

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

9-10

ROČNÍK 37 (LXV)
PRAHA
LÁŘÍ—ŘÍJEN 1992
CS 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 Rosál, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

DVOŘÁK R., HOFÍREK B., ZENDULKA I., HRADILOVÁ M., PŘIKRYLOVÁ J.: Vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na vybrané hematologické a klinickobiochemické ukazatele vnitřního prostředí u výkrmového skotu	481
JACKOVÁ A., PLEVA J., BARANOVÁ M., MAĽA P., SIKLENKA P.: Dynamika hladin methemoglobinu v krvi teliat v závislosti na množství přijatých dusičnanů a transrenální přestup dusičnanů	493
SKŘIVANOVÁ V., MACHAŇOVÁ L., SVOBODA T.: Vliv monensinu na užitek a vybrané biochemické a hematologické parametry krve telat	501
NAVRÁTIL S. +, KNOTEK Z., MAŇÁSKOVÁ M., MARTÍNEK J., ŠTEFAN M., SOUKUP T., SOUKUPOVÁ I.: Ověření použitelnosti přípravku Oestrophan inj. Společnost ovlivnění reprodukčních parametrů prasnic po odstavení selat	509
MOLNÁROVÁ M., ARENDARČIK J., MOLNÁR P.: Změny antiproteolytické aktivity krvetvorné plazmy a cervikálního hlenu po superovulačních stimulacích	517
JURAJDA V., HALOUZKA R.: Izolace a studium biologických vlastností neoncogenních kuřecích herpesvirů Marekovy nemoci. 1. Charakterizace <i>in vitro</i>	531
JURAJDA V., HALOUZKA R.: Izolace a studium biologických vlastností neoncogenních kuřecích herpesvirů Marekovy nemoci. 2. Charakterizace <i>in vivo</i>	535
SVOBODA J.: Sezónní dynamika výskytu parazitů trávicího ústrojí u kura domácího	543
DUŠINSKÝ R., SIMON M., UJHÁZYOVÁ J., POLÁKOVÁ K.: Využití monoklonálních protilátek proti lidským HLA II antigenům na detekci bovinných B lymfocytů a makrofágů	549
SMUTNÝ J., KRIVÁŇOVÁ M., ZELENÁK J., FEJEŠ J.: Hydrolyza celulózy enzymovým komplexem z trávicího šťavy slimáka záhradního (<i>Helix pomatia</i>)	560
BUKOVJAN K., BUKOVJANOVÁ E., FOJTÍK P., DVOŘÁK M., MATOUŠKOVÁ E.: Vybrané biogenní prvky v krevní plazmě zaječím zvířeti (<i>Lepus europaeus</i> Pall.)	561

CONTENTS

DVOŘÁK R., HOFÍREK B., ZENDULKA I., HRADILOVÁ M., PŘIKRYLOVÁ J.: The effect of sodium lye treated straw administration on some haematological and clinico-biochemical indicators of internal environment in beef cattle	490
JACKOVÁ A., PLEVA J., BARANOVÁ M., MAĽA P., SIKLENKA P.: Changes of methaemoglobin levels in the blood of calves in dependence on the ingested amount of nitrates and transrenal passage of nitrates	500
SKŘIVANOVÁ V., MACHAŇOVÁ L., SVOBODA T.: The influence of monensin on calf performance and selected biochemical and haematological parameters of blood	507
NAVRÁTIL S. +, KNOTEK Z., MAŇÁSKOVÁ M., MARTÍNEK J., ŠTEFAN M., SOUKUP T., SOUKUPOVÁ I.: Tests of applicability of the Oestrophan inj. Společnost preparation to affect reproductive parameters of sows after piglet weaning	515
MOLNÁROVÁ M., ARENDARČIK J., MOLNÁR P.: Changes in antiproteolytic activities of blood plasma and cervical mucus after superovulation stimulations	529
JURAJDA V., HALOUZKA R.: Isolation and study of biological characteristics of nononcogenic chicken herpesviruses of Marek's disease. Part I. <i>In vitro</i> characterization	534
JURAJDA V., HALOUZKA R.: Isolation and study of biological characteristics of nononcogenic chicken herpesviruses of Marek's disease. Part II. <i>In vivo</i> characterization	541
SVOBODA J.: Seasonal dynamics of the occurrence of gastrointestinal parasites in domestic fowl	547
DUŠINSKÝ R., SIMON M., UJHÁZYOVÁ J., POLÁKOVÁ K.: Use of monoclonal antibodies to human HLA II antigens for the detection of bovine B lymphocytes and macrophages	554
SMUTNÝ J., KRIVÁŇOVÁ M., ZELENÁK J., FEJEŠ J.: Hydrolysis of cellulose with an enzymatic complex from the digestive juice of a garden snail (<i>Helix pomatia</i>)	560
BUKOVJAN K., BUKOVJANOVÁ E., FOJTÍK P., DVOŘÁK M., MATOUŠKOVÁ E.: Some biogenic elements in blood plasma of hare (<i>Lepus europaeus</i> Pall.)	575

VLIV ZKRMOVÁNÍ SLÁMY OŠETŘENÉ LOUHEM SODNÝM NA VYBRANÉ HEMATOLOGICKÉ A KLINICKOBIOCHEMICKÉ UKAZATELE VNITŘNÍHO PROSTŘEDÍ U VÝKRMOVÉHO SKOTU

R. Dvořák, B. Hofírek, I. Zendulka, M. Hradilová, J. Přikrylová

DVOŘÁK, R. — HOFÍREK, B. — ZENDULKA, I. — HRADILOVÁ, M. — PŘIKRYLOVÁ J. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na vybrané hematologické a klinickobiochemické ukazatele vnitřního prostředí u výkrmového skotu*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 481—491.

U býků ve výkrmu byla experimentálně zkrmována sláma ošetřená louhem sodným. Pokusné skupině ($n=8$) byly po dobu jednoho roku zkrmovány pelety obsahující 67 % louhované slámy. V průběhu experimentu byly u zvířat obou skupin sledovány hladiny vybraných hematologických a klinickobiochemických ukazatelů — ER, Le, Hb, HMT, CB, urea, Na, K, Ca, Mg, P, Zn, Cu, beta-karoten, vitamín A, vitamín E, NEMK, celkové lipidy, triglyceridy, cholesterol a aktivity AST a ALT. U pokusné skupiny bylo zjištěno zvýšení počtu leukocytů a pokles obsahu beta-karotenu, vitamínu E a aktivity ALT. Signifikantně vyšší koncentrace byla zaznamenána u celkové bílkoviny. Zkrmování slámy ošetřené louhem sodným nepůsobilo negativně na zdravotní stav sledovaných zvířat.

výkrm skotu; sláma; louh sodný; ukazatele zdraví

Z netradičních krmiv využitelných přežvýkavci je největší pozornost věnována slámě a jiným lignocelulózovým odpadům. Použití slámy ošetřené louhem sodným ve výživě přežvýkavců má své odůvodnění i rizika. Aktuálním nebezpečím jsou poruchy acidobazické rovnováhy, zejména vznik alkalózy, případně poruchy vyvolané nadměrným příjmem sodíku. Ternrud (1984) uvádí, že při zkrmování louhované slámy byl příjem Na až 15krát vyšší než jeho potřeba, přičemž se obsah minerálií v zažívacím traktu duodena nezměnil, neboť přebytečný sodík byl resorbován již v bачoru a vyloučen močí. Vysoký přísun sodíku obvykle zvyšuje příjem vody a působí zvýšené vylučování moče, které může podporovat ztráty i jiných minerálií. Vysoký příjem louhu může zvyšovat exkreci Ca, K a Mg (Berger aj., 1980). Zvýšenou diurézu a vyšší koncentraci sodíku při zkrmování louhované slámy pozorovali také Ali aj. (1977). Acidobazickými poměry a minerálním profilem při použití louhované slámy se zabývali ve svých experimentech Wamberg aj. (1985). Nadbytek minerálních látek byl resorbován a následně vyloučen močí. U pokusných zvířat se hodnoty acidobazického a minerálního metabolismu pohybovaly v mezích referenčních hodnot. Mírný stupeň metabolické alkalózy bez dalších klinických projevů při zkrmování louhované

slámy popisují Cuthbert aj. (1978). Tawash aj. (1982) uvádějí nižší obsah močoviny v krvi jako odraz nižších hladin amoniaku v bachoru při zkrmování slámy ošetřené louhem sodným. Kreutz (1976) upozorňuje na nutnost zásobování skotu minerálními látkami a vitamíny, poněvadž při vysokém podílu slámy v krmných dávkách je dotace karotenu, P, Mn a Cu nedostatečná.

Citované literární údaje o možném negativním vlivu zkrmování louhované slámy na vnitřní prostředí zvířat nás vedly k experimentálnímu ověření. Sledováním vybraných hematologických a klinickobiochemických parametrů v krvi jsme navázali na předchozí práci, ve které byly sledovány změny v bachorové tekutině (Dvořák aj., 1988).

MATERIÁL A METODY

V průběhu jednoho roku jsme sledovali vliv dlouhodobého zkrmování slámy ošetřené louhem sodným na metabolický profil bachorové tekutiny, vybrané ukazatele vnitřního prostředí a hmotnostní přírůstky býků ve výkrmu. Do pokusu bylo zařazeno 16 býků, kříženců plemen české strakaté a ayrshirské, s počáteční hmotností 190–225 kg. Zvířata byla rozdělena systémem analogů na pokusnou a kontrolní skupinu po osm kusech. Pro obě skupiny byla sestavena energeticky srovnatelná krmná dávka podle ČSN 46 7070. K výpočtu obsahu živin v krmných dávkách byly použity laboratorní rozbor krmiv. U základních krmných dávek bylo připočteno 10 % potřeby na ztráty při krmení. Výživná hodnota krmných dávek je uvedena v tab. I.

Technologie louhování krmné slámy byla provedena podle následujícího postupu: naštipaná sláma (pšeničná a ječná) procházela přes cyklon na šnekový dopravník, na jehož začátku bylo instalováno čerpadlo s tryskou pro nástřik louhu sodného.

Ve vzdálenosti 1 m od trysky bylo do slámy dávkováno jadrné krmivo. Směs byla šnekovým dopravníkem dopravena do granulátoru, odtud na vůz, kde byla skladována 24 hodin a potom zkrmována. Vlastní louhování se dělalo nástřikem 25% roztoku louhu sodného s přidávkou močoviny v dávce 10–15 l roztoku na 100 kg slámy. V hotové tvarované směsi bylo obsaženo 67 % slámy, 30 % směsi HŽG, 3 % louhu a močoviny (z toho močoviny maximálně 1 %); pH granulí se pohybovalo mezi 8,5–9,5. Pokus probíhal 351 dnů.

V krvi pokusných i kontrolních zvířat byl stanoven hemoglobin, hematokrit, počet erytrocytů a leukocytů na analyzátoru Coulter Counter, model ZF 6 firmy Coulter Elektronik LTD. Transaminázy plazmy ALT (GPT), AST (GOT) a celková bílkovina plazmy byly stanoveny fotometricky pomocí testů fy Lachema. Beta-karoten plazmy byl stanoven fotometricky modifikovanou metodou podle Knoblocha (1956). Vitamín A a E v krevní plazmě byl stanoven metodou fluorescenční spektrofotometrie. Anorganický fosfor a močovina krevní plazmy byly určeny fotometricky pomocí souprav Bio-La—test fy Lachema. Obsah makroprvků a mikroprvků (Na, K, Ca, Mg, Cu, Zn) v krevní plazmě byl stanoven metodou AAS na přístroji Atomspek fy Hilger. Pro kalibraci bylo použito standardních roztoků pro AAS fy Harleco. Získané údaje byly statisticky vyhodnoceny na přístroji HP 10 fy Hewlett — Packard.

VÝSLEDKY

Klinickým vyšetřením v průběhu ani na závěr experimentu nebyly zjištěny změny zdravotního stavu zvířat pokusné i kontrolní skupiny. Výsledky dosažené vyhodnocením sledovaných parametrů jsou zpracovány v tab. II až IV. Jak ukazuje tab. II, byl při prvním kontrolním vyšetření zjištěn nižší počet erytrocytů pod dolní hranici referenčního rozmezí u pokusné i kontrolní skupiny. V závěru experimentu však došlo k úpravě na fyziologickou úroveň. Rozdíly mezi skupinami nebyly signifikantní. Konečné hodnoty koncentrace hemoglobinu byly mírně zvýšeny nad fyziologickou hladinu. Hodnoty HMT se v průběhu celého pokusu pohybovaly na dolní fyziologické hranici. U pokusné skupiny byl zjištěn vyšší počet leukocytů ve srovnání se zvířaty kontrolními, ale nepřekračující rámec fyziologického rozmezí.

Celoroční krmná dávka u pokusné skupiny s louhovanou slámou¹

Seno ²	1,0	S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
Tvarované krmivo s NaOH ³	9,2	7,93	533	3,31	2,15	44,6	28,2	98,1	11,9

Průměrný denní přírůstek 0,749 kg do 472 kg živé hmotnosti⁴Krmná dávka v zimním období — kontrolní skupina⁵

Seno ²	2,00 kg	S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
Siláž kukuřičná ⁶	14,00 kg	6,36	492	2,92	1,9	27,6	15,1	10,6	9,1
Krmná sláma ⁷	2,00 kg								
Směs MDB ⁸	0,70 kg								
Ječný šrot ⁹	0,60 kg								
Močovina ¹⁰	0,07 kg								

Průměrný denní přírůstek 0,734 kg do 350 kg živé hmotnosti¹¹Krmná dávka v letním období — kontrolní skupina¹²

Seno ²	1,0 kg	S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
Jetelotráva ¹³	27,0 kg	6,02	668	3,79	1,33	79,9	16,7	10,9	14,8
Krmná sláma ⁷	1,0 kg								
Ječný šrot ⁹	1,2 kg								

Průměrný denní přírůstek 0,734 kg do 472 kg živé hmotnosti¹⁴Norma pro průměrný přírůstek 0,734 kg do živé hmotnosti 350 kg¹⁵

S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
6,42	541	3,39	1,28	32,1	23,8	5,5	5,5

Norma pro průměrný přírůstek 0,734 kg do živé hmotnosti 472 kg¹⁶

S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
8,17	625	4,33	1,63	35,6	25,5	6,3	6,3

Norma pro průměrný přírůstek 0,749 kg do živé hmotnosti 472 kg¹⁷

S ¹⁸	SNL ¹⁹	ŠJ ²⁰	Vl ²¹	Ca	P	Na	Mg
8,34	638	4,42	1,67	36,3	27,5	6,9	6,9

¹ yearly feed ration of experimental group containing lye-treated straw, ² hay, ³ granular feed with NaOH, ⁴ average daily weight gain of 0.749 kg to 472 kg liveweight, ⁵ feed ration in winter season — control group, ⁶ maize silage, ⁷ fodder straw, ⁸ MDB mixture, ⁹ barley meal, ¹⁰ urea, ¹¹ average daily weight gain of 0.734 to 350 kg liveweight, ¹² feed ration in summer season — control group, ¹³ clover-grass mixture, ¹⁴ average daily weight gain of 0.734 kg to 472 kg liveweight, ¹⁵ norm for average weight gain of 0.734 kg to the liveweight of 350 kg, ¹⁶ norm for average weight gain of 0.734 kg to the liveweight of 472 kg, ¹⁷ norm for average weight gain of 0.749 kg to the liveweight of 472 kg, ¹⁸ dry matter, ¹⁹ digestible crude protein, ²⁰ starch unit, ²¹ fibre

V tab. III jsou uvedeny hodnoty sledovaných parametrů v plazmě pokusných i kontrolních zvířat. Signifikantní rozdíl byl zjištěn v aktivitě transaminázy ALT (GPT), obsahu beta-karotenu a hladinách vitamínu E. Pokusná skupina vykazovala nižší hodnoty než kontrolní, přičemž obsah vitamínu E zůstal v referenčním rozmezí. Hodnoty beta-karotenu byly sníženy pod referenční úroveň, tj. pod 5,58 $\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$.

