SPANIEL-BOROWSKI, K. — REISS, CH.: Luteolysis and thrombus formation in ovaries of immature superstimulated golden hamsters. Austral. J. Biol. Sci., 39, 1986, s. 407—416.
- WYSHAK, G. — FRISH, R. E. — ALBRIGHT, T. E. — ALBRIGHT, N. L. — SCHIFF, I.: Smoking and cyst of the ovary. Int. J. Fertil., 33, 1988, s. 398—404.

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁR, P. [University of Veterinary Medicine, Košice]: *Antiproteolytic activities of the blood plasma and cervical mucus in ewes after the hormonal treatment of ovaries and gamma irradiation in anoestrus.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5—6): 319—332.

The antiproteolytic activities of the blood plasma (BP) and cervical mucus (CM) determined as trypsin inhibiting activities (TIA) where trypsin served as a model serine protease, were variable after superovulatory stimulations of ewes and after their gamma irradiation (2.45 Gy). TIA's were determined from the reduction in the bovine trypsin hydrolysis of the low-molecular chromogenic substrate N-alpha-tosyl-L-arginyl-p-nitro anilide (TAPA) (Bartík et al., 1974). The inhibition was expressed in per cent when $\Delta A_{405} = 1.0$ for 10-minute incubation at 25 °C, pH = 8.05, 0.2 mol/l tris-HCl buffer, was taken as 100 %. Student's *t*-test was used for the statistical evaluation. A hundred ewes of the Merino breed were applied Agelin vaginal tampons (20 mg chlor-superlutin per head) on day 1 for 10 days in the anoestrus period (May). A part of these ewes were subjected to whole-body gamma irradiation on days 6 to 11. When the irradiation was completed and the tampons were taken out, the ewes (three to four years old lambing ewes, yearling ewes) were stimulated to superovulations by an administration of 1500 IU serum gonadotropin (SG) or 450 IU follicle stimulating hormone (FSH). These parameters were followed in the subsequent 5—6 days: BP TIA (Figs. 1 and 4), fraction of low-molecular BP (n) TIA (Figs. 2 and 5), CM TIA (Figs. 3 and 6). Fig. 7 shows the average values of the results. The lambing ewes and yearling ewes had various responses to irradiation and superovulatory stimulation. Gamma irradiation eliminated the increase in BP TIA ($P < 0.001$) in the ewes after stimulations (Fig. 1a, b). The yearling ewes showed nonsignificant changes (ns) as their responses to SG stimulations and gamma irradiation, but the responses on the particular days of the trial were different (Fig. 1c, d — FSH stimulation). Similar changes were observed in the BP nTIA fraction. The changes in the average values of CM TIA were nonsignificant in the lambing ewes, the gamma irradiation reduced CM TIA only after FSH stimulation ($P < 0.002$). The amount of cervical mucus decreased after stimulations and irradiation, the thickness of ovarian epithelium and muscles was reduced in the particular parts, differently in lambing ewes and in yearling ewes. The numbers of ovulations differed nonsignificantly in the irradiated ewes in comparison with the nonirradiated ones, but when a part of the irradiated ewes ($n = 20$) returned to the flock, not a ewe remained pregnant although the conception rate of the nonirradiated ewes was 68 % with 78 % birth rate. A decrease in the average values of nBP 17 beta-oestradiol ($P < 0.001$) after irradiation and stimulation against the stimulated ewes documents the lesions of preovulation follicles. A decrease in progesterone in the blood plasma was less significant. The dose of 2.45 Gy induced infertile ovulations in ewes after superovulatory stimulations.

ewe; antiproteolytic activities; blood plasma; cervical mucus; ovulation; superovulatory stimulation; gamma irradiation

Adresa autorov:

Doc. ing. Marie Molnárová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., MVDr. Peter Molnár, Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

VPLYV MASTNÝCH KYSELÍN V KRMIVE NA AKTIVITU XANTIN DEHYDROGENÁZY U PREPELICE JAPONSKEJ

J. Jankela

JANKELA, J. (Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji): *Vplyv mastných kyselín v krmive na aktivitu xantín dehydrogenázy u prepelice japonskej*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (5–6): 333–339.

Mastné kyseliny prítomné v krmive ovplyvňujú úroveň exkrécie dusíka na stupni xantín dehydrogenázy (XDH) v pečeni a pankrease prepelice japonskej. Z testovaných kyselín laurovej, palmitovej, steárovej, olejovej, linolovej a linolénovej prejavujú tento účinok len niektoré. Kyselina steárová stimuluje aktivitu XDH približne dvojnásobne s preukaznosťou $P < 0,05$ oproti kontrole, zatiaľ čo kyseliny linolová a linolénová ju asi 1,5–2násobne znižujú ($P < 0,01–0,1$). Rýchlosť týchto procesov je v termínoch dní.

Coturnix coturnix japonica; eliminácia dusíka; pečeň; pankreas

Xantín dehydrogenáza (XDH; EC 1.2.1.37) — enzým zapojený do eliminácie aminokyselinového dusíka je u vtákov distribuovaný prevažne v pečeni, obličkách a pankrease. Jeho aktivita je značne ovplyvnená nutričnými podmienkami, pričom medzi obsahom bielkovín v krmive a hodnotou XDH aktivity v pečeni existuje priama korelácia (J a n k e l a, 1978). V niektorých prípadoch, najmä pri skrmovaní tzv. netradičných substrátov boli pozorované odchýlky od tejto korelácie (G a ž o a i., 1978; J a n k e l a a B a r a n o v s k á, 1980). Woodward a Fisher (1967), resp. Lee a Fisher (1971) popísali vplyv mastných kyselín z diéty na ontogenetický vývoj XDH u kurčiat. Je pravdepodobné, že pozorované odchýlky od korelácie obsahu kŕmnych bielkovín vs. aktivita XDH sú spôsobené prítomnosťou nebielkovinových látok v krmive, napr. mastných kyselín. Na overenie tohto predpokladu bol sledovaný vplyv mastných kyselín na reguláciu aktivity XDH. V práci bola použitá metóda proteínovej deplécie a následnej replécie so súčasnou aplikáciou testovaných mastných kyselín.

MATERIÁL A METÓDY

Japonské prepelice — kohútiky z chovu Ústavu biochémie a genetiky živočíchov SAV vo veku 71 dní boli 4 dni v predpokusnom období kŕmené bezbielkovinovým krmivom. Od 5. dňa boli prepelice rozdelené do 8 skupín po 24 zvierat a kŕmené experimentálnym krmivom s obsahom $27,7 \text{ g N} \times 6,25 \cdot \text{kg}^{-1}$ a náhradou tukovej zložky jednotlivými mastnými kyselinami. Zloženie kŕmív je v tab. I. V 1., 4., 5., 6., 7. a 8. dni boli po

Komponent ¹ [g]	Kŕmna zmes ¹¹								
	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.
Sušený vaječný bielok ²	—	277,3	277,3	277,3	277,3	277,3	277,3	277,3	277,3
Kukurličný škrob ³	280,4	264,0	282,0	264,0	264,0	264,0	264,0	264,0	264,0
Glukóza ⁴	596,1	334,2	334,2	334,2	334,2	334,2	334,2	334,2	334,2
Klíčkový olej ⁵	9,2	9,2	—	—	—	—	—	—	—
Slnečnicový olej ⁶	18,4	18,4	—	—	—	—	—	—	—
Celulóza ⁷	28,7	28,7	28,7	28,7	28,7	28,7	28,7	28,7	28,7
Vitamínový doplnok ⁸	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2
Minerálny doplnok ⁹	57,0	57,0	57,0	57,0	57,0	57,0	57,0	57,0	57,0
Mastná kyselina ¹⁰	—	—	—	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0

- I. predpokusná — preexperimental
 II. kontrolná — control
 III. beztuková — fatless
 IV. s kyselinou laurovou — with lauric acid
 V. s kyselinou palmitovou — with palmitic acid
 VI. s kyselinou steárovou — with stearic acid
 VII. s kyselinou olejovou — with oleic acid
 VIII. s kyselinou linoľovou — with linoleic acid
 IX. s kyselinou linoľénovou — with linolenic acid

¹component, ²dried egg yolk, ³maize starch, ⁴glucose, ⁵germ oil, ⁶sunflower oil, ⁷cellulose, ⁸biofactors supplement, ⁹mineral supplement, ¹⁰fatty acid, ¹¹feed mixture

3 zvieratá z každej skupiny usmrtené dekapitáciou. V pečeni, obličkách a pankrease bola stanovená aktivita XDH podľa Strittmattara (1965) a množstvo bielkovín podľa Lowryho a i. [1951]. Výsledky boli štatisticky vyhodnotené na preukaznosť rozdielov medzi skupinami *t*-testom.