II. Hodnoty sledovaných hematologických ukazatelů s označením průměru $\bar{x}$, směrodatné odchyly s , signifikance $x = P < 0,05$; P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina — The values of investigated haematological indicators and determination of the mean $\bar{x}$, standard deviation s , significance $x = P < 0.05$; P — experimental group, K — control group

Ukazatele ¹		Erythrocyty ⁴ [T · l ⁻¹]		Hemoglobin ⁵ [g · l ⁻¹]		Hematokrit ⁶ [l · l ⁻¹]		Leukocyty ⁷ [G · l ⁻¹]	
		P	K	P	K	P	K	P	K
Výchozí hodnoty ²	$\bar{x}$	4,65	4,98	129,3	148,0	0,23	0,26	13,4	11,6
	s	0,76	0,84	9,9	14,9	0,04	0,05	2,5	1,2
Konečné hodnoty ³	$\bar{x}$	5,33	5,56	148,0	145,7	0,27	0,29	9,9	8,3
	s	0,64	0,37	11,2	14,6	0,04	0,02	1,4	0,8

¹ indicators, ² starting values, ³ resultant values, ⁴ erythrocytes, ⁵ haemoglobin, ⁶ haematocrit, ⁷ leucocytes

III. Hodnoty sledovaných ukazatelů plazmy s označením průměru $\bar{x}$, směrodatné odchylky s , significance $x = P < 0,05$, $xx = P < 0,01$; P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina — The values of investigated plasma indicators and determination of the mean $\bar{x}$, standard deviation s , significance $x = P < 0,05$, $xx = P < 0,01$; P — experimental group, K — control group

Ukazatelé plazmy ¹		AST (GOT) [$\mu\text{kat} \cdot \text{l}^{-1}$]		ALT (GPT) [$\mu\text{kat} \cdot \text{l}^{-1}$]		Beta-karoten ⁴ [$\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]		Vitamín A [$\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]		Vitamín E [$\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1}$]		NEMK [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]	
		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
Výchozí hodnoty ²	$\bar{x}$ s	0,285 0,033	0,321 0,036	0,561 0,047	0,605 0,050	1,79 0,52	4,95 1,80	1,58 0,30	1,62 0,28	8,94 1,87	8,98 1,96	0,11 0,05	0,07 0,03
Konečné hodnoty ³	$\bar{x}$ s	0,421 0,050	0,440 0,025	0,710 0,121	0,868 0,085	4,15 1,48	11,09 2,83	1,72 0,26	1,76 0,20	9,06 3,34	13,75 2,46	0,17 0,03	0,16 0,03
		Celkové lipidy ⁵ [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]		Triglyceridy ⁶ [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]		Cholesterol [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]		Celková bílkovina ⁷ [$\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$]		Urea [$\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$]			
		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
Výchozí hodnoty ²	$\bar{x}$ s	1,36 0,22	1,33 0,22	0,30 0,11	0,51 0,14	2,67 0,41	2,50 0,54	59,8 3,8	62,9 8,5	4,44 0,48	3,00 0,72	xx	
Konečné hodnoty ³	$\bar{x}$ s	2,18 0,47	3,81 0,75	0,50 0,17	0,52 0,17	2,59 0,42	2,87 0,57	72,3 4,1	64,4 5,6	3,56 0,43	3,20 0,29	x	

¹ plasma indicators, ² starting values, ³ resultant values, ⁴ beta-carotene, ⁵ total lipids, ⁶ triglycerides, ⁷ total protein

IV. Hodnoty sledovaných ukazatelů minerálního profilu plazmy s označením průměru $\bar{x}$, směrodatné odchylky s , signifikance $x = P < 0,05$; P — pokusná skupina, K — kontrolní skupina — The values of investigated indicators of plasma mineral profile and determination of the mean $\bar{x}$, standard deviation s , significance $x = P < 0.05$; P — experimental group, K — control group

Ukazatele plazmy ¹		Na [mmol · l ⁻¹]		K [mmol · l ⁻¹]		Ca [mmol · l ⁻¹]		Mg [mmol · l ⁻¹]		P [mmol · l ⁻¹]		Zn [μmol · l ⁻¹]		Cu [μmol · l ⁻¹]	
		P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K	P	K
Výchozí	$\bar{x}$	146,30	145,80	5,38	5,71	2,71	2,88	0,93	1,14	2,67	2,89	15,76	17,06	18,37	17,58
hodnoty ²	s	1,80	2,30	0,44	0,43	0,25	0,29	0,05	0,03	0,26	0,16	2,31	5,01	5,80	1,17
Konečné	$\bar{x}$	141,90	145,40	5,53	5,48	2,34	2,37	0,81	1,04	2,23	2,21	25,17	28,34	21,23	20,02
hodnoty ³	s	3,70	2,50	0,23	0,62	0,18	0,10	0,02	0,07	0,09	0,09	8,66	6,87	2,73	3,10

For 1—3 see Tab. III

Vitamín A nevykazoval výraznější změny, rovněž u neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) nebyl zjištěn signifikantní rozdíl. U celkových lipidů byl na konci experimentu zjištěn signifikantní rozdíl mezi skupinou pokusnou a kontrolní. U pokusné skupiny se hladina celkových lipidů pohybovala na spodní hranici referenčního rozmezí.

U triglyceridů a cholesterolu v konečných hodnotách signifikantní rozdíl zaznamenán nebyl. U celkové bílkoviny byla zjištěna signifikance mezi pokusnou a kontrolní skupinou, nepřesahující však fyziologické rozmezí udávané pro výkrmový skot 60–80 g · l⁻¹. U močoviny plazmy byl zjištěn signifikantní rozdíl v počáteční fázi pokusu, kdy pokusná skupina vykazovala vyšší hodnoty.

V tab. IV jsou uvedeny koncentrace minerálních látek v krevní plazmě. V průběhu pokusu nedošlo k výrazným změnám minerálií, které by byly způsobeny zkrmováním louhované slámy. U pokusné skupiny byl zaznamenán paradoxně signifikantní pokles Na v krevní plazmě. Mikroprvky Zn a Cu vykazovaly spíše vzestupnou tendenci jak u pokusné, tak u kontrolní skupiny. Počáteční hodnoty obou mikroprvků byly spíše při dolní fyziologické hranici. V konečném hodnocení došlo ke zvýšení, přičemž u Cu hodnoty přesáhly horní fyziologickou mez, a to jak u pokusné, tak kontrolní skupiny. Mezi skupinami však signifikantní rozdíl zjištěn nebyl.

DISKUSE

Využití slámy ke krmným účelům u přežvýkavců může přispět k dosažení vyrovnanosti krmných bilancí a k vyšší produkci proteinu živočišného původu (Flachowsky, 1976). Protože vitamíny jsou ve slámě obsaženy jen v nepatrném množství, je nutné při sestavování krmných dávek s podílem slámy krýt jejich potřebu jinými komponenty (Kreutz, 1976).

Jelikož sláma neobsahuje prakticky žádný karoten, tedy ani vitamín A a jen málo vitamínu D, neobejdeme se obvykle při zkrmování většího podílu slámy bez vitamínominerálních přísad nebo vitamínových preparátů. V našem sledování jsme rovněž pozorovali nízké hodnoty beta-karotenu u pokusné skupiny.

Při podílu slámy 30–40 % v krmné dávce snižuje se obsah minerálií a stopových prvků, zejména P, Mn, Cu a částečně také Na (Kreutz, 1976). Soundara a Khan (1978) uvádějí, že při aplikaci louhu sodného došlo ke zvýšení hladin Ca a P v plazmě. V našem pokusu jsme tuto tendenci nepozorovali.

V živočišném organismu je Na nejdůležitějším kationem extracelulární tekutiny. Mezi hlavní homeostatické mechanismy řízení hladiny Na v organismu přežvýkavce náleží změny exkrece Na močí a potem (Lebeda aj., 1981). Sodík hraje v organismu důležitou úlohu v udržení izotonie, izohydrie vnitřního prostředí, v hospodaření vodou, účastní se udržování acidobazické rovnováhy vnitřního prostředí organismu a bachorového obsahu (Poutiainen, 1968).

Přežvýkavci mají schopnost tolerovat velmi vysoký příjem sodíku v krmné dávce, aniž by došlo k omezení příjmu krmiva. Za nevhodných podmínek však může dojít k narušení energetického metabolismu a snížení přírůstků (Míka, 1976). Cuthbert aj. (1978) zjistili, že zvířata s vyšším obsahem NaOH v potravě více pijí a častěji močí. Žádné

změny však nepozorovali ve výkalech. Autoři zjistili, že přebytek Na je téměř zcela vylučován v moči a jeho exkrece výkaly ani mlékem není zvýšena. Také Ali aj. (1977) předpokládají, že při vysokém příjmu NaOH se vylučuje přebytek bází zvýšenou diurézou a vyšší koncentrací Na v moči. Berger aj. (1980) potvrzují, že vysoký příjem sodíku obvykle zvyšuje příjem vody a vylučování moče a podporuje ztráty i jiných minerálií. Autoři také zkoumali, zda zvýšená rychlost pasáže krmiva v bachoru je zapříčiněna zvýšeným příjmem Na nebo je spojena s efektem samotného NaOH. Výsledky svědčí pro to, že se uplatňuje obojí a účinky se pravděpodobně sčítají. Normální hodnoty Na v krevní plazmě jsou uváděny v relativně širokém rozmezí. Lebeda aj. (1981) zjistili v rozporu s vyšší dotací Na v zimním období nižší koncentraci Na v plazmě než v letním období. V zimním období však pozorovali vyšší frekvenci hypernatriurií. Přebytek Na v krmných dávkách se neprojevuje zvýšením hladin Na v krevní plazmě. V našem experimentu jsme rovněž zaznamenali „paradoxně“ nižší hladinu Na v plazmě u pokusné skupiny krmené louhovanou slámou a rozdíl dosáhl significance ($P < 0,05$). Jako citlivý ukazatel rozdílné dotace sodíku v krmných dávkách se jeví koncentrace Na v moči (Gajdošík, 1980). Koncentrace Na v moči však nebyla u býků stanovována.

V hladinách ostatních minerálních prvků nebyly zjištěny změny a hodnoty se pohybovaly v rámci referenčního rozmezí udávaného Jagošem a Boudou (1981). K obdobným zjištěním dospěli v experimentu na jalovicích Köhlerová aj. (1986). Tawash aj. (1982) pozorovali při zkrmování slámy ošetřené louhem sodným zvýšení příjmu vody, ale také zvýšenou diurézu. Pokud byly současně zkrmovány koncentráty, rezidua louhu se neprojevila na zvýšení pH moče. Autoři také uvádějí snížení plazmatické urey u zvířat, která konzumovala slámu ošetřenou NaOH. Nižší hladina močoviny může být odrazem nižší hladiny amoniaku v bachorové tekutině v důsledku vyššího využití amoniaku pro bakteriální proteosyntézu. Ololage a Mowat (1975) zjistili pokles plazmatické urey a její exkrece močí v důsledku zvýšeného příjmu soli (NaCl). V našem experimentu jsme rovněž zaznamenali snížení plazmatické urey u pokusné skupiny oproti výchozím hodnotám. Naopak Köhlerová aj. (1986) zjišťovali vyšší hladiny močoviny v krevní plazmě jalovic, které přijímaly v krmné dávce 45, 80 a 114 g NaOH. Býci v našem experimentu přijímali 185 g NaOH na kus a den.

V rámci ukazatelů charakterizujících zdravotní stav jsme stanovovali aktivity enzymů AST a ALT. Aktivita AST se pohybovala u obou sledovaných skupin na konci experimentu v rámci referenčního rozmezí a rozdíl mezi skupinami nedosáhl significance. Pokud se týká ALT, byly aktivity u obou skupin na konci experimentu zvýšené a rozdíl dosáhl significance. Aktivita u pokusné skupiny však byla nižší než u kontrolních zvířat, a tudíž nelze zvýšení ALT přičítat vlivu tvarovaného krmiva s obsahem louhované slámy. Dosažené výsledky můžeme srovnat s údaji Köhlerové aj. (1986), kteří zjistili mírné zvýšení AST u pokusných skupin s přidavkem louhované slámy. Aktivity ALT se však pohybovaly v referenčním rozmezí.

Výše hladiny vitamínu A a beta-karotenu v krevní plazmě a tkáních skotu jsou závislé na přísunu v krmné dávce a kolísají v průběhu roku. Mezi množstvím beta-karotenu dodaného v krmivech a hladinou beta-

karotenu v krevní plazmě skotu existuje signifikantní kladná korelace (Lebeda aj., 1985). Obsah beta-karotenu v krmné dávce pokusné skupiny byl nízký, což se projevilo nízkými koncentracemi beta-karotenu v krevní plazmě býků pokusné skupiny, které poklesly pod úroveň referenčního rozmezí a rozdíl ve srovnání s kontrolní skupinou byl statisticky významný ($P < 0,01$). Nižší hladiny byly také zaznamenány u vitamínu E u pokusné skupiny a rozdíl dosáhl significance. Příčinou je rovněž nízký obsah vitamínu E v krmné dávce pokusných býků, která sestávala pouze z tvarovaného krmiva, složeného ze 67 % louhované slámy a 30 % směsi HŽG a přídatku 1 kg sena. Je evidentní, že uvedená krmná dávka dostatečný přísun vitamínů nezabezpečila. Kreutz (1976) v souladu s našimi nálezy upozorňuje, že při zkrmování vysokého podílu slámy je třeba věnovat zvýšenou pozornost zásobování minerálními látkami a vitamíny, poněvadž dotace, zejména beta-karotenu, P, Mn a Cu je za těchto podmínek nedostatečná. Z ukazatelů lipidového profilu jsme zjistili nižší koncentraci celkových lipidů u pokusné skupiny, kde rozdíl dosáhl ve srovnání s kontrolními zvířaty statistické významnosti.

Pokles celkových lipidů u pokusné skupiny může signalizovat nedostatek energie v krmné dávce, i když hladiny neesterifikovaných mastných kyselin nebyly zvýšené a rozdíl mezi pokusnou a kontrolní skupinou byl nepatrný.

Ze sledovaných ukazatelů je patrné, že v průběhu celoročního zkrmování louhované slámy nedošlo k výraznému přetížení homeostatických mechanismů. Po zhodnocení dosažených výsledků můžeme konstatovat, že při zkrmování slámy ošetřené louhem sodným ve výkrmu skotu při dodržení všech dalších požadavků na složení krmné dávky a krytí potřeby živin nedochází k negativnímu ovlivnění zdravotního stavu. Podle dlouhodobé prognózy Orskova (1985) z Rowettova výzkumného ústavu ve Skotsku lze předpokládat, že význam obilovin jako krmiva pro přežvýkavce bude klesat a využití slámy v návaznosti na nové zhodnocovací systémy bude vzrůstat.

Literatura

- ALI, C. S. — MASON, V. C. — WAAGEPETERSEN, J. W.: The voluntary intake of pelleted diets containing sodium hydroxid-treated wheat straw by sheep. *Z. Tierphysiol. Tierernähr. Futterm.* — Kde., 39, 1977, č. 4, s. 173—187.
- BERGER, L. L. — KLOPFENSTEIN, T. J. — BRITTON, R. A.: Effect of sodium hydroxide treatment on rate of passage and rate of ruminal fiber digestion. *J. Anim. Sci.*, 50, 1980, č. 4, s. 745—749.
- CUTHBERT, N. H. — THICKETT, W. S. — WILSON, P. N. — BRIGSTOCKE, T.: The use of sodium hydroxide, treated straw in rations for beef cattle. *Anim. Prod.*, 27, 1978, s. 161—169.
- DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — JÍZDNÝ, J. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M.: Vliv zkrmování slámy ošetřené louhem sodným býkům ve výkrmu na metabolický profil bacherové tekutiny, zdraví a přírůstky hmotnosti. *Veter. Med.*, 33, 1988, č. 10, s. 599 až 606.
- FLACHOWSKY, H.: Použití slámy jako tvarovaného krmiva. 1. vyd., Praha, SZN 1976, 244 s.
- GAJDOŠÍK, D.: Klinický význam kontroly stavu zásobování dojníc sodíkem vyšetřováním moči. *Veterinářství*, 30, 1980, č. 2, s. 67—69.
- JAGOŠ, P. — BOUDA, J.: Základní biochemické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. Metodická příručka VŠV Brno, 1981, 29 s.
- KNOBLOCH, P.: Fyzikálně chemické metody stanovení vitamínů. NČAV, Praha 1056, 458 s.

- KÖHLEROVÁ, J. — VESELÝ, P. — RUDOLFOVÁ, Š.: Změny vybraných biochemických ukazatelů krevního séra jalovic při zkrmování louhované slámy. *Živoč. Věr.*, 31, 1986, č. 3, s. 193—199.
- KREUTZ, E.: Úprava obilní slámy a její použití ke krmení přežvýkavců. Překlad z ÚVTIZ, 1976, s. 1—53 (pro služební potřebu).
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A.: Minerální výživa a její projevy v koncentraci makroprvků v krvi a moči dojníc. *Veterinární dietetika*, SVS — odd. vet. osvěty, 1981, č. 2, s. 1—77.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A. — KÜHNOVÁ, A. — MORAVCOVÁ, D. — ŠÍVAROVÁ, H.: Variabilita hodnot beta-karotenu krevní plazmy v průběhu čtyř let s rozdílnou délkou vegetačního období u dojníc v různé fázi reprodukčního cyklu a její využití k stanovení preventivně a ekonomicky adekvátního přídatku vitamínu A. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární, 1985, 27 s.
- MÍKA, V.: Chemická úprava obilní slámy louhováním. *Zeměd. Nov.* 25 (58), 1976, č. 42, s. 1—2.
- OLOLAGE, B. G. — MOWAT, D. N.: Influence of whole-plant barley reconstituted with sodium hydroxide on digestibility, rumen fluid and plasma metabolism of sheep. *J. Anim. Sci.*, 40, 1975, č. 2, s. 351—358.
- ORSKOV, E. R.: The role of cereal grain and straw in ruminant feeding. In: HILL, R. D. — MUNCK, L.: New approaches to research on cereal carbohydrates. Amsterdam, Elsevier 1985, s. 383—394.
- POUTIAINEN, E.: Factors influencing the flow of fluids, saliva and some cations through the reticulo-omasal orifice of cow. *Ann. Agric. Fenn.*, 7, 1968, s. 1.
- SOUNDARA, J. S. N. — KHAN, M. Y.: Effect of sodium hydroxide or lime treated wheat on the digestibility of nutrients. *Indian J. Anim. Sci.*, 48, 1978, No 9, s. 662—665.
- TAWASH, M. A. — DRENNAN, M. J. — LÉSTRANGE, J. L.: Sodium hydroxide treatment of straw. 2. Effect of straw treatment on its digestibility and on certain rumen fluid and blood parameters. *Ir. J. Agric.*, 21, 1982, s. 261—269.
- TERNRUD, I. E.: Inflydelsen af NaOH — behandlet halm på omsætningen af kulhydrater, kvælstof og mineralstoffer hos får. *Beretning*, København, Statens Husdyrbrugsforsøg 1984, 149 s.
- WAMBERG, S. — ENGEL, K. — STIGSEN, P.: Acid base balance in ruminating calves given sodium hydroxide-treated straw. *Brit. J. Nutr.*, 54, 1985, s. 655—667.

Došlo dne 22. 7. 1991

DVOŘÁK, R. — HOFÍREK, B. — ZENDULKA, I. — HRADILOVÁ, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. [University of Veterinary Medicine, Brno]: *The effect of sodium lye treated straw administration on some haematological and clinico-biochemical indicators of internal environment in beef cattle*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (9—10): 481—491.

Fattened bulls were fed experimentally sodium lye treated straw. An experimental group ($n=8$) was given pellets containing 67 % of lye-treated straw for a year period. The treatment consisted in the spraying of 25% sodium lye solution with urea addition at a dose of 10—15 l of solution per 100 kg straw. The prepared granular mixture contained 67 % straw, 30 % mixture for cattle fattening (HŽG), 3 % sodium lye and urea (maximally 1 % urea of this amount). The pH value of the granular mixture ranged from 8.5 to 9.5. These parameters were followed in both groups of animals during this experiment: some haematological and clinico-biochemical indicators — Er, Le, Hb, HMT, CB, urea, Na, K, Ca, Mg, P, Zn, Cu, beta-carotene, vitamin A, vitamin E, nonesterified fatty acids, total lipids, triglycerides, cholesterol, AST and ALT activities. A clinical examination during and at the end of experiment did not reveal any changes in the health state of animals either in the experimental or in the control group. Tabs. II, III, IV show the results obtained from detailed clinico-biochemical observation. As Tab. II shows, the animals of experimental group had higher counts of leucocytes, the increase being significant at the end of experiment. As to beta-carotene levels, vitamin E levels and ALT activities, the lower values were determined in the experimental group, which was fed the granular mixture containing sodium lye treated straw. On the other hand, higher concentrations were determined in total protein. The values of other investigated indicators did not document any changes indicating the effect on the health state of animals in either the experimental or the

control group. Tab. IV illustrates plasma mineral concentrations. No marked changes in mineral levels which would result from lye-treated straw administration were observed during the experiment. A paradoxical decrease in plasma mineral concentration was found in sodium. The average daily weight gain in the experimental group was 0.749 kg for the whole fattening period. It may be stated on the basis of clinical and clinico-biochemical observation that the administration of sodium lye treated straw to fattened cattle does not have negative effects on the health state of fattened cattle if it is provided for all other requirements for feed ration formulae and if requirements for nutrients are met.

cattle fattening; straw; sodium lye; health state indicators

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Rudolf Dvořák, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., MVDr. Ivo Zendulka, CSc., RNDr. Milada Hradilová, MVDr. Jaroslava Přikrylová, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 41 Brno

Upozorňujeme čtenáře a zájemce o odbornou zemědělskou literaturu, že Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství Praha 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 175 Kčs.

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

DYNAMIKA HLADÍN METHEMOGLOBÍNU V KRVÍ TELIAT V ZÁVISLOSTI NA MNOŽSTVE PRIJATÝCH DUSIČNANOV A TRANSRENÁLNY PRESTUP DUSIČNANOV

A. Jacková, J. Pleva, M. Baranová, P. Maľa, P. Siklenka

JACKOVÁ, A. — PLEVA, J. — BARANOVÁ, M. — MALA, P. — SIKLENKA, P. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice; Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice): *Dynamika hladín methemoglobínu v krvi teliat v závislosti na množstve prijatých dusičnanov a transrenálny prestup dusičnanov*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 493—500.

Sledovali sme dynamiku hladín methemoglobínu v krvi teliat na mliečnej výžive, v závislosti na množstve prijatých dusičnanov. V konkrétnych chovateľských podmienkach, v ktorých experiment prebiehal, sme nezaznamenali nadmerný prívod dusitanov a dusičnanov do organizmu teliat krmivom a vodou. Perorálnou aplikáciou KNO₃ vo forme vodného roztoku pokusnej skupine teliat sme imitovali možné podmienky praxe, keď hlavne napájacia voda, ale aj ďalšie krmivo obsahujú vyššie hladiny dusitanov a dusičnanov. Aplikovanú dávku dusičnanu draselného sme v týždenných intervaloch zvyšovali z 1 g na 2 g, 5 g až na 10 g na kus a deň. Pri hodnotení dynamiky methemoglobínu (Mthb) v krvi teliat pokusnej skupiny v 1. a 5. deň aplikácie 1 g KNO₃ sme nezaznamenali signifikantne významné hodnoty. V 1. a 5. deň aplikácie 2, 5 a 10 g KNO₃ na kus a deň sme registrovali signifikantný vzostup hladín Mthb v krvi po 2. a 3. hodine od aplikácie, s poklesom po 4. hodine. Aj maximálne hodnoty methemoglobínu v krvi pokusných teliat, zaznamenané po 3. hodine od aplikácie príslušnej dávky KNO₃, sa pohybovali v tolerancii referenčnej hodnoty. Pri sledovaní obsahu dusičnanov v moči v priebehu experimentu, t. j. pri perorálnej aplikácii 1, 2, 5 a 10 g KNO₃ maximálne hodnoty dusičnanov sme zistili vždy po 3. hodine od aplikácie. Vysoké hodnoty dusičnanov v moči teliat po aplikácii 10 g KNO₃ na kus a deň svedčia o dobrom transrenálnom prestepe iónov NO₃⁻ u teliat na mliečnej výžive.

teľatá; dusičnany; dusitany; kolostrum; Laktavit; mlieko; voda; methemoglobín; krv; transrenálny prestup; moč

Trvalá prítomnosť dusičnanov v ovzduší, vode, pôde a rastlinách je daná prirodzeným cyklom dusíka v biosfére. V posledných rokoch je sledovaný sústavný vzostup koncentrácií iónov NO₃⁻ v životnom prostredí (Saint-Blancat, 1980).

Príjmom krmiva a vody sa dusičnany stávajú súčasťou biochemických reakcií v organizme zvierat. Priebeh týchto reakcií významne ovplyvňujú anatomické a fyziologické rozdiely tráviaceho aparátu jednotlivých druhov hospodárskych zvierat.

U monogastrických zvierat sa dusičnany vylučujú z organizmu pre-

važne obličkami. Redukcia nitrátov sa v malej miere uskutočňuje aj v iných orgánoch, najmä v pečeni (Bartík a Rosíval, 1971).

U prežúvavcov s vyvinutou bachorovou činnosťou sú dusičnany redukované baktériami cez dusitany až na amoniak. Na tejto činnosti sa podieľajú hlavne *Vibrio succiogenes* a *Desulfovibrio desulfuricans*. Bachorové baktérie sú schopné v priebehu 2–3 hodín zredukovať až 65 mmol $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ bachorovej tekutiny na amoniak. Napriek tomu, časť dusitanov sa rezorbuje bachorovou stenou a zafarbuje detoxikačný aparát prežúvavcov. Ak koncentrácia dusičnanov presiahne hranicu 65 mmol $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$, začnú sa v bachore hromadiť dusitany, ktoré spôsobujú intoxikáciu zvierat (Bartoš, 1987). Toxicita nitritov spočíva v ich priamej reakcii s krvným farbivom hemoglobínom, pričom sa mení jeho ferro-forma Fe^{2+} na ferri-formu Fe^{3+} , tzv. methemoglobín, ktorý nie je schopný reverzibilnej oxygenácie. Jeho prítomnosť navyše ešte narušuje disociačnú krivku kyslíka zvyšného hemoglobínu, čo tiež sťažuje prenos kyslíka do tkanív (Bartík, 1968; Archer, 1982; Piskač a Kačmar, 1985; Oplištil, 1985).

U teliat na mliečnej výžive mikrobiálna redukcia neprebíha v takom rozsahu ako u dospelých prežúvavcov. Prevláda trávenie enzymatické. K intenzívnej činnosti predžalúdkov dochádza v súvislosti s ich rozvojom približne v 5.–6. týždni, čo je dané systémom kŕmenia, predovšetkým príjmom pevných krmív (Veselý, 1988).

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu sme zaradili 12 kusov teliat — býčkov plemena slovenské strakaté, počas trvania mliečnej výživy, z nich šesť kusov tvorilo pokusnú a šesť kontrolnú skupinu. Do experimentu boli teľatá zaradené na tretí deň po narodení, s priemernou hmotnosťou 40 kg.

Kŕmenie teliat pokusnej a kontrolnej skupiny bolo rovnaké. Do veku 5 dní boli všetky teľatá kŕmené kolostrom od vlastných matiek, potom mliečnou kŕmnom zmesou Laktavit. Od veku jedného mesiaca boli obidve skupiny teliat kŕmené striedavo Laktavitom a mliekom s prídavkom kyseliny mravčej. Napájaciu vodu mali teľatá *ad libitum*.

Na stanovenie dusičnanov vo vode, používanej na napájanie a k príprave mliečnej kŕmnej zmesi Laktavit, sme použili fotometrickú metódu, ktorú uvádza ČSN 83 0520, časť 24. Dusitany vo vode sme stanovovali podľa ČSN 83 0520, časť 23. Obsah dusičnanov a dusitanov v kolostre, Laktavite a v mlieku sme robili modifikovanou metódou IDF a ISO pre mlieko a mliečne výrobky, ktorú uvádzajú Cvak a i. (1985). Teľatám pokusnej skupiny sme perorálne aplikovali KNO_3 vo forme vodného roztoku, vo vzo-
stupných dávkach 1, 2, 5 a 10 g KNO_3 na kus a deň v týždenných intervaloch. Percento methemoglobínu (MtHb) v krvi sme stanovili pred aplikáciou príslušnej dávky dusičnanu, po 1., 2., 3. a 4. hodine od aplikácie, v 1. a 5. deň aplikácie príslušnej dávky, modifikovanou fotometrickou metódou podľa Homolky (1969). Krv sme odoberali z *v. jugularis* a spracovali bezprostredne po odbere.

V priebehu experimentu sme u teliat pokusnej a kontrolnej skupiny sledovali aj transrenálny prestup dusičnanov a dusitanov. Obsah dusičnanov a dusitanov v moči sme stanovili modifikovanou metódou IDF a ISO pre mlieko, ktorú uvádzajú Cvak a i. (1985). Moč bol uskladnený pri teplote 4 °C a spracovaný na ďalší deň po odbere. uskladnený pri teplote 4 °C a spracovaný na ďalší deň po odbere.

Výsledky jednotlivých analýz boli vyhodnotené osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus s grafickou tlačiarňou Alphacom 32, programom Biostat-d.

VÝSLEDKY

Stanovením obsahu dusitanov a dusičnanov v kolostre kráv — matiek teliat zaradených do experimentu, v sušenej mliečnej kŕmnej zmesi Laktavit, mlieku a vode, používanej k príprave Laktavitu a na napájanie

	n	NaNO_2 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]		NaNO_3 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	
		$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd
Kolostrum ¹	9	0,60	0,26	3,44	1,17
Laktavit ²	6	0,29	0,07	2,87	0,81
Mlieko ³	6	0,44	0,12	3,89	0,34
Voda ⁴	6	0	0	13,78	9,49

¹ colostrum, ² Laktavit, ³ milk, ⁴ water

II. Hodnoty MtHb v krvi teliat kontrolnej skupiny a hodnoty dusitanov a dusičnanov v moči teliat kontrolnej skupiny v 1., 10. a 20. deň pokusu — MtHb levels in the blood of calves of the control group and nitrite and nitrate levels in the urine of calves of the control group on days 1, 10 and 20 of the experiment

Deň pokusu ¹	n	MtHb [%]		NaNO_2 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]		NaNO_3 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]	
		$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd
1.	6	1,61	0,35	0,38	0,05	6,51	0,39
10.	6	1,64	0,39	0,38	0,06	6,54	0,53
20.	6	1,65	0,38	0,40	0,07	6,56	0,44

¹ day of experiment

(tab. I) sme zistili, že záťaž organizmu teliat nadmerným prívodom dusitanov a dusičnanov z krmiva a vody nehrozí.

Tab. II uvádza hodnoty methemoglobínu v krvi teliat kontrolnej skupiny v priebehu experimentu.

Pri hodnotení dynamiky MtHb v krvi teliat pokusnej skupiny v 1. a 5. deň aplikácie 2, 5 a 10 g KNO_3 na kus a deň sme zaznamenali signifikantný vzostup hladín MtHb po 2. a 3. hodine od aplikácie s poklesom po 4. hodine (tab. III). V 1. deň aplikácie dusičnanu bol výraznejší vzostup hladín methemoglobínu oproti 5. dňu.

V priebehu experimentu sme sledovali aj transrenálny prestup dusitanov a dusičnanov. Obsah dusitanov a dusičnanov v moči teliat kontrolnej skupiny prezentuje tab. II. Tab. IV a V uvádza hodnoty dusitanov a dusičnanov v moči pokusných teliat pred podaním príslušnej dávky dusičnanu, po 1., 2., 3., 4. hodine od podania.

Maximálnu hodnotu dosiahli hladiny dusitanov a dusičnanov v moči po 3. hodine od aplikácie príslušných dávok. Najvyššiu priemernú hodnotu dusičnanov v moči $941,40 \text{ mg } \text{NaNO}_3 \cdot \text{l}^{-1}$ sme zistili po 3. hodine pri aplikácii 10 g KNO_3 na kus a deň. Tieto vysoké hodnoty dusičnanov v moči svedčia o dobrom transrenálnom prestupe iónov NO_3^- .

III. Hodnoty MtHb v krvi teliat pokusnej skupiny v 1. a 5. deň aplikácie 1, 2, 5 a 10 g KNO₃ *per os*, pred aplikáciou pokusnej dávky, po 1., 2., 3. a 4. hodine od aplikácie — MtHb levels in the blood of calves of the experimental group on days 1 and 5 of the *per os* administration of 1, 2, 5 and 10 g KNO₃, before the administration of experimental dose, after the 1st, 2nd, 3rd and 4th hour since administration

Apliko- vaná dávka KNO ₃ ¹ [g]	Deň aplikácie príslušnej dávky KNO ₃ ²	n	MtHb [%]									
			0		1		2		3		4	
			$\bar{x}$	<i>sd</i>	$\bar{x}$	<i>sd</i>	$\bar{x}$	<i>sd</i>	$\bar{x}$	<i>sd</i>	$\bar{x}$	<i>sd</i>
1	1.	6	1,59	0,48	1,79 ^a	0,37	2,19	0,43	2,19 ^b	0,53	2,05 ^b	0,44
	5.	6	1,54	0,39	1,83	0,44	2,02 ^a	0,57	2,00 ^b	0,52	1,83 ^b	0,44
2	1.	6	1,61	0,52	2,10	0,47	2,53	0,34	2,60	0,30	2,32	0,38
	5.	6	1,59	0,56	1,94	0,46	2,41	0,39	2,50	0,40	2,28	0,26
5	1.	6	1,67	0,79	2,00	0,57	2,60	0,33	2,96	0,53	2,64	0,49
	5.	6	1,59	0,46	2,00	0,47	2,66	0,39	2,86 ^b	0,33	2,77 ^b	0,30
10	1.	6	1,74	0,45	2,37 ^a	0,45	3,24	0,56	3,60 ^b	0,62	3,10 ^b	0,64
	5.	6	1,75	0,47	2,28	0,38	2,97 ^a	0,53	3,13 ^b	0,40	2,94 ^b	0,53

Vysvětlivky — Explanatory notes:

a = štatistická významnosť rozdielov priemerov ($\bar{x}$) pri daných smerodajných odchýlkach (*sd*) na hladine $P < 0,05$ po 1. hodine v 1. deň aplikácie 1 g KNO₃ oproti 10 g KNO₃ na kus a deň, po 2. hodine v 5. deň aplikácie 1 g KNO₃ oproti 10 g KNO₃ na kus a deň; b = štatistická významnosť rozdielov priemerov ($\bar{x}$) pri daných smerodajných odchýlkach (*sd*) na hladine $P < 0,01$ po 3. a 4. hodine v 1. deň aplikácie 1 g KNO₃ na kus a deň oproti 10 g KNO₃, v 5. deň aplikácie 1 g KNO₃ na kus a deň oproti 5 g KNO₃ a oproti 10 g KNO₃ — a = statistical significance of differences of the means ($\bar{x}$) for the given standard deviations (*sd*) at a level $P < 0,05$ after the 1st hour on day 1 of the administration of 1 g KNO₃ against 10 g KNO₃ per head/day, after the 2nd hour on day 5 of the administration of 1 g KNO₃ against 10 g KNO₃ per head/day; b = statistical significance of differences of the means ($\bar{x}$) for the given standard deviations (*sd*) at a level $P < 0,01$ after the 3rd and 4th hour on day 1 of the administration of 1 g KNO₃ per head/day against 10 g KNO₃ on day 5 of the administration of 1 g KNO₃ per head/day against 5 g KNO₃ and against 10 g KNO₃

¹administration rate of KNO₃, ²day of administration of the respective KNO₃ rate

IV. Hodnoty NaNO_2 v moči pokusných teliat pri aplikácii 1, 2, 5 a 10 g KNO_3 *per os*, pred aplikáciou príslušnej dávky po 1., 2., 3., 4. hodine od aplikácie — NaNO_2 levels in the urine of experimental calves at *per os* administration of 1, 2, 5 and 10 g KNO_3 , before the administration of respective dose after the 1st, 2nd, 3rd and 4th hour since administration

Aplikovaná dávka KNO_3 ¹ [g]	n	NaNO_2 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]									
		0		1		2		3		4	
		$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd
1	6	0,38	0,03	0,52	0,08	1,88	0,54	2,90	0,56	2,23	0,48
2	6	0,44	0,08	0,48	0,08	2,02	0,55	2,98	0,31	2,81	0,29
5	6	0,47	0,09	0,87	0,28	2,70	0,71	3,20	0,76	2,76	0,49
10	6	0,47	0,11	1,13	0,63	5,62	1,36	5,95	1,96	5,65	1,38

For 1 see Tab III

V. Hodnoty NaNO_3 v moči pokusných teliat pri aplikácii 1, 2, 5 a 10 g KNO_3 *per os*, pred aplikáciou príslušnej dávky po 1., 2., 3., 4. hodine od aplikácie — NaNO_3 levels in the urine of experimental calves at *per os* administration of 1, 2, 5 and 10 g KNO_3 , before the administration of respective dose after the 1st, 2nd, 3rd and 4th hour since administration

Aplikovaná dávka KNO_3 ¹ [g]	n	NaNO_3 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$]									
		0		1		2		3		4	
		$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd	$\bar{x}$	sd
1	6	6,45	0,98	40,93	16,54	98,33	11,16	137,75	13,21	115,81	7,80
2	6	8,43	0,79	42,50	16,11	112,73	33,60	144,50	14,44	127,85	13,80
5	6	58,69	11,99	213,13	94,10	450,32	110,53	479,72	199,82	399,99	85,84
10	6	170,49	35,24	559,47	326,20	898,50	328,95	941,40	128,22	828,09	33,11

For 1 see Tab III

V konkrétnych chovateľských podmienkach, v ktorých experiment prebiehal, sme sledovali prívod dusitanov a dusičnanov do organizmu teliat počas mliečnej výživy.

Priemerný obsah dusičnanov v kolostre $3,44 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ je zhodný s výsledkami autorov Bouda a i. (1983). Autori sledovali súvislosti medzi obsahom NO_3^- v kolostre, obsahom NO_3^- v kŕmnej dávke a hladinou methemoglobínémie. V letnom období, keď u kráv zisťovali subklinické methemoglobínémie do 12 % z celkového hemoglobínu, nepresahoval obsah NO_3^- v kolostre $15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. V zimnom období, kedy methemoglobínémie boli v norme, obsah NO_3^- v kolostre bol nízky a nepresahoval $4 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Na rozdiel od našich výsledkov, Slanina a i. (1990) udávajú priemerný obsah dusičnanu sodného v kolostre iba $0,87 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a nulové hodnoty dusitanov.

Po skončení kolostrálnej výživy boli teľatá pokusnej i kontrolnej skupiny kŕmené mliečnou kŕmnou zmesou Laktavit. K príprave Laktavitu sa používala napájacia voda, ktorá spĺňala požiadavky ČSN 75 7111 pre pitnú vodu.