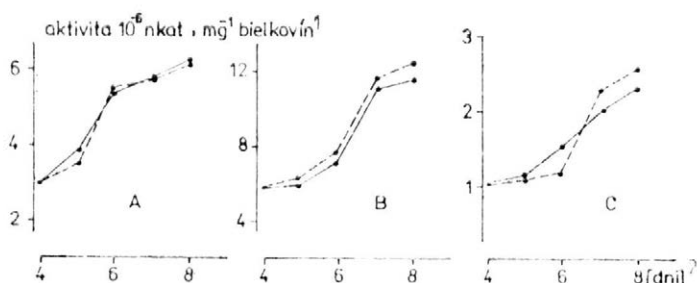
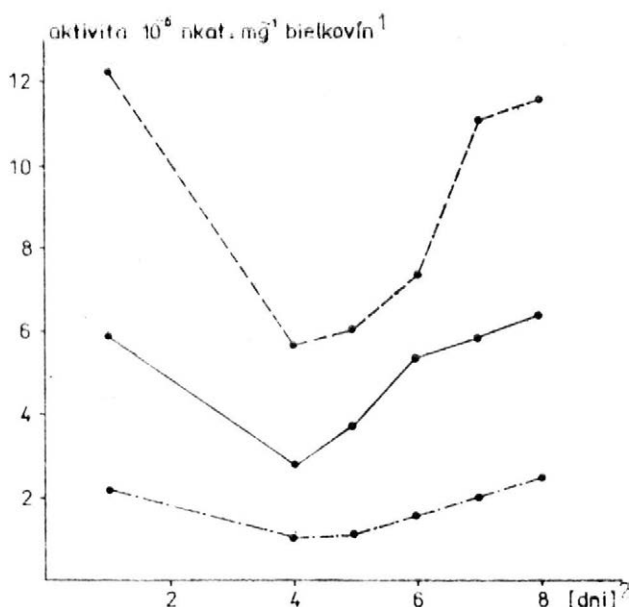
VÝSLEDKY

Špecifická aktivita XDH v pečeni, obličkách a pankrease v priebehu predpokusného obdobia a po následnej bielkovinovej replécii je na obr. 1. Po počiatocnom poklese aktivity vo všetkých troch orgánoch na približne rovnakú hodnotu 52 % pôvodnej aktivity nastáva pri replécii bielkovín v krmive opätovné zvýšenie aktivity XDH.

Účinok krmiva neobsahujúceho tuk na aktivitu XDH (obr. 2) v pečeni, resp. v obličkách, sa nelíšil od účinku kontrolného krmiva. Špecifická aktivita XDH v pankrease vykazovala pod vplyvom beztukovej diéty oproti kontrolným zvieratám určité odchýlky, ktoré však neboli štatisticky významné.

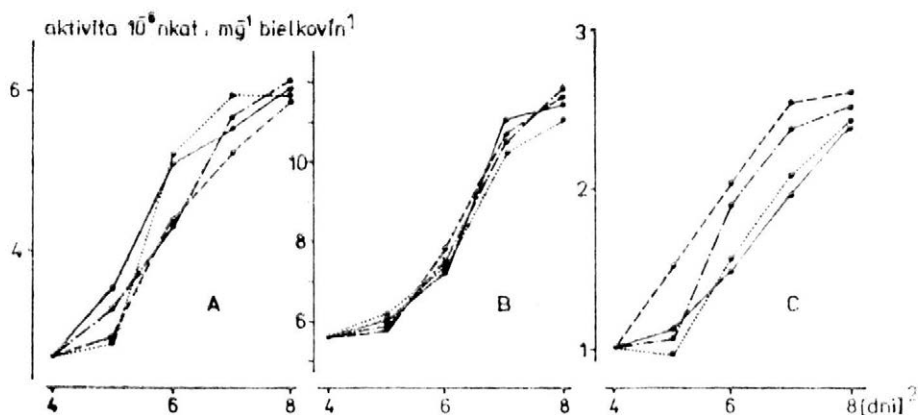
Kyselina laurová, palmitová, resp. olejová ako jediná náhrada tukovej zložky krmiva neovplyvnili výrazne vývoj špecifickej aktivity XDH v pečeni, obličkách a pankrease (obr. 3). K určitým, štatisticky nevýznamným posunom, najmä pri aplikácii kyseliny larovej alebo palmitovej dochádzalo od 2., resp. 3. dňa kŕmenia s týmito masnými kyselinami len v pečeni a pankrease. Kŕmenie krmivom, v ktorom bola ako náhrada tuku použitá len kyselina steárová, vyvolalo odlišnú reakciu XDH v pečeni

1. Špecifická aktivita XDH v pečeni ———, obličkách — — — a pankrease — . . . — pri proteínovej deplécii a replécii — Specific XDH activity in liver ———, in kidneys — — — and in pancreas — . . . — in protein depletion and repletion
¹activity 10⁶ nkat/mg of proteins, ²days
 (for Figs. 1—5)

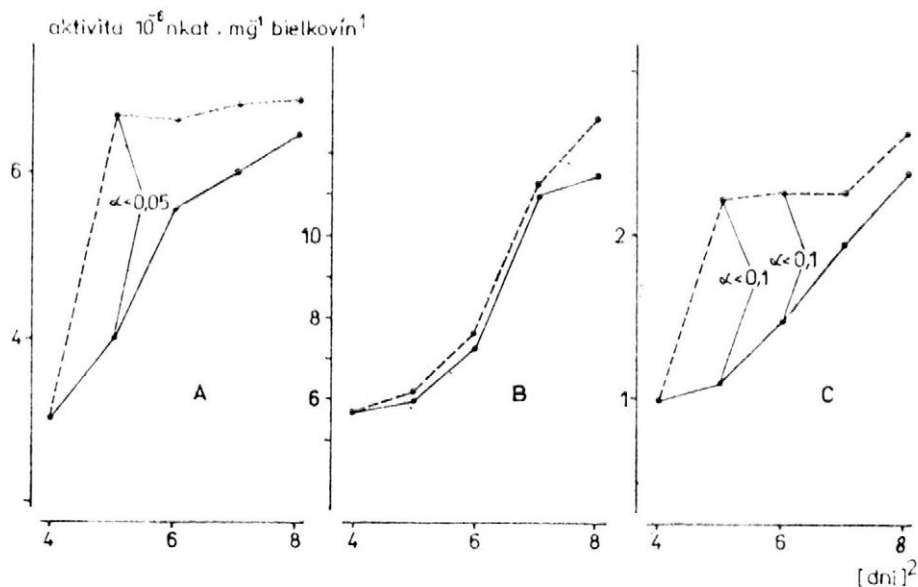


2. Špecifická aktivita XDH pri kŕmení kontrolným krmivom ——— a krmivom neobsahujúcim tuk — — —; A — pečeň, B — obličky, C — pankreas — Specific XDH activity in feeding the control feedstuff ——— and feedstuff not-containing fat — — —; A — liver, B — kidneys, C — pancreas

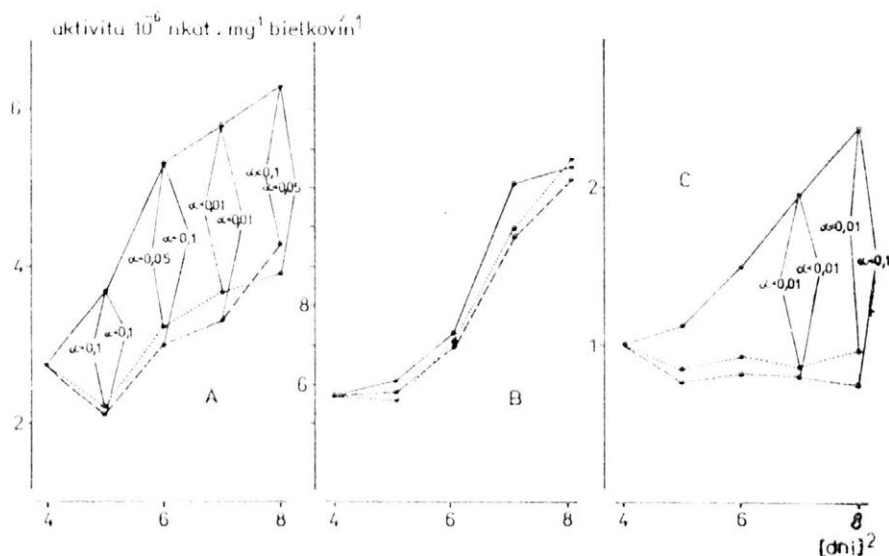
a pankrease oproti enzýmu v obličkách (obr. 4). Dynamika vývoja aktivity XDH v obličkách mala približne rovnaký priebeh ako bolo zaznamenané u kontrolných zvierat. Naproti tomu v pečeni a pankrease japonských prepelíc vyvolala kyselina steárová štatisticky významné zvýšenie špecifickej aktivity XDH už po jednodennej aplikácii. Po tomto prudkom zvýšení nastala stabilizácia dosiahnutej úrovne enzymatickej aktivity v oboch orgánoch. Pečeňová XDH aktivita pretrvávala na rovnakej hodnote do konca pokusného obdobia, zatiaľ čo v pankrease došlo na štvrtý deň kŕmenia s kyselinou steárovou k ďalšiemu, hoci štatisticky nevýznamnému vzrastu XDH aktivity.