Obsah dusičnanov v mlieku, stanovený v priebehu experimentu, sa približuje k výsledkom viacerých autorov. Sebaugh a i. (1970) udávajú priemernú hodnotu dusičnanov v mlieku $4,3 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ mlieka. Šidlovská (1986) uvádza obsah dusičnanov v mlieku v rozmedzí $0,5\text{--}5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, obsah dusitanov v rozsahu $0,1\text{--}0,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Výsledky šetrenia dusičnanov v mlieku v Rakúsku publikujú Luf a Brandl (1986) s maximálnou hodnotou dusičnanov $4,59 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, s minimálnou nulovou hodnotou. Priemerný obsah NaNO_3 vo vzorkách mlieka od jednotlivých dojníc $3,94 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, u bazénových vzoriek mlieka $2,34 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ udávajú Jirásková a Žilková (1989). Dusitany vo vzorkách surového mlieka stanovili s priemernou hodnotou $0,039 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, maximálnou hodnotu $0,075 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ NaNO_2 . Pleva a i. (1990) uvádzajú priemerné hodnoty dusičnanov v surovom mlieku v zimnom období $3,73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, dusitanov $0,41 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. V období letného zeleného kŕmenia dosiahli priemerné hodnoty dusičnanov $2,63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a $0,24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ NaNO_2 .

Krmivo a napájacia voda nepredstavovali pre teľatá zaradené v pokuse veľkú záťaž organizmu dusičnanmi a dusitanmi. Perorálnou aplikáciou KNO_3 pokusnej skupine teliat sme imitovali možné podmienky praxe, keď hlavne napájacia voda, ale aj ďalšie krmivo obsahuje vyššie hladiny dusičnanov. Odozvu organizmu teliat na perorálne aplikovaný dusičnan draselný vo vzostupných dávkach sme posudzovali na základe dynamiky hladín methemoglobínu v krvi teliat. Piskač a Kačmár (1985) udávajú ako normálne hodnoty u prežúvavcov do 2,5 % MtHb z celkového hemoglobínu. Podľa autorov Lebeda a Přikrylová (1985) je tolerovateľná hladina methemoglobínu 5 % z celkového hemoglobínu. Maximálna hodnota MtHb v krvi pokusných teliat po 3. hodine od aplikácie 10 g KNO_3 je podľa týchto autorov pod úrovňou referenčnej hodnoty. Údaje autorov Bouda a i. (1983, 1986) o postupnom návyku na dusičnan potvrdili i naše experimenty. Zatiaľ čo títo autori v maximálnej dávke aplikovali 9 g NO_3^- na teľa a deň, naša dávka činila 10 g

nitratu na kus a uvedený čas bez prejavu klinických symptómov intoxikácie. Svrne konštatujeme, že ani methemoglobín nepresiahol referenčné hodnoty.

V priebehu pokusu sme sledovali aj transrenálny prestup dusičnanov. Maximálne hodnoty dusičnanov v moči teliat pokusnej skupiny sme zaznamenali po 3. hodine od aplikácie 10 g KNO₃, tak ako o tom referujú i Slanina a i. [1990]. Vysoké hodnoty dusičnanov v moči evidentne dokazujú dobrý transrenálny prestup iónov NO₃⁻ u teliat na mliečnej výžive.

Literatúra

- ARCHER, M. C.: Hazards of nitrate, nitrite and N-nitrososompounds. *Nutr. Toxicol*, 1, 1982, s. 327—381.
- BARTÍK, M.: Biochémia otráv domácich zvierat dusičnanmi a dusitanmi a základy chemickej diagnostiky. [Doktorská dizertácia.] Košice 1968. — Vysoká škola poľnohospodárska. Fakulta veterinárska.
- BARTÍK, M. — ROSÍVAL, I.: Dusičnany a močovina vo výžive zvierat. Bratislava, Príroda 1971.
- BARTOŠ, S.: Mikrobiologie a biochemie trávení v bachoru prežvýkavců, Praha, Academia 1987.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. — KLIMEŠ, J.: Problematika dusičnanů v etiopatogeneze onemocnění telat. In: Zbor. Ref. VI. celoštátnej konferencie Produkcia a zdravie teliat v priemyselných podmienkach chovu, Bratislava, ÚVIO, 1983, s. 52—61.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. — MUŽÍK, J. — ŠUPÁKOVÁ, D.: Origin and course of methemoglobinemia in calves. *Acta Veter.* [Brno], 55, 1986, č. 4, s. 273—283.
- CVAK, Z. — BARTULÍKOVÁ, M. — ČERNÝ, I.: Stanovení obsahu dusičnanů a dusitanů v mléce a mlékárenských výrobcích z hlediska mezinárodní normalizace. *Acta hyg. epidem. microbiol.* [Praha], 1985, č. 2, s. 24—33.
- HOMOLKA, J.: Klinické biochemické vyšetřovací metody s použitím mikro- a ultramikroanalýzy. Praha, SZN 1969, s. 91—94.
- JIRÁSKOVÁ, M. — ŽILKOVÁ, M.: Stanovení dusičnanů a dusitanů v mléce a mléčných výrobcích v letech 1985 a 1986. *Veterinářství*, 39, 1989, 12, s. 565.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J.: Observation on methemoglobinemia in dairy cows during four years. *Acta veter.*, 54, 1985, č. 3—4, s. 157—169.
- LUF, W. — BRANDL, E.: Die aufnahme von Nitrat und Nitrit bei Konsum von Milch und Milchprodukten. *Ernährung/Nutrition*, 10, 1986, č. 10, s. 683—688.
- OPLIŠTIL, M.: Dusičnany, dusitany a nitrosaminy. *Veterinářství*, 35, 1985, č. 7, s. 308 až 309.
- PISKAČ, A. — KAČMÁR, P.: Veterinární toxikologie. Praha, SZN 1985.
- PLEVA, J. — JACKOVÁ, A. — BARANOVÁ, M. — MALA, P. — SIKLENKA, P.: Vplyv dusičnanov a dusitanov na kvalitu mlieka. *Veterinářství*, 40, 1990, č. 11, s. 519—520.
- SAINT-BLANQUAT, G. de — FRITSCH, P.: Aspects toxicologiques et nutritionnels des nitrates et des nitrites. *Ann. Nutr. Alim.*, 34, 1980, s. 827—864.
- SEBAUGH, T. P. — LANE, A. G. — CAMPBELL, J. R.: Effects of two levels of nitrate and energy on lactating cows receiving urea. *J. anim. Sci.*, 31, 1970, s. 142—144.
- SLANINA, E. — SLIVKA, P. — STRUHÁRIKOVÁ, J.: Transmamárny prestup dusičnanov a dusitanov u prežúvavcov a úroveň methemoglobínémie v krvi mláďat a ich matiek. *Veter. Med.* [Praha], 35, 1990, č. 11, s. 647—656.
- ŠIDLOVSKAJA, V. P.: Soderžaniye nitratov i nitritov v moloke i suchich moločnyh produktach. *Moloč. Prom.*, 1986, č. 1, s. 29—31.
- VESELÝ, Z.: Výživa a krmení hospodářských zvířat. Praha, SZN 1988. ČSN 75 7111. Pitná voda.
- ČSN 83 0520, část 23. Fyzikálně chemický rozbor pitné vody, Stanovení dusitanů.
- ČSN 83 0520, část 24. Fyzikálně chemický rozbor pitné vody, Stanovení dusičnanů.

Došlo dňa 9. 11. 1991

JACKOVÁ, A. — PLEVA, J. — BARANOVÁ, M. — MALA, P. — SIKLENKA, P. [Institute of Experimental Veterinary Medicine Košice; University of Veterinary Medicine, Košice]: *Changes of methaemoglobin levels in the blood of calves in dependence on the ingested amount of nitrates and transrenal passage of nitrates*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 [9—10]: 493—500.

Changes of methaemoglobin levels were investigated in the blood of suckling calves. Transrenal passage of nitrates was determined in dependence on the ingested amount of nitrates. The experiments were conducted under defined husbandry conditions; no excessive nitrate and nitrite supplementation of the calves by feeds and water could be stated. Imitation of possible field conditions when mainly water, but feeds too, may contain higher nitrate and nitrite levels, was carried out by peroral administration of an aqueous solution of KNO_3 to calves. The administered dose was increased from one to 2, 5 and 10 g per animal and day, respectively, in weekly intervals. MtHb determination in the blood of experimental calves on day 1 and 5 of the administration of 1 g KNO_3 revealed no significant values. On day 1 and 5 of the administration of 2, 5 and 10 g KNO_3 per animal and day, respectively, a significant increase of MtHb levels in the blood of calves was observed 2 and 3 hours after administration, followed by a decrease 4 hours after administration. The maximum values of MtHb in the blood of experimental calves, observed 3 hours following application of the

respective KNO_3 dose, were within the tolerance limits of the reference values. In urine, 3 hours after the administration of 10 g of KNO_3 a mean nitrate value of 941.40

Adresy autorov:

MVDr. Anna Jacková, CSc., MVDr. Pavol Siklenka, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 040 01 Košice
Prof. MVDr. Ján Pleva, DrSc., RNDr. Mária Baranová, MVDr. Pavel Maľa, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 040 01 Košice

Vliv monensinu na užitkovost a vybrané biochemické a hematologické parametry krve telat

V. Skřivanová, L. Machaňová, T. Svoboda

SKŘIVANOVÁ, V. — MACHAŇOVÁ, L. — SVOBODA, T. (Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves; Fyziologický ústav ČSAV, Praha): *Vliv monensinu na užitkovost a vybrané biochemické a hematologické parametry krve telat*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 501—507.

Cílem práce bylo zjistit vliv ionoforového antibiotika monensinu na užitkovost a vybrané fyziologické parametry u telat. Monensin je produkt mikrobu *Streptomyces cinnamonensis*. Má malý účinek proti grampozitivním mikrobům a proti gramnegativním, jako *Escherichia coli*, salmonely, pseudomonády a vibria je neúčinný. Pokus se uskutečnil ve fyziologické stáji VÚZV Uhřetěves. Osm býčků, kříženců plemene C a N ve věku 3 týdnů při zahájení experimentu bylo váženo a rozděleno do dvou skupin — kontrolní a pokusné. Telata byla individuálně ustájena a krmena okyseleným plnotučným mlékem (2 ml 85% kyseliny mravenčí na 1 l mléka) s volným přístupem k jaderné směsi ČOT, senu a vodě. Telata dostávala 3 l plnotučného mléka dvakrát denně do 8 týdnů věku. Telata pokusné skupiny dostávala monensin perorálně v množství 0,5 mg na kg živé hmotnosti a den. Výrobce monensinu byla Spofa Praha. Denně byla měřena spotřeba všech krmiv a telata byla vážena každý týden. Vzorky krve byly odbírány z *v. jugularis* před ranním krmením. Termíny odběrů byly před zahájením experimentu a v pěti a deseti týdnech věku. Telata ze skupiny s monensinem měla nesignifikantně vyšší přírůstky (+ 4,4 %) než telata ze skupiny kontrolní. V porovnání s kontrolní skupinou lze usoudit, že sérový cholesterol a vápník byly u monensinem krmených telat zvýšeny, zatímco aktivita asparát aminotransferázy byla snížena. Monensin v 10. týdnu věku výrazně zvýšil počet leukocytů. Další efekt monensinu na jiné krevní parametry nebyl zjištěn, ačkoliv některé z nich se občas lišily mezi oběma skupinami.

tele; výživa; monensin; biochemie; hematologie

Od 70. let se datuje plošné používání ionoforů v krmných dávkách převýkavců. Největší rozšíření dosud zaznamenal monensin (Rumsey, 1984), v poslední době se však začínají uplatňovat i další ionofory jako lasalocid, tetronasin, narasin, lysocellin a laidlomycin (Šimůnek aj., 1990). Ionofory ve většině případů zlepšují účinnost využití krmiv, často snížením jejich příjmu, zatímco rychlost růstu je neovlivněna nebo nepatrně zvýšena (Rumsey, 1984). Největšího uplatnění ionofory dosáhly u výkrmového skotu, ale byly rovněž použity v pastevním chovu jalovic a ovcí.

Na základě zjištění (Levy aj., 1979), že býčci ve věku 3—6 měsíců dosáhli signifikantně vyšších přírůstků hmotnosti po obohacení diety monensinem provedli Ilan aj. (1981) podrobnou studii na mladších

telatech. Využili přitom výsledky autorů Calhoun aj. (1979) na jehňatech, podle nichž se účinky monensinu zvyšovaly při použití vysokoobjemové diety.

V experimentu na 56 telatech ověřovali Ben Asher aj. (1982) výše uvedené výsledky v provozních podmínkách, ale pouze s komerčním starterem. Telata byla odstavena přibližně v 60 dnech věku (věk při zahájení + 52 dní konzumace mléčné náhražky na farmě) a za tuto dobu spotřebovala 25 kg mléčné náhražky. Monensin v dávce $750 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti byl v období mléčné výživy míchán v mléčné náhražce, po odstavu byl ve formě premixu přidáván do starteru v dávce $35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ celkové krmné dávky na bázi sušiny podle průměrné živé hmotnosti; ve druhém období experimentu konzumovala telata $860 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ živé hmotnosti. Přírůstky živé hmotnosti činily v prvním období (52 dní) $0,758 \text{ kg}$ u kontrolní skupiny a $0,848 \text{ kg}$ u skupiny s monensinem. Rozdíl byl statisticky významný ($P < 0,01$). Ve druhém období (dalších 42 dní) byly přírůstky $1,145 \text{ kg}$ u kontrolní a $1,143 \text{ kg}$ u pokusné skupiny. Měření příjmu krmiva ukázalo, že v prvních 52 dnech konzumovala pokusná telata více sušiny než kontrolní, ale v následujících 42 dnech opět méně sušiny, ovšem bez redukce přírůstků. To se liší od předchozích výsledků autorů Ilan aj. (1981), kdy telata s monensinem obohacenou dietou přibývala rychleji v obou sledovaných obdobích experimentů.

V experimentu se 140 telaty (ve věku 7 dní) sledovali Jack aj. (1986) vliv monensinu (30 mg na den) v koncentrátové dietě. Telata dostala celkem 25 kg mléčné náhražky během 42denního období s koncentrátem *ad libitum*. V prvním experimentu (skupiny po 15 telatech) byly přírůstky (1–84 dní pokusu) živé hmotnosti u kontrolních telat $0,670$ a u telat s monensinem $0,700 \text{ kg}$ za den. Ve druhém experimentu (20 telat ve skupině) byly v období 1–84 dní přírůstky živé hmotnosti $0,680$ u kontrol a $0,710 \text{ kg}$ u telat s monensinem. Koncentrace NH_3 v bachorové tekutině u kontrolních telat v 63. dni činila $130 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ u kontrolních telat a $101 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ u pokusných; molární poměr acetát : propionát byl $1,3$ u kontrol a $1,1$ u monensinu.

Předmětem této studie bylo rozšířit znalost o účincích monensinu u telat. Sledovali jsme jeho vliv na užitkovost, hematologické a biochemické parametry.

MATERIÁL A METODY

Pokus se uskutečnil ve fyziologické stáji VŮŽV v Uhřetěvsi. Osm býčků, kříženců plemene C a N ve věku 3 týdnů při zahájení experimentu bylo váženo a rozděleno do dvou skupin — kontrolní a pokusné. Telata byla individuálně ustájena a krmena okyseleným plnotučným mlékem (2 ml 85% kyseliny mravenčí na 1 l mléka) s volným přístupem k jadrné směsi ČOT, sena a vodě. Telata dostávala 3 l plnotučného mléka dvakrát denně do 8 týdnů věku. Telata pokusné skupiny dostávala monensin perorálně v množství $0,5 \text{ mg}$ na kg živé hmotnosti a den. Výrobce monensinu byla Spofa Praha. Denně byla měřena spotřeba všech krmiv a telata byla vážena každý týden. Vzorky krve byly odebírány z *v. jugularis* před ranním krmením. Termíny odběrů byly před zahájením experimentu a v pěti a deseti týdnech věku. Po odběru byly vzorky stabilizovány použitím buď Na-heparinu (pro stanovení hematokritu), nebo šťavelanu draselného a amonného (pro stanovení množství krevních elementů). Zbývající krev nebyla stabilizována a bylo z ní získáno sérum.

Vzorky krve byly analyzovány na celkové bílkoviny v séru, cholesterol, P, Ca, Fe, aktivity aminotransferáz ALT a AST, hematokrit a počty krevních elementů. Sérové

bílkoviny, cholesterol, fosfor a aminotransferázy byly stanoveny za použití komerčních Bio-La-testů (Lachema Brno). Vápník a železo v séru byly stanoveny atomovou absorpční spektrofotometrií (Model SP-9-800, Pye Unicam, Cambridge, Velká Británie).

Pro statistické vyhodnocení významnosti rozdílů byl použit *T*-test.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Průměrný denní přírůstek živé hmotnosti telat v období mléčné výživy (tab. I) činil u kontrolní skupiny 0,452 kg, u skupiny pokusné po aplikaci monensinu 0,471 kg (index 104,2).

V tab. II uvádíme průměrné spotřeby krmiv na 1 kg přírůstku živé hmotnosti. Spotřeba jadrné směsi ČOT na kg přírůstku byla u kontrolní skupiny 0,812 a u pokusné skupiny 0,676 (83,25 %). Spotřeba sena na kg přírůstku byla u skupiny kontrolní 0,360 a 0,397 u skupiny pokusné (110,28 %).

Výsledky vybraných hematologických a biochemických ukazatelů jsou uvedeny v tab. III—V.

I. Průměrné denní přírůstky živé hmotnosti telat po aplikaci monensinu v období mléčné výživy v bilančním experimentu — Average daily live weight gains of calves after monensin administration in the milk feeding period in a metabolism trial

Ukazatel ¹	Skupina ²	
	kontrolní ³	pokusná ⁴
$\bar{x}$	0,452	0,471
$s\bar{x}$	0,043	0,010
Index [%]	100,00	104,20

¹ parameter, ² group, ³ control, ⁴ experimental

II. Průměrné spotřeby krmiv na 1 kg přírůstku živé hmotnosti v bilančním experimentu — Average feed consumption rates per 1 kg live weight gain in a metabolism trial

Krmivo ¹	Ukazatel ⁵	Skupina ⁶	
		kontrolní ⁷	pokusná ⁸
Plnotučné mléko ²	$\bar{x}$	9,18	9,18
	$s\bar{x}$	1,48	0,19
	index [%]	100,00	100,07
Jadrná směs ČOT ³	$\bar{x}$	0,81	0,68
	$s\bar{x}$	0,08	0,07
	index [%]	100,00	83,25
Seno ⁴	$\bar{x}$	0,36	0,40
	$s\bar{x}$	0,02	0,06
	index [%]	100,00	110,28

¹ feed, ² whole milk, ³ ČOT concentrate mixture, ⁴ hay, ⁵ parameter, ⁶ group, ⁷ control, ⁸ experimental

III. Hematologické parametry krve telat po aplikaci monensinu v období mléčné výživy v bilančním experimentu — Haematological parameters of blood in calves administered monensin in the milk feeding period in a metabolism trial

Věk [týdny] ¹	Skupina ²	Ukazatel ³	Hk [l · l ⁻¹]	Lc [G · l ⁻¹]	Er [T · l ⁻¹]
3	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,52 0,02	11,20 1,01	5,64 3,11
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,59 0,04	11,87 1,52	6,24 4,84
5	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,56 0,02	9,62 1,20	8,73 1,35
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,53 0,01	12,20 4,04	8,56 1,08
10	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,56 0,02	8,70 0,75	8,44 1,78
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	0,53 0,03	10,72 0,94	2,50 2,04

¹ age (weeks), ² group, ³ parameter, ⁴ control, ⁵ experimental

IV. Diferenciální rozpočet krve telat po aplikaci monensinu v období mléčné výživy v bilančním experimentu — Differential blood counting in calves administered monensin in the milk feeding period in a metabolism trial

Věk [týdny] ¹	Skupina ²	Ukazatel ³	Neutrofily ⁶					
			T	S	Eo	Ba	L	Mo
3	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	1,30 0,75	40,20 6,46	0,30 0,25	0,70 0,48	53,20 6,17	4,30 1,32
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	1,50 0,50	41,80 7,80	0,80 0,48	0,30 0,25	54,00 7,33	1,00 0,41
5	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	1,40 0,29	34,90 3,52	2,00 0,41	0,20 0,25	57,80 3,28	3,70 0,48
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	1,40 0,29	33,70 2,93	2,20 0,75	0,30 0,25	59,20 3,09	3,20 0,25
10	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	1,00 0,00	32,70 0,87	0,80 0,25	0,50 0,50	61,50 1,56	3,50 0,65
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ $s\bar{x}$	2,20 0,48	37,00 1,68	1,80 0,48	0,30 0,25	56,50 1,32	2,20 0,63

Tor 1—5 see Tab III; ⁶ neutrophils

V. Biochemické parametry a obsah minerálů v krevním séru telat po aplikaci monensinu v období mléčné výživy v bilančním experimentu — Biochemical parameters and mineral contents in the blood serum of calves after monensin administration in the milk feeding period in a metabolism trial

Věk [týdny] ¹	Skupina ²	Ukazatel ³	Celkové bílkoviny ⁶ [g · l ⁻¹]	Cholesterol [mmol · l ⁻¹]	ALT [μkat · l ⁻¹]	AST [μkat · l ⁻¹]	Ca [mmol · l ⁻¹]	P [mmol · l ⁻¹]	Fe [μmol · l ⁻¹]
3	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	50,90 1,63	1,56 0,14	0,05 0,00	0,27 0,01	2,62 0,04	2,94 0,08	×
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	51,20 1,85	1,47 0,36	0,04 0,01	0,27 0,02	2,65 0,10	2,97 0,14	×
5	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	56,13 1,09	2,72 0,31	0,09 0,01	0,39 0,03	2,48 0,08	2,99 0,10	17,0 0,0
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	52,28 0,33	3,79 0,22	0,13 0,02	0,30 0,04	2,78 0,10	2,82 0,04	14,0 1,0
10	kontrolní ⁴	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	60,80 2,05	2,16 0,36	0,21 0,05	0,40 0,11	2,62 0,05	2,89 0,23	7,0 2,0
	pokusná ⁵	$\bar{x}$ s $\bar{x}$	62,90 1,98	2,52 0,30	0,14 0,01	0,34 0,03	2,69 0,10	3,06 0,24	9,0 2,0

× — nebylo stanoveno — not determined

For 1—5 see Tab. III; ⁶ total proteins

Z výsledků hematologického vyšetření (tab. III a IV) je patrné, že hodnoty celkového počtu leukocytů jsou v průběhu celého pokusu v obou sledovaných skupinách na hranici, případně nad horní hranici fyziologického rozmezí (Bouda a Jagoš, 1984). Maximální počet $11,88 \pm 1,5 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$ byl naměřen v 3. týdnu ve skupině kontrolní a $12,20 \pm 0,4 \cdot 10^9 \cdot l^{-1}$ v 5. týdnu ve skupině pokusné. Vzestup naměřených hodnot je na úkor zvýšeného počtu neutrofilních leukocytů, jde tedy o neutrofili. Mezi skupinami není signifikantních rozdílů a hodnoty mají v průběhu pokusu celkově sestupnou tendenci. Současně s neutrofilii byly pozorovány i vyšší hematokritové hodnoty v obou sledovaných skupinách v průběhu celého pokusu, celkově však naměřené hodnoty měly sestupnou tendenci.

Biochemickým vyšetřením (tab. V) byly zjištěny nižší hodnoty celkové bílkoviny, cholesterolu a alaninaminotransferázy v krevním séru telat jak u skupiny pokusné, tak kontrolní v období mléčné výživy. Ke konci pokusu se hodnoty upravily k normě, výjimkou jsou zvýšené hodnoty ALT u skupiny kontrolní naměřené ve věku 10 týdnů. Naměřené hodnoty nedosáhly signifikantních rozdílů od předchozích odběrů i pokusné skupiny. Z minerálních látek sledovaných v krevním séru je zajímavý pokles sérového železa v obou sledovaných skupinách ke konci sledovaného období, zatímco hladiny vápníku a fosforu v krevním séru se pohybují v rozmezí referenčních hodnot.

Rozborem výsledků hematologického a biochemického vyšetření se ukázalo, že v průběhu bilančního pokusu došlo u telat obou sledovaných skupin k hemokoncentraci krve doprovázené neutrofilii jako následek průjmového onemocnění, které se objevilo na začátku pokusu. Ke konci pokusu došlo v obou sledovaných skupinách k mírnému poklesu sérového železa.

Telata ze skupiny s monensinem měla nesignifikantně vyšší přírůstky (+ 4,4 %) než telata ze skupiny kontrolní. V porovnání s kontrolní skupinou lze usoudit, že sérový cholesterol a vápník byly u monensinem krmených telat zvýšeny, zatímco aktivita aspartát aminotransferázy byla snížena. Monensin výrazně zvýšil počet leukocytů. Další efekt monensinu na jiné krevní parametry nebyl zjištěn, ačkoliv některé z nich se občas lišily mezi oběma skupinami.

Literatura

- BEN ASHER, A. — ILAN, D. — LEVY, M. — HOLZER, Z.: A note on the effect of monensin supplementation on growth and food utilization in young calves. *Anim. Prod.*, 35, 1982, s. 163—164.
- BOUDA, J. — JAGOŠ, P.: Biochemical and hematological reference values in calves and their significance for health control. *Acta Veter.* (Brno), 53, 1984, s. 137—142.
- CALHOUN, M. C. — CARROLL, L. J. — LIOINGSTON, C. W. Jr. — CHELTON, M.: Effect of dietary monensin on coccidial oocyst numbers, feedlot performance and carcass characteristic of lambs. *J. Anim. Sci.*, 49, 1979, s. 10—19.
- HOMOLKA, J.: Klinické a biochemické vyšetřovací metody. 3. vyd., Praha, Avicenum 1973.
- ILAN, D. — BEN-ASHER, A. — HOLZER, Z. — NITSAN, Z. — NIR, I. — LEVY, D.: Effect of monensin supplementation on growth feed digestibility and utilization in young calves. *Anim. Prod.*, 32, 1981, s. 125—132.
- JACK, E. M. E. — FALLON, R. J. — HARTE, F. J. — DRENNAN, M. J.: Effect of avoparcin, flavomycin and monensin sodium inclusion in a calf concentrate diet on calf performance. *Ir. J. Agric. Res.*, 25, 1986, s. 197—204.
- LEVY, D. — HOLZER, Z. — ILAN, D.: Monensin supplementation of young Israeli Friesian male cattle. *Anim. Prod.* 29, 1979, s. 305—310.

RUMSEY, T. S.: Monensin in cattle : Introduction. J. Anim. Sci., 58, 1984, s. 1461—1464.
SKŘIVANOVÁ, V.: Study of effects of a cold milk beverage on calf nutrition. 37th EAAP, Budapest 1986, s. 68—69.
ŠIMŮNEK, J. — MAROUNEK, M. — KALAČNÍK, G. I.: Použití ionoforů u skotu. In: Moderní metody stimulace užitečnosti hospodářských zvířat. Praha, 1990, s. 65—78.

Došlo dne 8. 7. 1991

SKŘIVANOVÁ, V. — MACHAŇOVÁ, L. — SVOBODA, T. (Research Institute of Animal Production, Praha-Uhřetěves; Physiological Institute of the Czechoslovak Academy of Sciences, Praha): *The influence of monensin on calf performance and selected biochemical and haematological parameters of blood*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 501—507.

The aim of this study was to find out the influence of monensin, a ionophore antibiotic, on calf performance and selected physiological parameters. Monensin is a product of *Streptomyces cinnamonensis*. It has effects on all Gram-negative microbes, such as *Escherichia coli*, salmonellas, pseudomonads and vibria. It has a small effect on Gram-positive microbes. At the beginning of the experiment eight young crossbred bulls (C×N) at the age of three weeks were weighed and divided into two groups, experimental and control ones. Calves were kept in individual boxes and fed acidified whole milk (2 ml of 85% formic acid per 1 litre of milk). They had a free access to concentrates (ČOT), hay and drinking water. The calves received 3 lt. of whole milk twice a day until the age of eight weeks. 0.5 mg of monensin per 1 kg live weight were served orally to calves of the experimental group every day. Monensin was made by the Spofa Corporation, Prague. Daily intake of feed was recorded and the calves were weighed once a week. Blood samples were taken from the jugular vein before the beginning of the experiment, and in the period from the fifth to the tenth week of age, always before morning feeding. The average daily live weight gain was 0.452 kg and 0.471 kg for the control and experimental group, respectively, during the milk feeding period, the index being 104.2 (Tab. I). Tab. II shows the average feed intake per 1 kg live weight gain. The concentrate consumption rate per 1 kg live weight gain was 0.812 for the control group and 0.676 for the experimental group (83.25 %). Hay consumption rate was 0.360 and 0.397 for the control and experimental group, respectively (110.28 %). The results of selected haematological and biochemical observations are shown in Tabs. III, IV and V. During the metabolism trials both groups showed blood haemoconcentration accompanied by neutrophilia as a result of dysentery. A slight decrease in serum iron levels was detected in both groups in the last days of the experiment. In comparison with the control group, the levels of serum cholesterol and calcium were higher in the experimental calves while the activity of aminotransferases was depressed. Calves on monensin had the significantly higher counts of leucocytes in the 10th week of age. Even though there were minor differences among the blood parameters, no further important effect of monensin on blood characteristics was recorded.

calf; nutrition; monensin; biochemistry; haematology

Adresy autorů:

Ing. Věra Skřivanová, CSc., RNDr. Lucie Machaňová, CSc., Výzkumný ústav živočišné výroby, 104 00 Praha-Uhřetěves
MVDr. Tomáš Svoboda, CSc., Fyziologický ústav ČSAV, Vídeňská 1983, 142 20 Praha 4-Krč

ZAHAJUJETE ŘEŠENÍ NOVÉHO VÝZKUMNÉHO ÚKOLU?

**Potom budete zcela jistě potřebovat nejnovější domácí
i zahraniční informace o stavu vědy a výzkumu v oblasti
kterou se zabýváte.**

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství,
oddělení informačních systémů Vám nabízí:**

Rešerše z mezinárodního informačního systému AGRIS. Báze dat AGRIS obsahuje téměř 2 000 000 záznamů z oblasti zemědělství, potravinářství a lesnictví s retrospektivou od roku 1975.

Retrospektivní rešerše jsou zpracovávány z kompaktních disků. Při formulaci dotazu mohou být kromě tematického zaměření zohledněny i další specifické požadavky uživatele (jazyk dokumentu, autor, země původu ap.). Doba dodání rešerše je jeden týden po obdržení objednávky. V případě zájmu se uživatel může zpracování zúčastnit osobně a upřesňovat v průběhu vyhledávání svůj dotaz. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

Průběžné rešerše jsou zpracovávány na základě trvalé objednávky a pečlivě doladěného dotazu. Na požádání uživatele je možné provádět v zadání potřebné změny. Rešerše jsou dodávány uživatelům jednou měsíčně v tištěné formě.

Rešerše ze zahraničníchází dat. Nabízíme zpracování retrospektivních rešerší z více než 500ází dat, uložených v databázových centrech v Evropě i v USA. Databázová centra zpřístupňují dokumentografické i faktografické informace, statistické a ekonomické údaje a informace o zahraničních firmách. Rešerše jsou dodávány tištěné nebo na disketách.

Veškeré informace Vám poskytne a Vaše objednávky přijme:

**Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství
oddělení informačních systémů**

**120 56 Praha 2, Slezská 7
(metro A, stanice nám. Míru)**

**tel.: 25 14 21, 25 74 75, 25 75 41/274, 276, 340
fax: 25 70 90**

OVĚŘENÍ POUŽITELNOSTI PŘÍPRAVKU OESTROPHAN INJ. SPOFA K OVLIVNĚNÍ REPRODUKČNÍCH PARAMETRŮ PRASNIC PO Odstavu SELAT

S. Navrátil †, Z. Knotek, M. Maňásková, J. Martínek, M. Štefan, T. Soukup, I. Soukupová

NAVRÁTIL, S.† — KNOTEK, Z. — MAŇÁSKOVÁ, M. — MARTÍNEK, J. — ŠTEFAN, M. — SOUKUP, T. — SOUKUPOVÁ, I. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Okresní veterinární správa Blansko, Hodonín, Plzeň-sever): *Ověření použitelnosti přípravku Oestrophan inj. Spofa k ovlivnění reprodukčních parametrů prasnic po odstavu selat*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9–10): 509–516.

U 456 prasnic ve srovnání s 434 kontrolami byla hodnocena účinnost analogu prostaglandinu F₂-alfa cloprostenolu v československém přípravku Oestrophan inj. Spofa k ovlivnění reprodukčních parametrů prasnic po odstavu selat. V pěti dílčích sledováních byl ověřován vliv jednorázové aplikace 175 µg a 500 µg cloprostenolu podaného *i. m.* v den odstavu, resp. první den po odstavu selat u multipar a primipar na dynamiku nástupu říje po odstavu selat, výskyt anestríe, průměrnou délku intervalu odstav — 1. inseminace, procento zabřezávání po 1. inseminaci a na parametry vrhu selat. Z docílených výsledků nebyl prokázán statisticky významný účinek ($P > 0,05$) aplikace Oestrophanu na hodnocené reprodukční ukazatele. Ani v souboru primipar s pozdějším nástupem říje a se zvýšeným výskytem anestríe nebyl zaznamenán signifikantní efekt ($P > 0,05$) aplikace Oestrophanu na sledovaná reprodukční kritéria. Z výsledků této práce lze vyvodit, že na rozdíl od literárních údajů o účinku některých jiných analogů prostaglandinu F₂-alfa nelze aplikaci Oestrophanu v hodnocené netradiční indikaci úspěšně použít k ovlivnění rychlejšího a koncentrovanějšího nástupu říje a k prevenci výskytu anestríe u prasnic po odstavu selat.

prostaglandin F₂-alfa; cloprostenol; poodstavový interval; říje; anestríe; zabřezávání; vrh selat

Při cílevědomém ovlivňování reprodukčních procesů se používají účinné exogenní látky, které zasahují do endokrinních regulačních mechanismů. Mezi tyto látky patří i skupina prostaglandinů, kterým je v posledních letech věnována mimořádná pozornost. Praktické uplatnění v reprodukci prasat našly prostaglandiny, jmenovitě prostaglandin F₂-alfa (PGF₂-alfa) především při synchronizaci porodů u prasnic.

Na rozdíl od některých jiných živočišných druhů neposkytly pokusy o využití PGF₂-alfa k indukci a synchronizaci říje u prasniček a prasnic spolehlivé výsledky (Kingston, 1982). Proto jsou zajímavé práce, popisující možnost praktického využití PGF₂-alfa k vyvolání říje, ovulace a následné koncepce u prasniček (Maffeo aj., 1977). Dále existují informace o úspěšném použití analogu PGF₂-alfa Alfaprostolu ke

zkrácení intervalu od odstavu selat do výskytu říje u primiparních a multiparních prasnic (Jöchle a Černe, 1983) a posléze zprávy o větší koncentraci nástupu říje v prvních dnech po odstavu selat u prasnic, kterým byl aplikován analog PGF₂-alfa cloprostenol (Abad Gavín aj., 1984).

Cílem naší práce bylo zhodnocení případné netradiční použitelnosti analogu PGF₂-alfa cloprostenolu v československém přípravku Oestrophan inj. Spofa k ovlivnění reprodukčních ukazatelů primiparních a multiparních prasnic po odstavu selat. Naše studie byla zaměřena na hodnocení vlivu dvou dávek Oestrophanu, aplikovaných v den odstavu, resp. první den po odstavu selat, na dynamiku nástupu říje, délku intervalu odstav — 1. inseminace, výskyt anestrií, procento zabřezávání po 1. inseminaci a na parametry vrhu selat.

MATERIÁL A METODY

Účinnost cloprostenolu v československém přípravku Oestrophan inj. Spofa k ovlivnění reprodukčních funkcí prasnic po odstavu selat byla hodnocena celkem u 456 multiparních a primiparních prasnic ve srovnání s 434 kontrolními zvířaty. Sledování bylo rozčleněno do pěti dílčích pozorování podle použité dávky, momentu aplikace přípravku a odděleným vyhodnocením docílených výsledků u primiparních a multiparních zvířat. Převaha sledování proběhla na kříženkách Bu × L s výjimkou posledního pokusu, který byl realizován u prasnic plemene přeštického. Nástup říje u sledovaných prasnic byl hodnocen dvakrát denně pomocí zkušebního kance.