3. Špecifická aktivita XDH pri kŕmení kontrolným krmivom ——— a krmivom s kyselinou laurovou — — —, palmitovou . . . a olejovou . . . ; A — pečeň, B — obličky, C — pankreas — Specific XDH activity in feeding the control feedstuff ——— and feedstuff with lauric acid — — —, palmitic . . . and oleic . . . acids; A — liver, B — kidneys, C — pancreas



4. Špecifická aktivita XDH pri kŕmení kontrolným krmivom ——— a krmivom s kyselinou steárovou — — —; A — pečeň, B — obličky, C — pankreas — Specific XDH activity in feeding the control feedstuff ——— and the feedstuff containing stearic acid — — —; A — liver, B — kidneys, C — pancreas



5. Špecifická aktivita XDH pri kŕmení kontrolným krmivom — a krmivom s kyselinou linolovou — — — a linolénovou . . . ; A — pečeň, B — obličky, C — pankreas — Specific XDH activity in feeding the control feedstuff — — — and feedstuff containing linoleic — — — and linolenic acids . . . ; A — liver, B — kidneys, C — pancreas

Pôsobenie kyseliny linolovej a linolénovej na vývoj špecifickej aktivity XDH (obr. 5) bolo rovnako orgánovo selektívne. Obličková XDH aktivita nevykazovala štatisticky významné odchýlky od hodnôt zistených u kontrolných zvierat. Obidve nenasýtené mastné kyseliny vyvolávali len malý posun k nižším hodnotám v priebehu sledovaného obdobia. Naproti tomu vývoj XDH aktivity v pečeni a pankrease bol týmito mastnými kyselinami výrazne ovplyvnený. Špecifická aktivita XDH v pečeni poklesla po prvom dni kŕmenia experimentálnym krmivom dokonca ešte pod hodnotu aktivity stanovenej na začiatku experimentálneho obdobia, teda po ukončení proteínovej deplécie. V ďalšom období aktivita síce vzrastala s približne podobnou rýchlosťou ako prebiehal vývoj XDH aktivity v pečeni kontrolných zvierat, ale štatisticky významný rozdiel bol stále pomerne vysoký. Depresia XDH aktivity v pečeni bola pritom výraznejšia pri pôsobení kyseliny linolovej než linolénovej.

Špecifická aktivita XDH v pankrease rovnako ako v pečeni poklesla po jednodňovom kŕmení s kyselinou linolovou, alebo linolénovou pod hodnotu stanovenú na začiatku experimentálneho obdobia, hoci tento pokles nebol natoľko výrazný ako u hepatálnej XDH. Na rozdiel od pečene však v ďalšom období XDH aktivita pankrease pretrvávala na rovnakej úrovni. Rovnako ako v pečeni bol vplyv kyseliny linolovej výraznejší ako vplyv kyseliny linolénovej.

DISKUSIA

Využitie modelu proteínovej deplécie a následnej replécie umožnilo presnejšie charakterizovať vplyv mastných kyselín na orgánovú špecifickú

kú aktivitu XDH. Nutričné zásahy sanajcitlivejšie odrážajú v období intenzívneho rastu zvierat. V tomto období však zároveň dochádza k najvýraznejšej kumulácii neuroendokrinných faktorov ovplyvňujúcich enzymatickú aktivitu. Modelový systém proteínovej deplécie a následnej replécie (Gažo a i., 1985) umožňuje eliminovať prinajmenšom časť týchto faktorov, pričom však procesy prebiehajúce pri proteínovej replícii u dospelých zvierat pripomínajú procesy vývinu a rastu. Vývoj XDH je charakterizovaný poklesom jej aktivity ako následok proteínového hladovania (Nir a i., 1974; Gažo a i., 1980) a pri návrate ku kŕmeniu s dostatkom bielkovín opätovným zvýšením pripomínajúcim ontogenetický vývoj XDH (Jankela, 1977). Skrmovanie beztukovej diéty naznačilo, že replécia XDH aktivity je vyvolaná výlučne repléciou bielkovín v krmive bez vplyvu tuku na tejto dynamike. Za krátky čas trvania experimentu sa neprítomnosť mastných kyselín nemohla prejavíť, keďže zásobný tuk hydiny obsahuje veľké percento polynenasýtených a esenciálnych mastných kyselín (Lang, 1970), ktoré môže organizmus zvierat plne využívať.

Na základe pozorovania účinku individuálnych mastných kyselín ich možno rozdeliť do troch skupín. V prvej sú kyseliny nevykazujúce žiadny vplyv na orgánovú aktivitu XDH. Sú to nasýtené mastné kyseliny — laurová a palmitová a mononenasýtená — kyselina olejová. Do druhej skupiny patrí jediná z testovaných mastných kyselín — kyselina steárová, ktorá zvyšovala aktivitu XDH v pečeni a v pankrease. Konečne v tretej skupine sú mastné kyseliny s depresívnym účinkom na XDH aktivitu. Sú to esenciálne polynenasýtené mastné kyseliny — linolová a linolénová.

Ukázalo sa, že účinok testovaných mastných kyselín je do určitej miery orgánovo selektívny, ovplyvňuje XDH aktivitu len v pečeni a pankrease bez vplyvu na XDH v obličkách.

Stimulujúci účinok kyseliny steárovej je vzhľadom na jej neesencialitu nepochopiteľný. V pokusoch autorov Gažo a Knobloch (1964) pozorovali pozitívny účinok kyseliny steárovej na operenie kohútikov a rovnaký účinok na aktivitu XDH bol zistený v prácach Fisher a i. (1967) a Woodward a i. (1975). Pritom sľu však z celkového počtu 11 mastných kyselín podieľa kyselina steárová necelými 10 % na zložení tuku u sliepok.

Fyziologický význam depresívneho vplyvu esenciálnych kyselín — linolovej a linolénovej na XDH z pečene a pankreasu je takisto nejasný: Esenciálne mastné kyseliny podporujú rast organizmu. Možno práve zníženie katabolických funkcií je primárnym mechanizmom tohto ich účinku. Fisher a i. (1967) a Lee a Fisher (1971) pozorovali rovnako depresívny účinok kyseliny linolovej a linolénovej na aktivitu XDH v pankrease a predpokladali, že tento vplyv sa realizuje cestou zmien v degradácii enzymatickej molekuly, čím dochádza k zníženiu katabolizmu aminokyselín a teda exkrécie dusíka.

Z uvedených pozorovaní vyplýva, že nutričný vplyv mastných kyselín, a to i takých, ktoré sa vyskytujú v tukovom tkanive hydiny, nie je zanedbateľný a výrazne sa prejavuje na stupni XDH.

Literatúra

FISHER, J. R. — CURTIS, J. L. — WOODWARD, W. D.: Development changes and control of XDH. *Dev. Biol.*, 16, 1967, s. 289.