U multipar byla uskutečněna celkem tři sledování (pokus 1—3). V prvním pozorování (pokus 1) bylo 158 pokusným multiparám aplikováno v den odstavu selat *i.m.* 175 µg cloprostenolu v 0,7 ml přípravku Oestrophan inj. Spofa a 145 kontrolním multiparám *i.m.* 0,7 ml fyziologického roztoku v přípravku Natrium chloratum — solutio isotonica, Spofa. V druhém pozorování (pokus 2) proběhla shodná medikace u 51 pokusných a 43 kontrolních multipar, avšak první den po odstavu selat. Ve třetím pozorování (pokus 3) bylo u 161 pokusných multipar první den po odstavu selat aplikováno *i.m.* 500 µg cloprostenolu ve 2 ml přípravku Oestrophanu inj. Spofa a u 171 kontrolních multipar *i.m.* 2 ml fyziologického roztoku v přípravku Natrium chloratum — solutio isotonica, Spofa.

Další sledování bylo uskutečněno v souboru primipar (pokus 4). První den po odstavu selat bylo 44 pokusným primiparám *i.m.* injikováno 500 µg cloprostenolu (2 ml přípravku Oestrophan inj. Spofa) a 33 kontrolním primiparám bylo *i.m.* podáno 2 ml fyziologického roztoku (Natrium chloratum — solutio isotonica, Spofa).

V posledním sledování (pokus 5) byl u 42 pokusných primipar hodnocen efekt *i.m.* aplikace 500 µg cloprostenolu (2 ml přípravku Oestrophan inj. Spofa) v první den po odstavu selat ve srovnání s *i.m.* aplikací 2 ml fyziologického roztoku (Natrium chloratum — solutio isotonica, Spofa) u 42 kontrolních primipar v chovu s delším průměrným poodstavovým intervalem a se zvýšeným výskytem anestríe.

Z reprodukčních kritérií byly v pokusných a kontrolních skupinách zvířat hodnoceny: dynamika nástupu říje do 5 dní, mezi 6. a 10. dnem a celkem do 10 dní po odstavu selat; výskyt anestríe vyjádřený procentem prasnic bez nástupu říje do 10 dní po odstavu selat, průměrná délka intervalu odstav — 1. inseminace prasnic s nástupem říje do 10 dní, procento zabřezávání po 1. inseminaci podle docílených porodů a posléze parametry velikosti vrhu selat.

Rozdíly hodnot reprodukčních ukazatelů pokusných a kontrolních skupin jednotlivých sledování byly hodnoceny z hlediska statistické významnosti pomocí *t*-testu, dále významností rozdílu dvou empirických četností a určením významnosti pomocí intervalu spolehlivosti pro teoretickou hodnotu četnosti znaku pracovními postupy, popsanými v práci autorů Venčikov a Venčikov (1977).

VÝSLEDKY

Nálezy docílené aplikací 175 µg účinné báze Oestrophanu v den odstavu (pokus 1) nebo první den po odstavu (pokus 2) a aplikací 500 µg účinné báze Oestrophanu první den po odstavu (pokus 3) u multipar ve

I. Nástup říje a fertilita u prasnic multipar ošetřených přípravkem Oestrophan inj. Spofa (175 μ g nebo 500 μ g účinné báze *i.m.*) v den odstavu, resp. první den po odstavu selat ve srovnání s kontrolami (fyziologický roztok) — Oestrus onset and fertility of multiparous sows treated with the Oestrophan inj. Spofa preparation (175 μ g or 500 μ g active ingredient *i.m.*) on the day of weaning, or on day 1 after piglet weaning in comparison with the control (physiological solution)

Sledovaný ukazatel ¹	Pokus 1 ¹³ (175 μ g v den odstavu) ¹⁶		Pokus 2 ¹⁴ (175 μ g první den po odstavu) ¹⁷		Pokus 3 ¹⁵ (500 μ g první den po odstavu) ¹⁸	
	Oestrophan	kontrola ¹⁹	Oestrophan	kontrola ¹⁹	Oestrophan	kontrola ¹⁹
Počet ošetřených multipar ²	158	145	51	43	161	171
Procento multipar v říji po odstavu: ³						
do 5 dní ⁴	43,04	42,76	41,18	44,19	52,80	54,39
od 6 do 10 dní ⁵	39,87	40,69	35,29	23,26	33,54	27,48
celkem do 10 dní ⁶	82,91	83,45	76,47	67,44	86,34	81,87
Procento anestrických multipar (bez nástupu říje do 10 dní) ⁷	17,09	16,55	23,53	32,56	13,66	18,13
Průměrný interval odstav — — 1. inseminace do 10 dní po odstavu (ve dnech) ⁸	5,82	5,96	5,62	5,28	5,6	5,40
Procento zabřezávání po 1. inseminaci ⁹	72,52	80,99	92,31	93,10	74,82	78,57
Velikost vrhu selat: ¹⁰						
celkový počet narozených selat na vrh ¹¹	9,45	9,91	nehodnoceno ²⁰	nehodnoceno ²⁰	9,39	9,52
počet živě narozených selat na vrh ¹²	8,73	9,35			8,43	8,64

Rozdíly hodnot sledovaných reprodukčních ukazatelů pokusných a kontrolních zvířat v jednotlivých pokusech nejsou statisticky významné ($P > 0,05$); platí to i pro tab. II a III — Differences in the values of target reproductive parameters of experimental and control animals in the various trials are not statistically significant ($P > 0.05$); applies to Tab. II and III

¹ target parameter, ² number of treated multiparous sows, ³ percentage of multiparous sows in oestrus after weaning, ⁴ within five days, ⁵ from six to 10 days, ⁶ total within 10 days, ⁷ percentage of anoestric multiparae (without oestrus onset within 10 days), ⁸ average weaning — 1st insemination interval within 10 days after weaning (in days), ⁹ conception rate after first insemination, ¹⁰ piglet litter size, ¹¹ total number of born piglets per litter, ¹² number of live-born piglets per litter, ¹³ trial 1, ¹⁴ trial 2, ¹⁵ trial 3, ¹⁶ 175 μ g on the day of weaning, ¹⁷ 175 μ g on day 1 after weaning, ¹⁸ 500 μ g on day 1 after weaning, ¹⁹ control, ²⁰ not evaluated

II. Nástup říje a fertilita u prasnic primipar ošetřených přípravkem Oestrophan inj. Spofa (500 μ g účinné báze *i. m.*) první den po odstavu selat ve srovnání s kontrolami (fyziologický roztok) — Oestrus onset and fertility of primiparous sows treated with the Oestrophan inj. Spofa preparation (500 μ g of active ingredient *i. m.*) on day 1 after piglet weaning in comparison with the control (physiological solution)

Sledovaný ukazatel ¹	Pokus 4 ¹³ (500 μ g první den po odstavu) ¹⁴	
	Oestrophan	kontrola ¹⁵
Počet ošetřených primipar ²	44	33
Procento primipar v říji po odstavu: ³		
do 5 dní ⁴	22,73	27,27
od 6 do 10 dní ⁵	47,73	42,43
celkem do 10 dní ⁶	70,46	69,70
Procento anestrických primipar (bez nástupu říje do 10 dní) ⁷	29,54	30,30
Průměrný interval odstav — 1. inseminace do dní po odstavu ve dnech ⁸	6,26	6,22
Procento zabřezávání po 1. inseminaci ⁹	58,06	78,26
Velikost vrhu selat:		
celkový počet narozených selat na vrh ¹¹	9,56	9,22
počet živě narozených selat na vrh ¹²	8,56	8,50

For 1—12 see Tab I; ¹³ trial 4, ¹⁴ 500 μ g on day 1 after weaning, ¹⁵ control

srovnání s kontrolními zvířaty shrnuje tab. I. Výsledky získané podáním 500 μ g účinné báze Oestrophanu první den po odstavu u primipar v porovnání s kontrolami (pokus 4) uvádí tab. II. Matematicko-statistickým zhodnocením získaných výsledků bylo zjištěno, že rozdíly hodnot sledovaných reprodukčních ukazatelů pokusných a kontrolních zvířat nejsou v žádném pokuse statisticky významné ($P > 0,05$).

Výsledky docílené aplikací 500 μ g účinné báze Oestrophanu den po odstavu v souboru primipar s pozdějším nástupem říje a se zvýšeným výskytem anestríe (pokus 5) předkládá tab. III. Ani v tomto sledování nebyl zjištěn významný rozdíl ($P > 0,05$) hodnot hodnocených reprodukčních parametrů pokusných a kontrolních zvířat.

Z docílených výsledků tedy vyplývá, že podání Oestrophanu u sledovaných prasnic v žádném pokuse neovlivnilo nástup říje po odstavu selat, výskyt anestríe, průměrnou délku poodstavového intervalu, zabřezávání po 1. inseminaci nebo velikost vrhu.

DISKUSE

V našich podmínkách bezesporu přispěla k rozšíření výzkumu prostaglandinů a jejich praktického použití v reprodukci skutečnost, že se Československo zařadilo do omezeného počtu států, které zvládly totální syntézu derivátu prostaglandinu F₂-alfa cloprostenolu. Proto jsme na

III. Nástup říje a fertilita u prasnic primipar ošetřených přípravkem Oestrophan inj. Spofa (500 μg účinné báze *i. m.*) první den po odstavu selat ve srovnání s kontrolami (fyziologický roztok) v chovu s delším poodstavovým intervalem a zvýšeným výskytem anestríe — Oestrus onset and fertility of primiparous sows treated with the Oestrophan inj. Spofa (500 μg active ingredient *i. m.*) on day 1 after piglet weaning in comparison with the control (physiological solution) on the farm with a longer post-weaning interval and higher frequency of anoestría

Sledovaný ukazatel ¹	Pokus 5 ¹³ (500 μg první den po odstavu) ¹⁴	
	Oestrophan	kontrola ¹⁵
Počet ošetřených primipar ²	42	42
Procento primipar v říji po odstavu: ³		
do 5 dní ⁴	0	0
od 6 do 10 dní ⁵	26,19	28,57
celkem do 10 dní ⁶	26,19	28,57
Procento anestrických primipar (bez nástupu říje do 10 dní) ⁷	73,81	71,43
Průměrný interval odstav — 1. inseminace do 10 dní po odstavu (ve dnech) ⁸	8,09	8,00
Procento zabřezávání po 1. inseminaci ⁹	100,00	83,33
Velikost vrhu selat: ¹⁰		
celkový počet narozených selat na vrh ¹¹	10,54	11,60
počet živě narozených selat na vrh ¹²	9,27	9,00

For 1—12 see Tab. I; ¹³ trial 5, ¹⁴ 500 μg on day 1 after weaning, ¹⁵ control

základě některých příznivých informací o úspěšném použití prostaglandinu F₂-alfa (Maffeo aj., 1977; Jöchle a Černe, 1983; Abad Gavín aj., 1984) považovali za vhodné ověřit možnost rozšíření indikační škály preparátu Oestrophan inj. Spofa o nové netradiční použití k ovlivnění reprodukčních ukazatelů prasnic po odstavu selat. Naše hodnocení bylo zaměřeno především na zjištění, zda lze aplikaci přípravku Oestrophan po odstavu selat docílit urychlení nástupu říje a snížení počtu anestrických prasnic při zachování dobré koncepční schopnosti bez negativního ovlivnění produkce selat.

Teoretické opodstatnění tohoto použití prostaglandinů spočívá v jejich zásahu do regulace endokrinních mechanismů zapojených v reprodukčních pochodech. U laboratorních zvířat bylo zjištěno, že prostaglandiny stimulují výdej luteinizačního hormonu (LH), a to pravděpodobně jejich primárním stimulačním efektem na výdej LH-releasing hormonu (LH—RH) na hypotalamické úrovni (Bygdeman, 1983). Schopnost PGF₂-alfa vyvolat výdej hypofyzárních hormonů včetně LH je, mimo jeho luteolytických účinků, předmětem pozornosti u řady živočišných druhů. Tento efekt PGF₂-alfa je znám u skotu, především u býků, kde výdej LH je spojen se vzrůstem sekrece testosteronu (Kiser aj., 1976). Vzestup sekrece testosteronu po injekci PGF₂-alfa je popsán i u králíků (Rei-

chard aj., 1978). Podobné gonadotropní efekty, rezultující vzrůstem hladiny testosteronu, byly zaznamenány u mladých býků i po aplikaci analogu $\text{PGF}_2\text{-alfa}$ Alfaprostolu a dále u anestrických klisen bez zvýšených hladin progesteronu, kde po podání Alfaprostolu byl pozorován vzestup FSH a LH, vývoj folikulů, nástup říje a koncepce (Reiner a Jöchle, 1981; Jöchle a Černe, 1983).

Klinickým efektům $\text{PGF}_2\text{-alfa}$ vázaným na gonadotropní sekreci u prasnic v časně pubertě nebo u prasnic s opožděnou pubertou, resp. u prasnic s poodstavovým anestrem nasvědčují výsledky práce, kterou zveřejnili Maffeo aj. (1977). Podobně i příznivé výsledky, docílené u primiparních a multiparních prasnic především na urychlení nástupu říje a prevenci anestru po odstavu selat po aplikaci Alfaprostolu, spočívají zřejmě ve stimulaci gonadotropní sekrece (Jöchle a Černe, 1983).

Z výsledků našeho sledování vyplývá, že jsme nemohli prokázat příznivý vliv ověřovaných dávek přípravku Oestrophan inj. Spofa aplikovaných v den odstavu nebo první den po odstavu selat u multipar a primipar na hodnocené reprodukční ukazatele. Naše nálezy s přípravkem Oestrophan neposkytly tedy zcela srovnatelné výsledky docílené jinými autory aplikací analogu $\text{PGF}_2\text{-alfa}$ Alfaprostolu, kdy jeho podání v den odstavu u primiparních a multiparních prasnic signifikantně zkrátilo průměrný interval do nástupu říje a zvýšilo procento zvířat s výskytem říje během 10 dní od odstavu (Jöchle a Černe, 1983). Uvedený efekt Alfaprostolu na zkrácení časového intervalu odstav selat — nástup říje a na snížení počtu anestrických prasnic byl ještě výraznější v letním období, kdy obvykle hodnoty obou uvedených reprodukčních parametrů jsou méně příznivé. V naší práci jsme však nemohli zaznamenat signifikantní efekt aplikace Oestrophanu na zmíněné ukazatele ani v souboru primipar s pozdějším nástupem říje a se zvýšeným výskytem anestríe. Ve srovnání s dalšími informacemi odborné literatury Abad Gavín aj. (1984) sice po aplikaci cloprostenolu také nenalezli směřodatné rozdíly ve výskytu procenta anestrických prasnic, avšak zjistili, že nástup říje u pokusných zvířat byl v porovnání s kontrolami koncentrován čtvrtý a pátý den po odstavu selat. Tento fenomén naše zkušenosti s Oestrophanem však nepotvrzují. Podobně jako v našem sledování však obě výše uvedené studie (Jöchle a Černe, 1983; Abad Gavín aj., 1984) nezjistily vliv podaného prostaglandinu na koncepční schopnost prasnic a na parametry vrhu selat v následujícím porodu.

Výchozí použitá dávka Oestrophanu v naší práci ($175 \mu\text{g}$ účinné báze cloprostenolu) je shodná s dávkováním cloprostenolu ve studii Abada Gavína aj. (1984). Tato dávka cloprostenolu je běžná k indukci porodu u prasnic a z tohoto aspektu je analogická s jinak těžko srovnatelnou dozifikací Alfaprostolu v práci, kterou uveřejnili Jöchle a Černe (1983). Při použití tohoto dávkování Oestrophanu, stejně jako i při našem hodnocení druhé podstatně vyšší použité dávky Oestrophanu ($500 \mu\text{g}$ účinné báze cloprostenolu), jsme nepozorovali po aplikaci přípravku nežádoucí vedlejší účinky.

V jednotlivých pokusech našeho sledování jsme do hodnocení průměrné délky intervalu odstav — 1. inseminace zahrnuli prasnice s nástupem říje do 10 dní od odstavu a výskyt anestríe jsme vyjadřovali

procentem prasníc s absencí říje do 10 dní po odstavu selat. Vycházíme přitom ze skutečnosti, že v našich podmínkách považujeme za dobrou situaci stav, kdy během deseti dní po odstavu je zapuštěno 80 %, resp. 90 % a více prasníc (Kozumplík a Kudláč, 1980). Podobně např. Benjaminsen a Karlberg (1981) uvádějí, že absence estru po více než deset dní po odstavu se často hodnotí jako reprodukční dysfunkce.

Závěrem diskuse lze shrnout, že naše poznatky nenasvědčují použitelnosti Oestrophanu u prasníc k ovlivnění dynamiky nástupu říje, koncentrace výskytu říje do prvních dní po odstavu, zkrácení průměrného po-odstavového intervalu a snížení počtu anestrických prasníc po odstavu selat. Z dosažených výsledků tedy vyplývá, že tuto netradiční aplikaci Oestrophanu nelze použít k intenzifikaci procesu reprodukce prasat.

Literatura

- ABAD GAVÍN, M. — CELADILLA, F. L. — ALVAREZ GARCÍA, J. — BARCELONA ULIED, J. A. — GARCÍA PÉREZ, M.: Niveles hormonales séricos (progesterona y cortisol) en el intervalo destete-celo, en la cerda, tras la administración de un análogo PGF $_{2\alpha}$ (cloprostenol) en el momento del parto y del destete. In: 10th Int. Congr. Anim. Reprod. AI, 1984, U. IL Urbana-Champaign, vol. 3, paper No 421, 4p.
- BENJAMINSEN, E. — KARLBERG, K.: Post weaning oestrus and luteal function in primiparous and pluriparous sows. Res. veter. Sci., 30, 1981, s. 318—322.
- BYGDEMAN, M.: Endocrine effects of prostaglandins in fertility regulation. In: BENAGIANO, G. — DICZFALUSY, E.: Comprehensive Endocrinology. Endocrine Mechanisms in Fertility Regulation. New York, Raven Press 1983, s. 125—139.
- JÖCHLE, W. — ČERNE, F.: Clinical evaluation of a new prostaglandin analog in pigs: 2. Prophylaxis and therapy of anestrus after weaning in sows and first litter gilts. Theriogenology, 19, 1983, č. 4, s. 481—489.
- KINGSTON, D. J.: Prostaglandins in swine reproduction. N. Z. veter. J., 30, 1982, s. 53—55.
- KISER, T. E. — HAFS, H. D. — OXENDER, W. D.: Increased blood LH and testosterone after administration of prostaglandin F $_{2\alpha}$ in bulls. Prostaglandins, 11, 1976, s. 545—553.
- KOZUMPLÍK, J. — KUDLÁČ, E.: Reprodukce prasat ve velkochovech. 1. vyd. Praha, SZN 1980. 296 s.
- MAFFEO, G. — REDAELLI, G. — SOCCI, A.: Practical and experimental studies on the use of prostaglandins F $_{2\alpha}$ in pigs. Folia veter. Latina, 7, 1977, s. 71—81.
- REICHARD, L. A. — HAFS, H. D. — HAYNES, N. B. — COLLIER, R. J. — KISER, T. E. — MCCARTHY, M. S.: Sperm output and serum testosterone in rabbits given prostaglandin F $_{2\alpha}$ or E $_2$. Prostaglandins, 16, 1978, č. 1, s. 135—143.
- REINER, U. R. — JÖCHLE, W.: Effectiveness of a novel prostaglandin analog in postpartum mares and mares with early season anestrus. Zuchthygiene, 16, 1981, s. 110—115.
- VENČIKOV, A. I. — VENČIKOV, V. A.: Základní metody statistického zpracování dat ve fyziologii. 1. vyd. Praha, Avicenum 1977. 160 s.

Došlo dne 11. 4. 1989

NAVRÁTIL, S. — KNOTEK, Z. — MAŇÁSKOVÁ, M. — MARTÍNEK, J. — ŠTEFAN, M. — SOUKUP, T. — SOUKUPOVÁ, I. (Veterinary Research Institute, Brno; District Veterinary Centre, Blansko; District Veterinary Centre, Plzeň-sever): *Tests of applicability of the Oestrophan inj. Spofa preparation to affect reproductive parameters of sows after piglet weaning*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 509—516.

Cloprostenol, a prostaglandin F $_{2\alpha}$ -analogue, used in the Czechoslovak preparation Oestrophan inj. Spofa was tested by a new nontraditional use. The effect of cloprostenol use on reproductive parameters of sows after piglet weaning was followed in a set of 456 experimental and 434 control sows. The effect of single intramuscular instillation of cloprostenol was tested in five partial observations: to multiparous sows

at a dose of 175 μg on the day of weaning (experimental group no. 1), on day 1 after weaning (group no. 2), 500 μg on day 1 after weaning (group no. 3), to primiparous sows at a dose of 500 μg on day 1 after weaning (group no. 4). The treatment used in group no. 4 was also applied to 42 primiparous sows kept on a farm with regular occurrence of post-weaning anoestrus of sows (experimental group no. 5). These parameters were evaluated: dynamics of oestrus onset within five, and/or ten, days after weaning, average length of the weaning — first insemination interval, conception rate after the first insemination in dependence on terminated deliveries and parameters of piglet litter. Cloprostenol application did not have a statistically significant effect on the evaluated reproductive parameters. The percentage of multiparous, and/or primiparous, sows in which the oestrus onset was not detected by the 10th day after weaning, did not show any large differences in the various experimental and control groups (17.09 vs. 16.55 %, 23.53 vs. 32.56 %, 13.66 vs. 18.13 %, 29.54 vs. 30.30 %; $P > 0.05$). On the farm with regular occurrence of post-weaning anoestrus there were 73.81 % of primiparous sows with oestrus onset after cloprostenol instillation and 71.43 % primiparous sows without treatment. Neither was the average interval from weaning to the first insemination shortened markedly during our observations (5.82 vs. 5.96 days, 5.62 vs. 5.28 days, 5.60 vs. 5.40 days, 6.26 vs. 6.22 days, 8.09 vs. 8.00 days; $P > 0.05$). The conception rate of sows did not increase, nor were the litter parameters improved. The results of these observations document that unlike the literary references describing the favourable effect of the use of other prostaglandin F $_{2\alpha}$ analogues, it is not possible to recommend this application of Oestrophan inj. Spofa in the evaluated nontraditional indication to control successfully the fast and concentrated onset of oestrus as a means of prevention of anoestrus occurrence in sows after piglet weaning.

prostaglandin F $_{2\alpha}$; cloprostenol; post-weaning interval; oestrus; anoestrus; conception; piglet litter

Adresy autorů:

MVDr. Stanislav Navrátil, CSc., MVDr. Zdeněk Knotek, ing. Milena Maňásková, Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno
MVDr. ing. Josef Martinek, Okresní veterinární správa, 678 11 Blansko
MVDr. Miloslav Štefan, Okresní veterinární správa, 695 11 Hodonín
MVDr. Tomáš Soukup, MVDr. Irena Soukupová, Okresní veterinární správa, 304 19 Plzeň-sever

ZMENY ANTIPROTEOLYTICKEJ AKTIVITY KRVNEJ PLAZMY A CERVIKÁLNEHO HLIENU PO SUPEROVULAČNÝCH STIMULÁCIÁCH

M. Molnárová, J. Arendarčík, P. Molnár

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁR, P. [Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice]: *Zmeny antiproteolytickej aktivity krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po superovulačných stimuláciách*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (9—10): 517—530.

Úlohy proteínov, peptidov, proteáz a inhibítorov proteáz pri modulovaní regulačných účinkov gonadotropínov na vývoj a dozrievanie ovariálnych folikulov nie sú v súčasnosti úplne známe. Odlišné reakcie oviec na superovulačné stimulácie v estrickom a anestrickom období sa prejavujú aj v zmenách antiproteolytických aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu. Ako modelovú proteázu sme použili trypsín a trypsín inhibičné aktivity (TIA) sme stanovovali zo spomalenia hydrolýzy N-alfa-tosyl-L-arginyl-p-nitroanilidu (TAPA) trypsínom. K pokusom sme použili 51 oviec plemena merino 2—3ročných. Priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu (CH) sa po 12dňovej aplikácii Agelínových tampónov (20 mg chlor-superlutínu na kus) v nasledujúcich 120 h v anestri zvyšovali, stimulácia 1000 IU PMSG ich znižovala. V estrickom období boli TIA CH vyššie ako v anestri a stimulácie po synchronizácii ich znižovali (obr. 7). Priemerné hodnoty TIA krvnej plazmy (KP) boli po Agelíne v anestri znížené, stimulácia v nasledujúcich 120 h toto zníženie prehlbila. V estrickom období boli TIA KP nižšie ako v anestri, Agelín a stimulácie ich menili nesignifikantne, len kombinácia 1000 IU PMSG + 250 µg PGF₂ alfa ich znižovala. Priemerné hodnoty frakcie nízkomolekulových (n) TIA KP, ktoré môžu ovplyvňovať vývoj ovariálnych folikulov, sa po stimuláciách v estru zvýšili a v anestri znížili. Hodnoty TIA KP a TIA CH v jednotlivých dňoch vykazovali maximá v čase očakávanej ruje a ovulácie.

ovce; antiproteolytické aktivity; krvná plazma; cervikálny hlien; stimulácie k superovuláciám

Proteolytické enzýmy sa zúčastňujú na celom rade životne dôležitých procesov (zrážanie krvi, prestavba tkanív). Kontrola ich aktivít je zabezpečovaná inhibítormi proteolytických enzýmov. Syntézy a sekrécie biologicky účinných látok ováriami sú hormonálne riadené. Používanie látok s hormonálnymi účinkami na ovplyvňovanie činnosti ovárií (synchronizácia ruje, stimulácie k superovuláciám), môže spôsobovať nerovnováhy na rôznych úrovniach. Bagdasarian a i. (1981) dokázali prítomnosť alfa-1 proteázového inhibítora v bunkách ováriálnej strómy a predpokladajú možnosť jeho syntézy týmito bunkami. Aj keď nie je úplne jasná funkcia antiproteáz na ovariálnej úrovni, predpokladá sa ich účasť pri proteolytických procesoch spojených s rastom a vývojom folikulov, ovuláciou a poovulačnými zmenami. Odlišné antitrypsínové

aktivity v genitálnych sekrétoch v priebehu ováriálneho cyklu vytvárajú spolu s ostatnými zmenami biochemických a fyziologických parametrov vhodné prostredie pre vývoj, uvoľnenie, putovanie a spojenie gamiet. Progestagenné prípravky používané na synchronizáciu ruje menia trypsín inhibičnú aktivitu (TIA) cervikálneho hlienu (Molnárová, 1975; Arendarčík a i., 1983) a menia TIA krvnej plazmy (Molnárová a i., 1988, 1989a, b; 1991a, b).

Obsah alfa-1 antitrypsínu vo folikulárnej tekutine môže charakterizovať fertilizačnú schopnosť oocyty (Imoedemhe a Shaw, 1986). Keďže sú známe individuálne reakcie oviec na podanie progestagenných látok a následnú stimuláciu PMSG v anestríckom a estríckom období (Hansel a Convey, 1983) a existujú domnienky, že aj iné parametre ako hormonálne môžu pomôcť vysvetliť niektoré odlišnosti, snažili sme sa štúdiom zmien TIA krvnej plazmy a cervikálneho hlienu zistiť odlišnosti po aplikácii Agelínových pošvových tampónov a stimuláciách rôznymi dávkami PMSG (750 a 1000 IU) v anestríckom období rôznymi hormonálnymi preparátmi, alebo ich kombináciami v estríckom období.

MATERIÁL A METÓDA

K pokusu sme použili 23 a 28 oviec tzv. zemského plemena Slovenské merino, 2–4-ročných, priemernej ž. h. 30–40 kg. V anestríckom (jún) aj estríckom (september) období sme na 11–12 dní vložili Agelínové vaginálne hubky (20 mg chlorsuperlutínu na kus). Po vybratí sme stimulovali ovária ako je uvedené v tab. I. Jednorázové podanie PMSG sme ukončili do 1 h od vybratia hubiek (9 h ráno). Podanie PMSG a SG sme ukončili v 9 a 16 h v deň vybratia hubiek, HCG a PGF₂ alfa druhý deň (24 h) o 8 a 18 hodín. FSH sme podávali 1.–3. deň o 8 a 16 hodín. Odbery krvi sme robili ráno do 8 h z v. jugularis na heparín, krvnú plazmu až do spracovania uložili pri tep-

I. Usporiadanie pokusov — Layout of trials

Skupina ¹	n	Agelín [dni]	PMSG [IU]	SG [IU]	HCG [IU]	PGF ₂ alfa [μg]	FSH [IU]	Obdobie ²
I _k	7	12	—	—	—	—	—	jún ³
II	8	12	750	—	—	—	—	jún ³
III	8	12	1 000	—	—	—	—	jún ³
Σ	23							
IV	5	11	—	—	—	—	—	september ⁴
V	4	11	2 × 500	—	—	—	—	september ⁴
VI	4	11	—	2 × 500	—	—	—	september ⁴
VII	4	11	2 × 500	—	2 × 500	—	—	september ⁴
VIII	4	11	2 × 500	—	—	2 × 125	—	september ⁴
IX	7	11	—	—	—	—	6 × 75	september ⁴
Σ	28							

Agelín — poševné hubky, 20 μg chlorsuperlutínu/ks, Galena, n. p.

PMSG — Antex Leo, Dánsko

SG — Sérový gonadotropín a. u. v. Bioveta, Ivanovice na Hané

HCG — Praedyn a. u. v. Léčivá, n. p., Praha

PGF₂ alfa — Oestrophan, Léčivá, n. p., Praha

FSH — Folistiman, SRN, Dresden

¹ group, ² period, ³ June, ⁴ September

lote -25°C . Cervikálny hlien sme odoberali na vatové tampóny a po zvážení eluovali 0,05 M tris — HCl pufrom, $\text{pH} = 8,1$. Trypsín inhibičnú aktivitu (TIA) sme stanovili zo spomalenia hydrolýzy syntetického nízkomolekulového substrátu N-alfa-tosyl-L-arginyln-p-nitroanilidu (L-TAPA) hovädzím trypsinom (Bartík a i., 1974; Molnárová, 1975). Frakciu nízkomolekulových TIA sme stanovovali po úprave vzoriek kyselínou chloristou zo supernatantnej frakcie po centrifugácii a neutralizácii (Haendle a i., 1970). TIA sme vyjadrovali v percentách inhibície na 100 μl krvnej plazmy a 100 μg cervikálneho hlienu, keď za 100 % aktivity sme považovali zmenu absorbančie pri 405 nm po 10 min inkubácii pri teplote 25°C $\Delta A_{405} = 1,0$. Štatistické vyhodnotenie sme robili Studentovým t -testom.

VÝSLEDKY

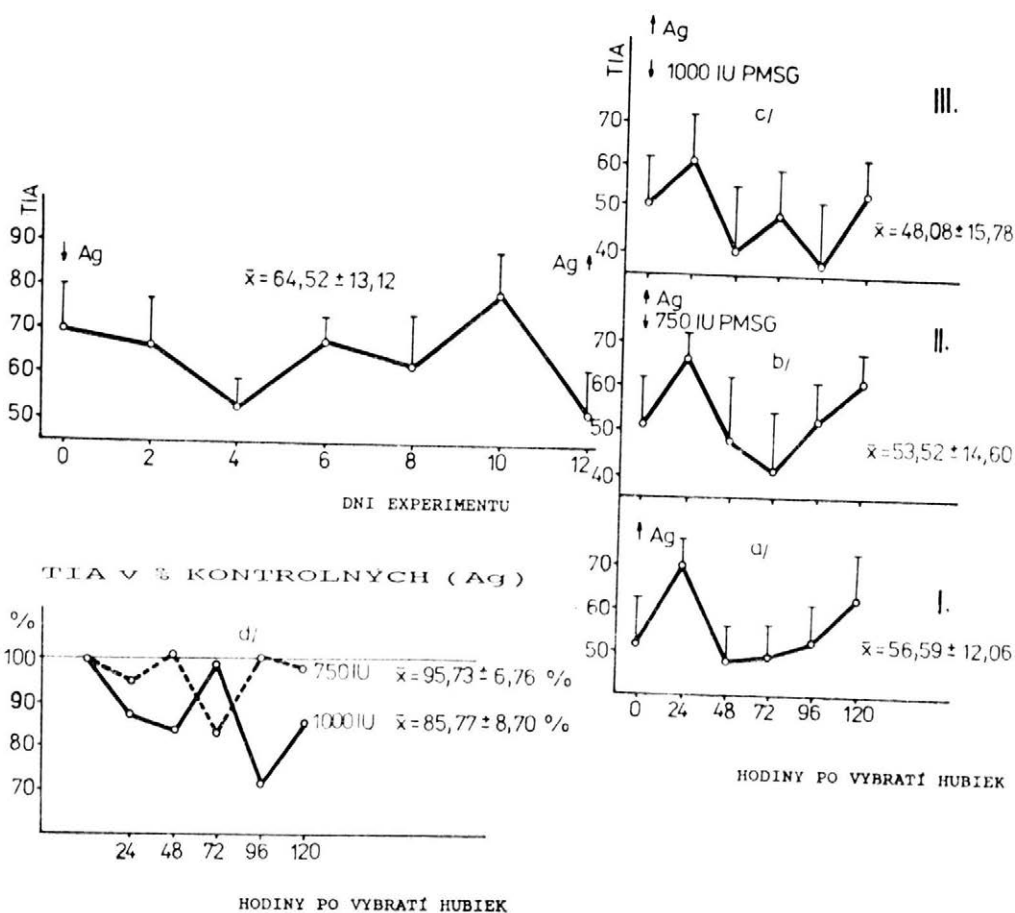
Zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) po aplikácii Agelínových pošvových tampónov sú vidieť na obr. 1—7. Na obr. 1 sú znázornené zmeny TIA krvnej plazmy (KP) v 2.—12. dni po vložení Agelínových tampónov v anestrii. Hodnoty v 12. dni boli nižšie ($P < 0,001$) oproti priemeru; v tomto dni po vybratí tampónov boli podané dávky 1000 a 750 IU PMSG. Za 24 h po vybratí hubiek sa hodnoty TIA KP maximálne zvýšili, podaním PMSG sa znížili (1000 IU — $P < 0,05$; 750 IU — ns). Priemerné hodnoty TIA KP počas 120 h po ošetrení boli nepriamo úmerné dávke PMSG; 1000 IU PMSG ich znížilo $P < 0,01$, 750 IU PMSG ns. Vyjadrenie zmien v percentách kontrolných hodnôt (nestimulované ovce) je v pravej spodnej časti obr. 1d.

Pri sledovaní zmien frakcie nízkomolekulových (n) TIA KP na obr. 2 vidíme klesajúcu tendenciu nTIA KP od dňa vloženia tampónov do ich vybratia v 12. dni; zníženie v 12. dni oproti priemeru bolo $P < 0,01$. Po vybratí tampónov sa hodnoty v priebehu 120 h zvýšili ($P < 0,01$), stimulácia PMSG ich znížila (1000 IU — $P < 0,01$; 750 IU — ns), oproti hodnotám po Agelíne. Podanie PMSG tiež urýchlilo výskyt maximálnych hodnôt s následným poklesom. Pri vyjadrení zmien v percentách kontrolných hodnôt vidíme zvýraznenie rozdielneho pôsobenia 750 a 1000 IU PMSG.

Zmeny TIA cervikálneho hlienu (CH) znázornené na obr. 3 vykazujú závislosť na veľkosti stimulačnej dávky. Maximálne hodnoty 24 h po vybratí tampónov sa znižujú v skupinách, ktorým bol podaný PMSG (1000 IU — $P < 0,001$; 750 IU — $P < 0,05$), podobne ako priemerné hodnoty TIA CH. Vyjadrenie hodnôt v percentách kontrolných zvýrazňuje tento pokles v závislosti od veľkosti dávky.

Po synchronizácii Agelínom v estrickom období sme u celkových TIA KP (obr. 4) zaznamenali nižšie priemerné hodnoty ako v anestrii ($P < 0,001$). Pokles v období od 5. dňa bol po vybratí tampónov v 11. dni vystriedaný zvyšovaním hodnôt, stimulácie pôsobili odlišné, ale nesignifikantné zmeny priemerných hodnôt TIA KP, len stimulácia 1000 IU PMSG + 250 μg PGF₂ ich znížila ($P < 0,02$).