- GAŽO, M. — KNOBLOCH, E.: Vplyv zvýšenej dávky ctylesterov esenciálnych mastných kyselín na rast, operenie a zloženie tuku u kurčiat. Ved. Práce VÚCHH, 2, 1964, s. 169.
- GAŽO, M. — TKÁČ, M. — JANKELA, J.: Vplyv rôznej biologickej hodnoty bielkovín diéty na metabolizmus proteínov u japonskej prepelice. Bull. CSBS a SBS, 3, 1978, s. 5.
- GAŽO, M. — BARANOVSKÁ, M. — SABO, V. — ILLEŠOVÁ, D. — SVETÍKOVÁ, Z.: Testovanie vhodnosti lúhových bielkovín pre kŕmne účely na japonskej prepelici. Živoč. Výr., 25, 1980, s. 631.
- GAŽO, M. — BARANOVSKÁ, M. — STRÁŽNICKÁ, H. — JANKELA, J. — TKÁČ, M.: Proteínová replécia ako model pre hodnotenie vhodnosti netradičných bielkovín pre dospelú hydinu. Zbor. Ref. Symp. o využívaní netradičných zdrojov bielkovín, Bratislava, 1985.
- JANKELA, J.: Postnatálny vývoj aktivít enzýmov katabolizmu dusíka v pečeni japonskej prepelice. Veter. Med. [Praha], 22, 1977, s. 421.
- JANKELA, J.: Regulácia XDH aktivity vo vzťahu k bielkovinovej výžive japonskej prepelice. Bull. ČSBS a SBS, 6, 1978, s. 8.
- JANKELA, J. — BARANOVSKÁ, M.: Vplyv náhrady živočíšnych bielkovín chlorelou na dusíkový metabolizmus japonskej prepelice. Hydínárstvo, 17, 1980, s. 165.
- LANG, K.: In: Biochemie der Ernährung, Darmstadt, Steinkopff Verlag 1970, s. 70.
- LEE, P. C. — FISHER, J. R.: Effect of fatty acids on XDH synthesis in the chick. Arch. Biochem. Biophys., 144, 1971, s. 443.
- LOWRY, O. M. — ROSENBROUGH, N. J. — FARR, A. L. — RANDALL, R. J.: J. Biol. Chem., 193, 1951, s. 265.
- NIR, I. — SHAPIRA, N. — NITSAN, Z. — DROR, Y.: Force-feeding effects on growth, carcass and blood composition in the young chick. Brit. J. Nutr., 32, 1974, s. 229.
- STRITTMATTER, C. F.: Studies on avian XDH. J. Biol. Chem., 240, 1965, s. 2557.
- WOODWARD, W. D. — ALLROD, T. G. — NICKELS, J. S. — WU, J. M. — FISHER, J. R.: Regulation of some nitrogen catabolizing enzymes levels in chick liver. Arch. Biochem. Biophys., 169, 1975, s. 134.
- WOODWARD, W. D. — FISHER, J. R.: Control of xanthine dehydrogenase in chick pancreas. Dev. Biol., 16, 1967, s. 282.

Došlo dňa 4. 7. 1991

JANKELA, J. (Institute of Animal Biochemistry and Genetics of the Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji): *The effects of dietary fatty acids on the XDH activity in Japanese quail*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (5—6): 333—339.

The aim of the present study is to determine the effect of different fatty acids on the amino acid catabolism judged on the level of xanthine dehydrogenase (XDH). The model system of protein depletion with subsequent repletion was used in the trial consisted of Japanese quails 71 days old. In the period of protein repletion, the fatty acid (stearic, palmitic, oleic, linolenic, linoleic and lauric, respectively) was used instead of common fatty compound in the diet. Specific activities of XDH in liver, kidneys and pancreas of quails were tested dynamically from the first to the eighth day of feeding. It was demonstrated that neither lauric, palmitic nor oleic acid, respectively, had an effect on the development of the specific activity of XDH (Fig. 3). Stearic acid as a sole fatty compound in the diet however evoked reactivity of XDH in liver or in pancreas in different way as in kidneys (Fig. 4). The dynamics of the XDH development in kidneys was practically identical than that in the control. However, XDH in liver and pancreas risen statistically already from the first day of feeding. The effects of linoleic and linolenic acids on the development of specific activity of XDH were organ selective, too (Fig. 5). XDH in kidneys was shown in the same manner as in the control group. In liver and pancreas, however, the specific activity of XDH was diminished markedly just from the first day of feeding.

Coturnix coturnix japonica; nitrogen elimination; liver; pancreas

Adresa autora:

Mgr. Ján Jankela, CSc., Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji

Časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojeno prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě prací. Jednotlivé práce nemají mít rozsah větší než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami.

Technická úprava rukopisu. Úprava rukopisu má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojité mezery). Ilustrace, grafy, atbulky a fotografie (černobílé) mají vyhovovat ČSN 88 2109, dodávají se zvlášť a nepodlepují se. Rýsují se tuší na bílý nebo pauzovací papír a popisují se jednotnou velikostí písma (šablona 3,5 mm). Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům se dodávají na zvláštním listě, umístění obrázků se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslují římskými číslicemi. Na všechny obrázky i tabulky musí být v textu práce odkazy. Pro překlad do angličtiny je nutné vysvětlit všechny použité zkratky.

Úprava vlastní práce. Název práce nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o..., Příspěvek k... Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů — příjmení a první písmeno jména.

Souhrn. Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnout vše, co je na jeho práci pozoruhodné a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložený do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článku a citací: Veter. Med. (Praha), 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova. Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit k rychlé orientaci a při zařazování práce do kartotéky. Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod. Úvod má obsahovat hlavní důvody prož byla práce uskutečněna a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést k práci se vztahující citaci autorů (doporučuje se co nejnižší počet citací — čtyři až osm autorů).

Materiál a metody. Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoliv z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky. Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům nebo tabulky shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale faktické nálezy.

Diskuse. Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Diskutuje se o možných nedostatecích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost nebo pokud jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Literatura. V textu se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí všechny práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c. Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

Zkratky názvů časopisů je třeba dodržovat podle publikace doc. Bojňanského a kol., vydané v roce 1982 Slovenskou akadémiou vied pod názvom Periodiká z oblasti biolo-gicko-poľnohospodárskych vied, ich citácie a skratky.

Adresa autora. Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, jméno (ne jen zkratku), příjmení, vědeckou hodnost a podrobnou adresu pracoviště s PSČ. Totéž uvede i pro spoluautory.

J. Mezerová, L. Němeček, M. Snášil

MEZEROVÁ, J. — NĚMEČEK, L. — SNAŠIL, M. [Vysoká škola veterinární, Brno]: *Kontinuální intravenózní anestézie psa směsí xylazinu, ketaminu a guaifenezinu*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 [5–6]: 341–347.

Po premedikaci atropinem ($0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a xylazinem ($2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) společně *i. m.* jsme psy uvedli do anestézie *i. v.* podáním 1 % ketaminu v dávce $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a bezprostředně po něm jsme zavedli infúzi směsí xylazinu, ketaminu a guaifenezinu. Směs jsme aplikovali prvních pět minut rychlostí $3,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ a potom po celou dobu operačního zákroku udržovali na konstantních hodnotách $2,2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Sledováním dechové frekvence, dechového a minutového dechového objemu, vnitřní tělesné teploty, EKG a zhodnocením acidobazické rovnováhy jsme nezjistili závažné odchylky od výchozích hodnot. Na základě našich výsledků můžeme ověřovaný způsob doporučit k celkové anestézii zejména větších plemen psů při děletrvajících operacích.

pes; celková anestézie; kontinuální *i. v.* infúze; xylazin; ketamin; guaifenezin; puls; EKG; teplota; dech; dechové objemy; acidobazická rovnováha

Účinná a bezpečná celková anestézie je základním předpokladem pro příznivý průběh operačního zákroku. Injekční způsob pro potřebu minimálního technického vybavení a jednoduchou proveditelnost zatím převažuje nad anestézií inhalační, která vyžaduje přístrojové vybavení a erudici pracovníka. Pro děletrvající operační výkony se ve veterinárních zařízeních, ve kterých není k dispozici narkotizační přístroj, udržuje anestézie reapplikací přípravků v dávkách obvykle odpovídajících 1/3 a ž 1/2 výchozí dávky.

Intravenózní kontinuální infúze anestetika k prolongování narkózy je ve veterinární medicíně zatím málo používaná přesto, že v literatuře je popisováno několik postupů. U psů Michalot aj. (1980) referují o infúzní anestézii kombinací alfatezinu s fentanylem. Platou aj. (1981) použili pentobarbital, Vobořil (1983) po premedikaci morfinem infundoval thiopental, Van Sluijs (1987) předkládá zkušenosti s kontinuální infúzí dehydrobenzperidolu a methadonu a Benson aj. (1987) popisují infúzní anestézii s fentanylem.

Benson aj. (1985) získali velmi dobré zkušenosti s permanentní infúzí roztoku xylazinu, ketaminu a guaifenezinu. Směs pro infúzi připravovali přidáním 0,25 mg xylazinu a 1 mg ketaminu do 1 ml 5% roztoku

guaifenezinu. Zvířata byla uvedena do anestézie *i. v.* aplikací směsi v jednorázové dávce $0,55 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1}$, potom byla anestézie udržována trvalou infúzí roztoku rychlostí $2,2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ infúzní pumpou po dobu 120 minut. Podobné příznivé výsledky s tímto způsobem dostali autoři při anestézii ovce, kozy, prasete a ponyho.

V našich experimentech jsme se zaměřili na ověření zkušeností Benson a aj. (1985) s možností nahradit pro déletrvající operační výkony inhalační anestézii permanentní *i. v.* kapénkovou infúzí směsi dostupných látek: xylazinu, ketaminu a guaifenezinu.

MATERIÁL A METODA

Anestézii permanentní infúzí směsi xylazinu, ketaminu a guaifenezinu (dále XKG) jsme použili u 62 psů, kteří byli rozděleni do dvou skupin — pokusné a skupiny klinických pacientů. Do pokusné skupiny bylo zařazeno 10 psů bez klinických známek onemocnění, většinou kříženců obojího pohlaví, ve věku 3–8 let a hmotnosti 20–41 kg, u kterých byla dodržena 24hodinová hladovka. Skupina pacientů zahrnovala 52 psů ve věku od 3 měsíců do 10 let, hmotnosti 17,5–60 kg, u nichž jsme ověřovanou anestézii použili při různých operačních zákrocích — osteosyntézách, operacích na kloubech a vazech, operacích na zažívacím ústrojí, na oku, při exstirpací novotvarů a dalších.

1. Celková anestézie u psa kontinuální *i. v.* infúzí XKG — General anaesthesia in a dog through the continual *i. v.* infusion of an XKG mixture

Příprava směsi XKG ¹					
100,00 ml guaifenezinu (Guajacuran — inj. 5%)					
2,00 ml ketaminu (Narkamon — 5%)					
1,25 ml xylazinu (Rometa — inj. 2%)					
Anestetický postup ²					
Premedikace: ³ atropin — $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a xylazin — $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ i. m.}$					
Úvod: ⁴ 1% ketamin — $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pomalu <i>i. v.</i>					
Udržování: ⁵ XKG prvních 5 min $3,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, potom $2,2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$					
Rychlost kapací infúze [počet kapek za min] v závislosti na hmotnosti psa [kg] ⁶					
hmotnost ⁷	prvních 5 min ⁸	udržování ⁹	hmotnost ⁷	prvních 5 min ⁸	udržování ⁹
20	17	11	46	38	25
22	18	12	48	40	26
24	20	13	50	41	28
26	21	14	52	43	29
28	23	15	54	45	30
30	25	17	56	46	31
32	26	18	58	48	32
34	28	19	60	50	33
36	30	20	62	51	34
38	31	21	64	53	35
40	33	22	66	54	36
42	35	23	68	56	37
44	36	24	70	58	39

¹preparation of an XKG mixture, ²anaesthetic procedure, ³premedication, ⁴induction, ⁵maintenance, ⁶instilling infusion rate (number of droplets per minute) in dependence on the dog weight [kg], ⁷weight, ⁸first five minutes, ⁹maintenance

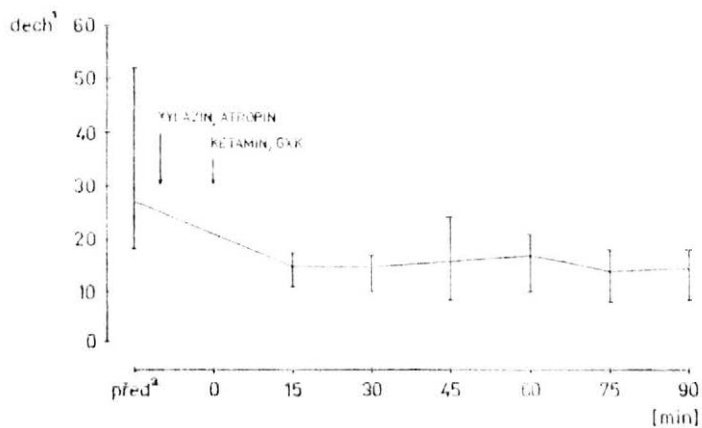
U všech zvířat jsme zvolili stejný anestetický postup. Nejdříve aplikujeme atropin v dávce $0,05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ společně s xylazinem (Rometar 2 % inj.) v dávce $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ i.m. Po nástupu účinku xylazinu podáváme 1% ketamin v dávce $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pomalu intravenózně a po jeho aplikaci pokračujeme v trvalé kapénkové infúzi XKG běžným humánním setem. Infúzní roztok jsme připravovali podle návodu Benson a aj. (1985) takto: do 100,0 ml 5% guaifenezinu (Gua-jacuran) byly přidány 2,0 ml 5% ketaminu (Narkamon) a 1,25 ml 2% xylazinu (Rometar). Po orientačních pokusech se nám osvědčilo zrychlení infúze po dobu prvních 5 min na $3,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, potom jsme udržovali rychlost $2,2 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, kterou jsme případně regulovali podle klinických příznaků anestézie. Ke stanovení rychlosti kapací infúze v závislosti na hmotnosti zvířete jsme si zhotovili tabulku (tab. I) a množství podávané směsi jsme průběžně kontrolovali sledováním stanoveného počtu kapek za minutu v překapávací infúzního setu. V první pokusné skupině jsme u všech 10 psů volili trvání infúze po dobu 90 minut. U druhé skupiny 52 pacientů byla anestézie vedena stejným způsobem až do skončení operačního zákroku, který trval u jednotlivých případů 22–150 minut.

U všech psů jsme hodnotili nástup, průběh, probuzení a zotavení z anestézie a sledovali trias. V pokusné skupině jsme navíc ve stanovených časových intervalech — před pokusem a za 15, 30, 45, 60, 75 a 90 min po zahájení infúze sledovali dechovou frekvenci, dechové objemy respirometrem WRIGHT, srdeční frekvenci přepočtem z EKG, vnitřní tělesnou teplotu a snímali EKG přístrojem BIOCARD. Před pokusem a bezprostředně po ukončení infúze jsme odebírali venózní krev na stanovení vybraných ukazatelů acidobazické rovnováhy: pH, pCO_2 , HCO_3^- a BE. Hloubku analgie jsme ověřovali vpichy jehlou v meziprstí a u pacientů sledovali odezvu na operační výkon. Statistické vyhodnocení měřitelných veličin bylo provedeno párovým *t*-testem (Reisenauer, 1970).

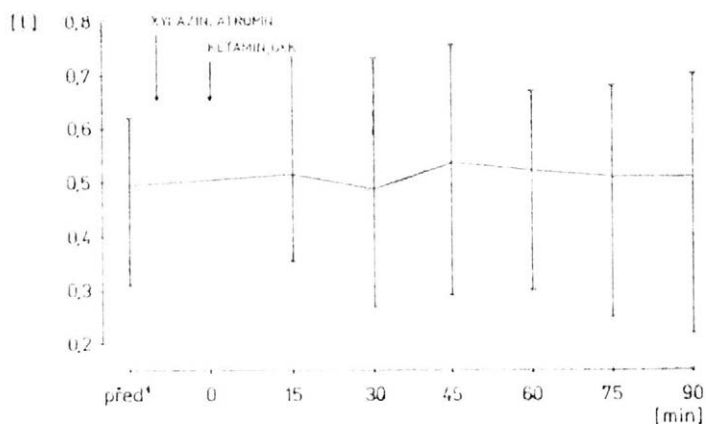
VÝSLEDKY

Nástup, průběh, probuzení a zotavení z anestézie byly u obou skupin obdobné. Po podání xylazinu nastoupila sedace za 10–21 min (průměrně za 15 min). U tří případů došlo po aplikaci xylazinu ke zvracení. Úvod do anestézie pomalou i.v. aplikací 1% roztoku ketaminu byl hladký, plynulý, pouze u dvou pacientů se dostavil mírný svalový třes. Po dobu infúze anestetické směsi zůstával mírně oslabený rohovkový a víčkový reflex. Infúzí bylo ve všech případech docíleno ztráty vědomí, úplné analgie a velmi dobré myorelaxace. Probuzení, které se objevovalo mezi 10.–20. min po skončení aplikace XKG, bylo klidné, bez vedlejších projevů. K zotavení, tj. okamžiku, kdy pes byl schopen bez pomoci chůze, docházelo za 25–105 min (průměrně za 48 min). U klinických pacientů doba probuzení a zotavení z anestézie závisela na zdravotním stavu a trvání infúze.

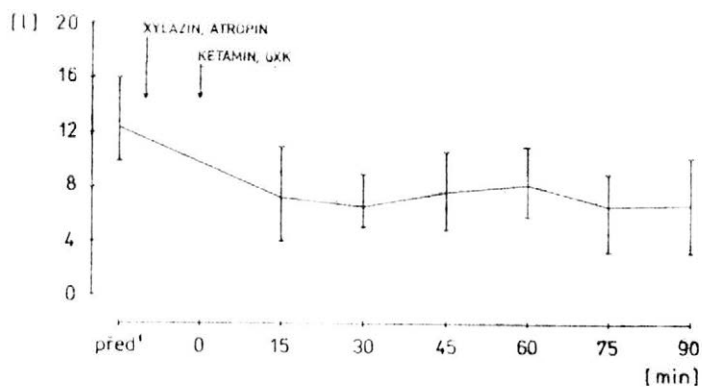
Měřitelné veličiny vykazovaly u pokusných psů během sledovaného období následující změny: Dechová frekvence (obr. 1) stanovená před pokusem byla zvýšena nad horní hranici fyziologického rozmezí. K statisticky vysoce významnému snížení hodnot došlo při prvním měření v 15 mi a k průkaznému vzestupu v intervalech 45–60 minut. Hodnoty dechového objemu (obr. 2) se v měřeném období statisticky průkazně nezměnily. U minutového dechového objemu (obr. 3) nastalo statisticky vysoce významné snížení hodnot v měření 15 min od začátku infúze. Hodnoty tepové frekvence (obr. 4) se významně zvýšily po zahájení aplikace XKG a v dalším průběhu anestézie postupně klesaly. Statisticky průkazný pokles vnitřní tělesné teploty (obr. 5) byl po 30. minutě anestézie a mezi 60. a 75. minutou. Vyhodnocením ukazatelů acidobazické rovnováhy (tab. II) před pokusem a po ukončení infúze jsme prokázali statisticky významné rozdíly u hodnot pH, pCO_2 , HCO_3^- . Analýza elektrokardiogramů neukázala abnormální změny v rytmu a konfiguraci jednotlivých částí EKG křivky.



1. Hodnoty dechové frekvence — The values of breathing rate
¹breathing, ²before

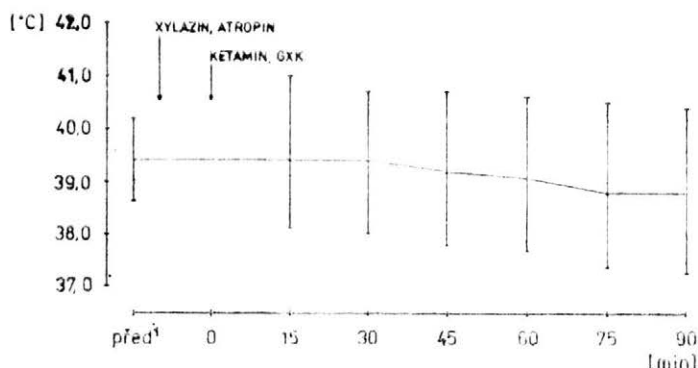
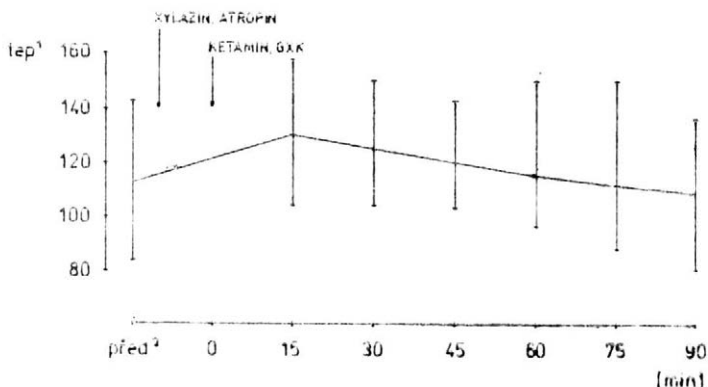


2. Hodnoty dechového objemu — The values of breathing volume
¹before



3. Hodnoty minutového dechového objemu — The values of minute breathing volume
¹before

4. Hodnoty tepové frekvence — The values of pulse rate
¹pulse, ²before



5. Hodnoty vnitřní tělesné teploty — The values of internal body temperature
¹before

II. Hodnoty ukazatelů acidobazické rovnováhy stanovené v krvi odebrané před pokusem (1) a po skončení permanentní infúze XKG (2) — The values of the parameters of the acid-base balance determined in the blood collected before the trial (1) and after the permanent XKG infusion was completed (2)

	pH	pCO ₂ (kPa)	pO ₂ (kPa)	HCO ₃ ⁻ (MM.l ⁻¹)	BE (MM.l ⁻¹)
Odběr ¹ 1					
$\bar{x}$	7,342	5,64	7,73	21,80	2,91
s	± 0,015	± 0,47	± 1,04	± 2,83	± 1,44
s_x	± 0,005	± 0,15	± 0,33	± 0,89	± 0,45
v (%)	0,20	8,31	13,46	12,97	49,40
Odběr ¹ 2					
$\bar{x}$	7,281	6,79	7,08	22,80	2,83
s	± 0,043	± 1,15	± 1,48	± 3,29	± 1,51
s_x	± 0,014	± 0,36	± 0,47	± 1,04	± 0,47
v (%)	0,59	16,96	20,89	14,42	53,3

$\bar{x}$ — aritmetický průměr, s — směrodatná odchylka, s_x — střední chyba průměru, v — variační koeficient — $\bar{x}$ — arithmetical mean, s — standard deviation, s_x — standard error of the mean, v — coefficient of variation

¹blood collection

Úvod do anestézie jednorázovým intravenózním podáním směsi xylazinu, ketaminu a guaifenezinu před vlastní infúzí, jak jej doporučují Benson aj. (1985) se nám neosvědčil. U zvířat docházelo k nedostatečné ztrátě vědomí, analgezií a myorelaxací. Proto jsme po orientačních pokusech modifikovali postup autorů Benson aj. (1985) tak, že jsme zvířata před zahájením infúze anestetického roztoku uvedli do anestézie metodikou xylazin-ketaminové anestézie, kterou publikovali Nemeček aj. (1986). K docílení úplné analgezie se nám osvědčilo zrychlení infúze po dobu prvních 5 min na $3,3 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$. Rovněž účinné bylo i krátkodobé zrychlení infúze v případech, kdy pacient začal během operace reagovat na bolest. Přednost modifikované metodiky spatřujeme zejména u velkých plemen psů v tom, že premedikovaným xylazinem je pacient velmi dobře sedován, je s ním snadnější manipulace s minimálními obrannými reakcemi a je usnadněna punkce žíly pro i.v. aplikaci ketaminu a připojení infúzní soupravy k injekční jehle. Při použití uvedeného anesteziologického postupu je třeba sledovat infúzi jedním pracovníkem, protože může dojít k přilnutí lumina jehly k intimě žíly, a tím ke zpomalení až zástavě infúze.

Signifikantní zvýšení hodnot srdeční frekvence v prvních 15 min lze přičíst tachykardickému účinku atropinu a ketaminu a zvýšení hodnot dechové frekvence nad fyziologické rozmezí v měření před pokusem a po rozrušení psa během měření.

Statisticky průkazné odchylky v hodnotách acidobazické rovnováhy svědčí v důsledku hypoventilace pro částečně kompenzovanou respirační acidózu a korespondují s údaji, které uveřejnili Benson aj. (1985).

Literatura

- BENSON, G. J., aj.: Cardiopulmonary effects of an intravenous infusion of guaifenesin, ketamine and xylazine in dogs. *Amer. J. veter. Res.*, 46, 1985, č. 9, s. 1896–1898.
- BENSON, G. J., aj.: Intravenous administration of Loperone and glycopyrrolate followed by continuous infusion of Sufentanil in dogs. *Amer. J. veter. Res.*, 48, 1987, č. 9, s. 1372–1375.
- MICHALOT, G., aj.: 24 hours Althesin — Fentanyl anaesthesia in dogs. *Brit. J. Anaesth.*, 52, 1980, s. 19–22.
- NĚMEČEK, L. — NECHVÁTAL, M. — SNÁŠIL, M.: Anestézie u psa xylazinem a ketaminem. *Veterinářství*, 36, 1986, č. 1, s. 38–39.
- PLATOU, E. S., aj.: Pentobarbital infusion anaesthesia and cardiac electrophysiology. *Acta anaesth. scand.*, 35, 1981, suppl. 72.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. 2. vyd. Praha, SNTL 1970, 239 s.
- Van SLUIJS, F. J.: Gastric dilatation — volvulus in the dog. (Dizertační práce). Utrecht 1987, 133 s.
- VOBŮRIL, Z.: Parciální resekce sleziny psa. *Rozhledy v chirurgii*, 62, 1983, č. 1, s. 41–48.

Došlo dne 6. 5. 1991

MEZEROVÁ, J. — NĚMEČEK, L. — SNÁŠIL, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Continual intravenous anaesthesia in dogs with a mixture of xylazine, ketamine and guaifenezine (XKG)*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (5–6): 341–347.

The tested anaesthesia through a permanent infusion of a xylazine, ketamine and guaifenezine (XKG) mixture was used in ten experimental dogs without clinical signs of a disease and in fifty two patients during different surgical interventions. After joint l.m.

atropine (0.05 mg/kg) and xylazine (2 mg/kg) premedication, anaesthesia in dogs was induced by an *i.v.* administration of 1% ketamine at a dose of 2 mg/kg, and the XKG was infused instantly after the previous treatment. The mixture contained 2.0 ml of 5% ketamine and 1.25 ml of 2% xylazine added to 100 ml of 5% guaifenezine. The infusion was applied at a rate of 3.3 ml/kg for the first five minutes and then it was maintained at constant values of 2.2 ml/kg during the whole surgical intervention (Tab. I). The induction and course of anaesthesia, and waking up and recovery from anaesthesia were evaluated in all dogs, and the trias values were also followed. These additional parameters were followed in the test group: breathing volumes, ECG values and acid-base balance parameters were determined from the collected blood samples. The observation of measurable parameters (Figs. 1 to 5) and ECG analysis did not demonstrate any large departures from the starting values, and the changes in the acid-base balance (Tab. II) suggest the partly compensated respiratory acidosis. On the basis of our results, we can recommend this tested method for general anaesthesia particularly of dogs of larger breeds and for longer-lasting operations. This method is suitable to be used first of all in the veterinary establishments where inhalation anaesthesia is not practicable.

dog; general anaesthesia; continual *i.v.* infusion; xylazine; ketamine; guaifenezine; pulse; ECG; temperature; breathing; breathing volumes; acid-base balance

Adresa autorů:

MVDr. Jana Mezerová, doc. MVDr. Ladislav Němeček, CSc., MVDr. Milan Snášil, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

**KRITÉRIA, PODLE KTERÝCH SE ROZHODUJE O ZAŘAZENÍ VĚDECKÝCH
ČASOPISŮ DO CURRENT CONTENTS**

[E. Garfield: Current Comments, 23, 1990, s. 5—13]

1. Citovanost publikovaných článků

- Celkový počet citací článků
- Závažnost (impact) časopisu; hodnotí se indexem (I)

$$I = \frac{\text{počet citací časopisu v určitém roce}}{\text{celkový počet prací zveřejněný v časopise v předcházejících dvou letech}}$$

2. Internacionálnost časopisu

- Podle státní příslušnosti prvního autora
- Podle státní příslušnosti autorů, kteří citovali články publikované v časopise

3. Vydavatelská úroveň

- Včasnost a pravidelnost vydávání
- Délka období od dodání rukopisu po zveřejnění
- Dodržování mezinárodních vydavatelských pravidel
informovanost titulu časopisu
dostatečně popisné tituly článků
úplné bibliografické informace citované literatury
plné adresy autorů, včetně čísel telefonů a faxů
- Jazyk, ve kterém je časopis vydáván, dostatečně informativní abstrakt nebo souhrn v angličtině, u neanglicky psaných článků je nezbytný
- Kvalita článků
spolehlivost metodiky
originalita výsledků
úplnost literatury (zda autoři citují široký rozsah významných časopisů)
- Vědecká kvalita autorů i členů redakční rady
jak často publikují
ve kterých časopisech publikují
zda jsou jejich práce citovány

METODIKY DIAGNOSTIKY OOCYST KRYPTOSPORIDIÍ U SAVCŮ A PTÁKŮ

Diagnostika kryptosporidiových nákaz u savců a ptáků za živa je založena na detekci oocyst prvoka vylučovaných během patentní periody jejich exkrementy do vnějšího prostředí. K jejich průkazu se v praxi humánních a veterinárních laboratoří používají koprologické metody a různé postupy barvení roztěrů výkalů.

V důsledku patogenity kokcií rodu *Cryptosporidium* dochází u nakaženého hostitele k výrazným morfologickým změnám střevního slizničního epitele, a tím k narušení fyziologie trávení. To se kromě jiného projevuje klinicky i změnou konzistence výkalů, které bývají mazlavé, kašovitě až vodnaté, obsahují často nadměrné množství hlenu, cary odloupané střevní sliznice, vločky krve, nestrávené zbytky potravy apod. a u nemocných mláďat v období mléčné výživy značné množství tukových částic. Tyto komponenty velmi komplikují a znesnadňují vlastní koprologické vyšetření. Nesnáze je v tom, že při použití jakéhokoli flotačního roztoku při vyšetřování exkrementů hostitelů většinou nevznikne po centrifugaci vzorků pevný sediment, ale na povrchu supernatantu se vytvoří jakási „zátká“. Z ní je prakticky buď zcela vyloučeno odebrat pomocí kličky nebo pipety již samotný vzorek nebo tento vzorek je natolik znečištěný různými částicemi a nestrávenými zbytky výkalů, že při mikroskopování je zorné pole nepřehledné a determinace oocyst kryptosporidií je tak vzhledem k jejich malým rozměrům skutečně velmi obtížná. V některých koprologických metodikách se pro vytvoření pevnějšího sedimentu jako doplněk k vyšetřovanému vzorku trusu používají např. bentonit, talek a další různé detergenty. Naše dlouholeté zkušenosti z vyšetřování sajících telat, jehňat i kůzlat nakažených kryptosporidiemi (potvrzené rovněž pracovníky veterinárních parazitologických laboratoří v České republice) ukazují, že ani toto neusnadňuje proces přípravy vzorků exkrementů k vyšetření.

Uvádíme proto metodiky, které se nám osvědčily speciálně při diferenciální diagnostice kryptosporidiových nákaz u savců a ptáků včetně některých nových laboratorních pomůcek, které usnadňují, standardizují a zefektivňují jak postup přípravy, tak i vlastní vyšetřování vzorků výkalů na přítomnost oocyst kryptosporidií. V závislosti na konzistenci exkrementů různých hostitelů při poruchách zažívacího traktu doporučujeme kombinaci některého uvedeného postupu a metod:

A. METODA NATIVNÍHO PREPARÁTU

Detekce oocyst *Cryptosporidium* spp. se provádí v kapkách vhodné tekutiny (vody, fyziologického roztoku), které bylo použito při homogenizaci a k ředění vyšetřovaného vzorku trusu. Postup přípravy a vlastní vyšetření:

- 1–3 g trusu (nebo 3 ml vodnatých výkalů) se rozředí s 10 ml (nebo 7 ml) vhodné tekutiny ve třech misce;
- homogenát se přecedí přes čajové sítko;
- 1–3 kapky tekutiny homogenátu se pomocí Pasteurovy pipety přenesou na podložní sklo s třemi jamkami. Přidají se 1–2 kapky glycerínu, ústím pipety nebo skleněnou tyčinkou se směs promísí a nakonec se přiloží krycí sklíčko o rozměrech 18 × 18 mm;
- po 2–3 min se vzorek prohlíží mikroskopem při 400–1000násobném zvětšení.

Poznámka: Metoda je velmi rychlá a spolehlivá. Dovoluje vynechat kroky ad a), b). V takovém případě se malé množství trusu smísí s 2–3 kapkami vody přímo na jedné jamce podložního skla, přidá se glycerín nebo se takto připravená směs k vyšetření odsaje do vedlejší jamky, přiloží se krycí sklíčko a vzorek lze okamžitě vyšetřovat. Glycerín působí jako flotační roztok. Těžší částice exkrementů zůstávají na dně jamky, oocysty se koncentrují ve vrchní vrstvě, jejich stěny se zkontrastní a vnitřní struktura oocyst má náružovělý nádech (Pavlásek, 1991).

B. FLOTAČNÍ METODY

1. Detekce oocyst kryptosporidií se provádí v tekutině supernatantu odebrané pomocí kličky nebo pipety z povrchového menisku některého z běžně používaných flotačních roztoků o měrné hmotnosti $1,2-1,25 \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$ po centrifugaci na podložním sklu při zvětšení mikroskopu 1000krát.
2. Vzhledem k obtížím při vyšetřování některých vzorků výkalů se změněnou konzistencí doporučuje se odběr supernatantu z povrchové blanky provádět s použitím vhodného flotačního roztoku s výše uvedenou měrnou hmotností bez centrifugace a až po 30 minutách.
3. Tento způsob detekce je vhodný zvláště v těch případech, kdy se vyšetřují vzorky exkrementů, které vytvářejí po flotaci (bez nebo po centrifugaci) tzv. „zátku“, a rovněž tehdy, jestliže se zjišťuje kvantita, stupeň nákazy či intenzita výskytu oocyst kryptosporidií.

Postup při vyšetření je potom následující:

- a) 1–3 g tuhých nebo řídkých výkalů (3 ml výkalů vodnaté konzistence) se zředí s 10 ml (7 ml) pitné vody a zhomogenizuje ve třetí misce;
- b) přes čajové sítko se homogenát přecedí do kalibrované centrifugační zkušavky o objemu 10 ml, v jejíž horní polovině jsou naznačeny dvě rysky zabezpečující standardizaci rutinního vyšetřování vzorků;
- c) po 3–5 min centrifugace při otáčkách 2 500 za min se voda opatrně sleje a povrch sedimentu opláchne vodou tak, jak doporučuje Breza (1957);
- d) k sedimentu se až po okraj dolní vyznačené rysky na obvodu centrifugační zkušavky přidá vhodný flotační roztok a obsah řádně promíchá skleněnou tyčinkou;
- e) flotace probíhá buď 30 min bez centrifugace nebo stejným způsobem uvedeným v bodu c) této části;
- f) horní meniskus supernatantu (v případě vytvoření „zátky“ se vrchní vrstva opět opatrně promísí skleněnou tyčinkou a nechá ustát po dobu 5 min) se převrství opatrně vodou nebo fyziologickým roztokem až do úrovně horní rysky;
- g) skleněnou tyčinkou se tekutina mezi dvěma ryskami centrifugační zkušavky promíchává tak, aniž by se porušil vrchní meniskus flotačního roztoku. Přítomné oocysty kryptosporidií, jakož i jiné parazitární zárodky difundují do této části tekutiny;
- h) Pasteurovou pipetou se odeberou 2–3 kapky tekutiny a přenesou na podložní sklo s jamkami a do nich se přidají 1–2 kapky glycerínu. Potom se přiloží krycí sklíčko a vzorek se prohlíží pod mikroskopem při 400–1000násobném zvětšení. Pro kvantitativní stanovení počtu oocyst je možné obsah tekutiny přenést na vrchní sčítací plochu horní destičky UNIPOK.

Nejvhodnější způsob detekce oocyst *Cryptosporidium baileyi* a jejich kvantitativní stanovení (pomocí počítací komůrky UNIPOK) při kloakální, bursální a respirační formě nákazy u ptáků je metodika vyšetřování obsahu tekutiny z výplachů kloaky a dutiny zobáku (Pavlašek, 1987a, b) v nativním preparátu. Vyšetřují se 1–2 kapky samotné tekutiny nebo se k ní přidá stejné množství glycerínu tak, jak je uvedeno v poznámce bodu A. Exkrementy ptáků se mohou pochopitelně vyšetřovat stejným způsobem, jak je uvedeno v bodě B, avšak vzhledem k lokalizaci prvoka pokládáme tyto metody za zbytečně časově i materiálově náročnější a neefektivní.

Diagnostika kryptosporidiových nákaz zůstává aktuální i v současné době a stále s sebou přináší určité těžkosti a problémy při průkazu oocyst prvoka. Naše uvedené a osvědčené postupy a metody vycházejí i z biologie těchto protozoí. Pro detekci oocyst jsou skutečně velmi efektivní, jednoduché, rychlé (především metoda nativního vyšetření s použitím glycerínu) a finančně dostupné. Metoda vyšetřování vzorků trusu nemocných mláďat savců v období jejich mléčné výživy, kdy flotační roztok se převrstvuje vhodnou tekutinou a jejíž obsah se následně vyšetřuje, významně ulehčuje vlastní diagnostiku kryptosporidiových nákaz v relativně čistém zorném poli při mikroskopování. Doporučuje se využít laboratorních pomůcek (podložního skla s třemi jamkami, kalibrované centrifugační zkušavky a univerzální počítací komůrka — UNIPOK), které přípravu i vlastní vyšetření daného vzorku trusu velmi usnadňují a standardizují. Tyto laboratorní pomůcky dodává individuálně nebo v soupravě FIRMA FORING, Ondrouškova 4, 635 00 Brno.

Literatura

- BREZA, M: Niekoľko praktických poznatkov a námetov k helmintokoprologickej diagnostike. *Helmintológia*, 1, 1957, s. 57—63.
- PAVLÁSEK, I.: Studies on the life cycle of cryptosporidium coccidia in experimentally infected chickens. *Folia parazit.*, 34, 1987a, s. 193—197.
- PAVLÁSEK, I.: Rychlá metoda detekce oocyst kokcií rodu *Cryptosporidium* u kuřat. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987b, s. 509—510.

Adresa autora:

*Ing. Ivan Pavlásek, DrSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31,
370 05 České Budějovice*

Upozorňujeme čtenáře a zájemce o odbornou zemědělskou literaturu, že Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství ve spolupráci se zemědělským nakladatelstvím Brázda vydává

NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ

13. díl (písmeno Z)

Publikace je posledním dílem zemědělské encyklopedie, vyjde v rozsahu asi 700 stran, předpokládaná cena je 190 Kčs.

Objednávky na tuto publikaci vyřizuje Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, oddělení naučného slovníku a terminologie, Slezská 7, 120 56 Praha 2.



VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE

ADEKO, a. s., Vám nabízí

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

ADEKO, a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2
tel.: 25 83 42
fax: 20 72 29

Naši vážení zákazníci,

dovolujeme si touto cestou upozornit ty z Vás, kteří se s našimi výrobky doposud blíže neseznámili, že

Činnosti firmy

je tradičním výrobcem medicínské techniky, který se již úspěšně prezentoval i mimo tuzemský trh.

Dokážeme uspokojit nejen požadavky na dovybavení již zavedených pracovišť, ale i požadavky na nově zakládaná pracoviště

- všeobecného lékaře, stomatologa, gynekologa a dalších odborných lékařů
- centrální sterilizace nemocnic
- lékárenské služby
- veterinárního lékaře

a v neposlední řadě i pracovišť mimo klasickou medicínu

- laboratoří a ústavů

a rovněž provozoven

- kadeřnictví, kosmetiky, pedikúry a manikúry

Optimální výběr s ohledem k potřebám Vaší praxe získáte po volbě

05 [01.01.1994]

01.01.1994 [01.01.1994]

a na linkách

- | | |
|---------------|---|
| č. 47 | |
| př. Kevričová | — z našich výrobních oborů horkovzdušné sterilizace
v cenách od KČs, |
| č. 48 | |
| př. Kunertová | — parní sterilizace, destilačních přístrojů a vyvíječů páry,
v cenách od KČs, |
| č. 21 | |
| př. Žvátorová | — RTG techniky operační, dentální a ze štítu
v cenách od KČs, |
| č. 173 | |
| př. Kevričová | — kryochirurgie (vč. gyn.)
v cenách od KČs, |
| č. 215 | |
| př. Žvátorová | — z výrobků dentální techniky diagnózy, ultrazvuku
a elektrochirurgie dánské firmy
v cenách od KČs. |

Korespondence:

Cejl

Fax:

S úctou

JUDr. Jaroslav Kopeček
ředitel a. s.
se svými spolupracovníky

Rukopisy odevzdány k tisku 27. 3. 1992 — Podepsáno k tisku 24. 7. 1992

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Akademie zemědělských věd ČSFR — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, s. p., Ostrava 1, Novinářská 7 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1992

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá PNS-ÚED Praha, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.