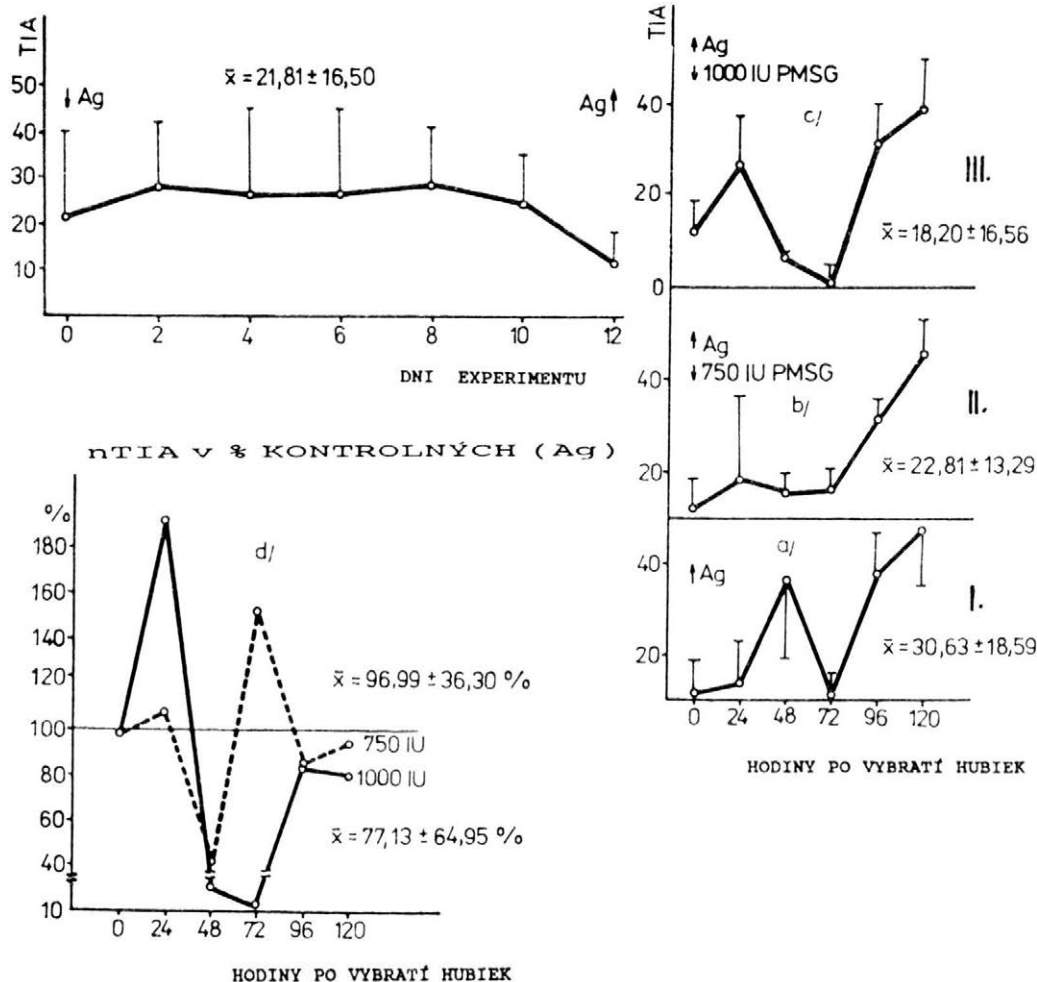
Frakcia nízkomolekulových (n) TIA KP (obr. 5) vykazovala po podaní Agelínu v estre pokles, ktorý bol po vybratí tampónov vystriedaný zvýšením v 24. hodine. Toto zvýšenie bolo zvýraznené dávkami stimulačných hormónov (1000 IU PMSG + 1000 IU HCG — $P < 0,05$; 1000 IU PMSG + 250 μg PGF₂ alfa — $P < 0,02$). Tiež priemerné hodnoty nTIA KP počas 120 h boli po vybratí tampónov a stimuláciách zvýšené ($P < 0,1$ až $P < 0,001$).



1. Celková trypsin inhibičná aktivita (TIA) krvnej plazmy (KP) oviec v anestrickom období počas a po 12dňovej instilácii Agelinových poševných hubiek (20 mg chlór-superlutínu na kus); ↓ vkladanie, ↑ vyberanie a stimulácie 1000 IU a 750 IU PMSG, ↓ aplikácia hormónu. Zmeny vyjadrené v $\bar{x} \pm \sigma$ inhibície, stanovenej zo spomalenia hydrolýzy TAPA trypsinom. TIA v percentách kontrolných vyjadruje rozdiely medzi hodnotami stimulovaných a nestimulovaných oviec (1 d) — Total trypsin inhibitory activity (TIA) of blood plasma (KP) of ewes in anoestrous period during and after 12-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chlorsuperlutin per sponge); ↑ insertion, ↑ removal and stimulations with 1000 IU and 750 IU PMSG, ↓ hormone administration. Changes represented as $\bar{x} \pm \sigma$ of inhibition determined from the reduced rate of TAPA trypsin hydrolysis. TIA in percentage of the controls reflects differences between the values of stimulated and nonstimulated ewes (1 d)

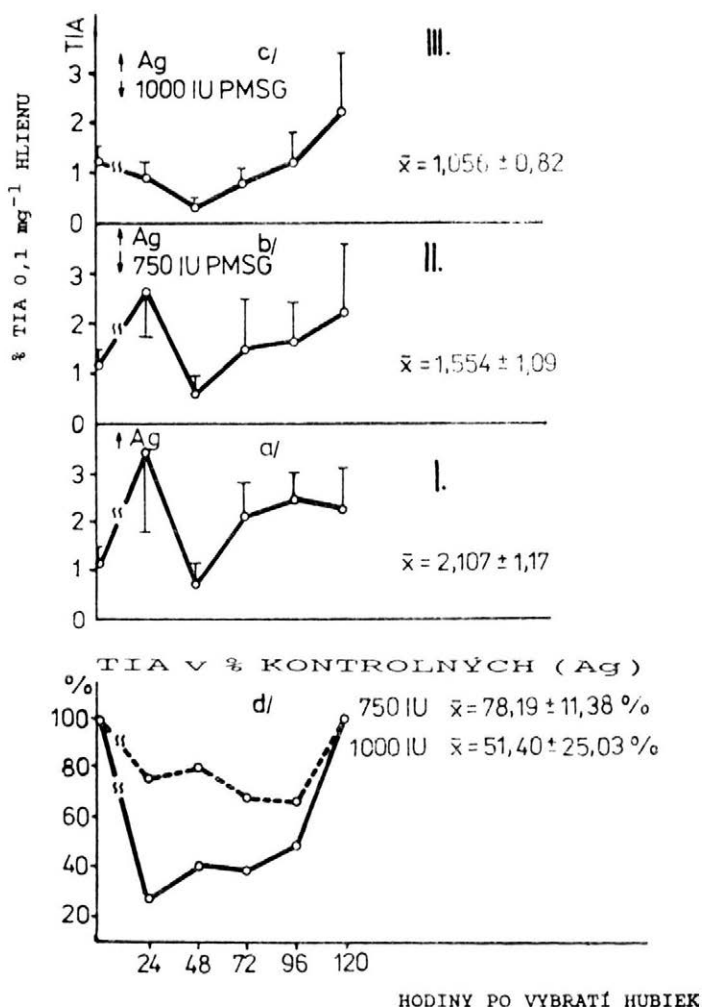
Priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu (obr. 6) boli vyššie v estrickom období ako v anestrickom ($P < 0,001$). Po synchronizácii a stimuláciách boli vyššie tiež v estri ako v anestri ($P < 0,001$ po 1000 IU PMSG). Stimulácie po Ageline ich znižovali (ns až $P < 0,05$). Zmeny v jednotlivých dňoch boli závislé na použitých stimulačných hormónoch.

Pri vyjadrení zmien priemerných hodnôt jednotlivých TIA v anestrickom a estrickom období (obr. 7) v percentách hodnôt počiatočných vidíme, že vybratie tampónov v anestri spôsobilo zníženie ($P < 0,001$) TIA



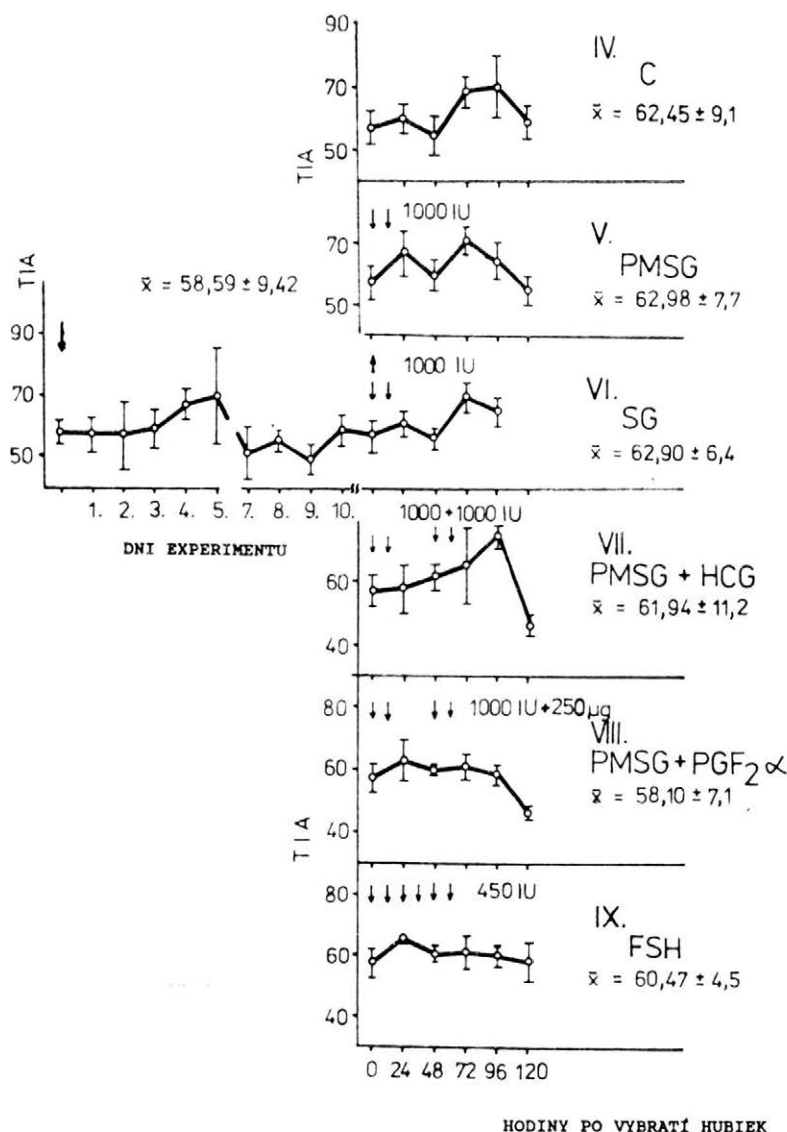
2. Frakcia nízkomolekulových trypsín inhibičných aktivít (nTIA) krvnej plazmy oviec v anestrickom období počas a po 12dňovej instilácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlórsuperlutínu na kus); $\downarrow$ vkladanie, $\uparrow$ vyberanie a po stimulácii 1000 IU a 750 IU PMSG, $\downarrow$ aplikácia hormónu. Zmeny vyjadrené v $\bar{x} \pm \sigma$ inhibície, stanovenej zo spomalenia hydrolýzy TAPA trypsínom. TIA v percentách kontrolných vyjadruje rozdiely medzi hodnotami stimulovaných a nestimulovaných oviec (2 d) — The fraction of low-molecular trypsin inhibitory activities (nTIA) of blood plasma of ewes in anoestrous period during and after 12-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chlórsuperlutin/sponge); $\downarrow$ insertion, $\uparrow$ removal and after stimulations with 2000 IU and 750 IU PMSG, $\downarrow$ hormone administration. Changes represented as $\bar{x} \pm \sigma$ of inhibition determined from the reduction rate of TAPA trypsin hydrolysis. TIA in percentage of the controls reflects differences between the values of stimulated and nonstimulated ewes (2 d)

KP na rozdiel od nesignifikantných zmien v estrickom období. Stimulácie spôsobovali zníženie (v anestri $P < 0,001$, v estri ns až $P < 0,02$), oproti TIA KP oviec po Ageline. Vo frakcii nízkomolekulových TIA sme po stimuláciách PMSG v anestri pozorovali zníženie priemerných nTIA KP (1000 IU — $P < 0,01$; 750 IU — $P < 0,02$), v estri naopak zvýšenie (1000

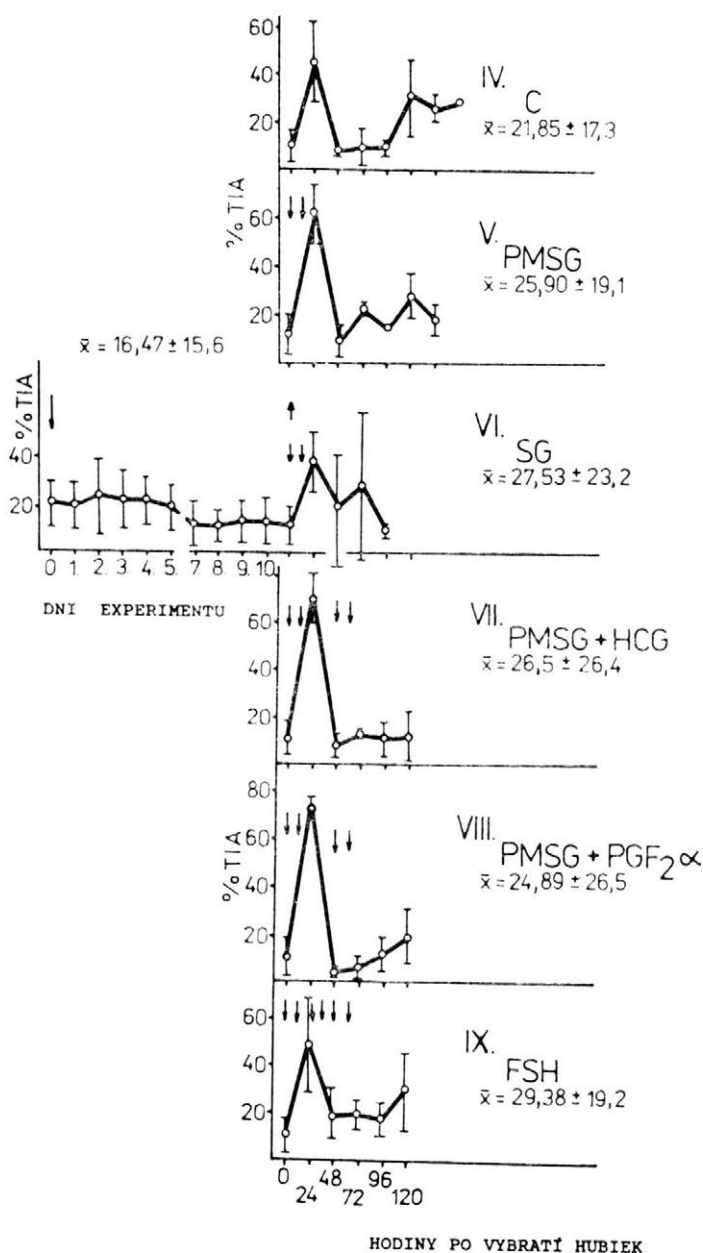


3. Trypsín inhibičná aktivita (TIA) cervikálneho hlienu (CH) oviec v anestríckom období po 12dňovej instilácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlórsuperlutínu na kus). Počiatočné priemerné hodnoty sú na osi y, zmeny po vybratí hubiek a aplikácii hormónov (↓ ↓) sú vyjadrené v $\bar{x} \pm \sigma$ v jednotlivých intervaloch (h). TIA v percentách kontrolných vyjadruje rozdiely medzi hodnotami stimulovaných a nestimulovaných oviec (3 d) — Trypsin inhibitory activity (TIA) of cervical mucus (CH) of ewes in anoestrous period after 12-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chlorsuperlutin per sponge). y-axis shows initial mean values, changes after sponge removal and hormone administration (↓ ↓) are represented in $\bar{x} \pm \sigma$ in the different intervals. TIA in percentage of the controls reflects differences between the values of stimulated and nonstimulated ewes (3 d)

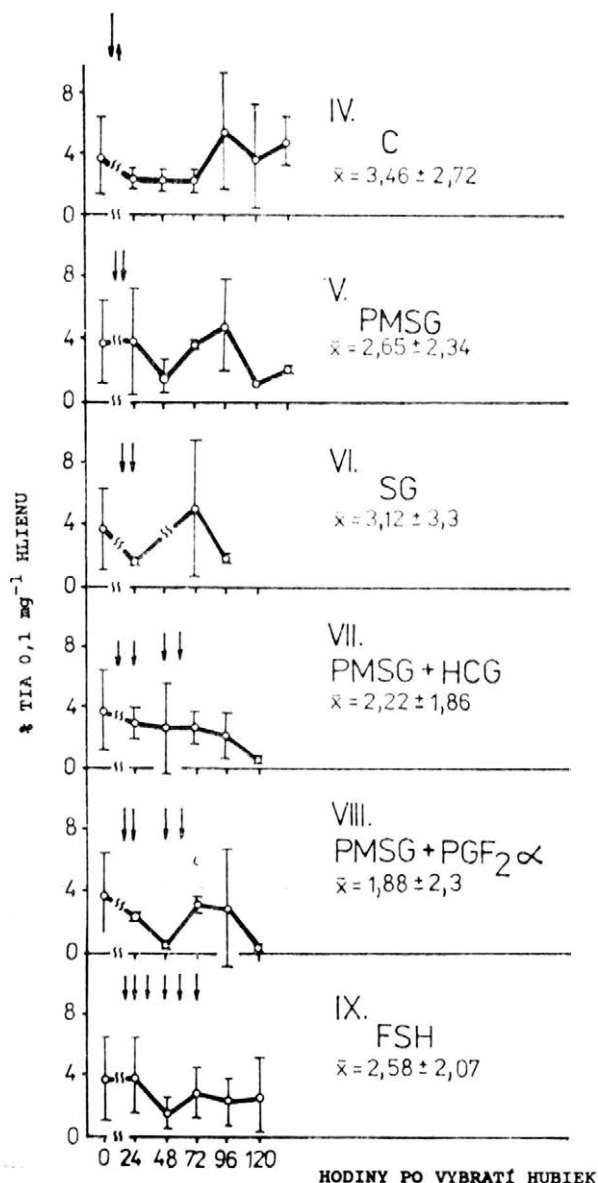
IU PMSG + 250 μg PGF_2 — $P < 0,1$; 450 IU FSH $P < 0,001$), oproti nestimulovaným. Priemerné hodnoty TIA cervikálneho hlienu sa v anestrí znižovali oproti nestimulovaným v závislosti od dávky PMSG (750 IU ns, 1 000 IU — $P < 0,01$). V estríckom období stimulácia prehlbila zníženie (ns až $P < 0,05$) oproti nestimulovaným.



4. Celková trypsin inhibičná aktivita (TIA) krvnej plazmy (KP) oviec v estrickom období počas a po 11dňovej inštalácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlor-superlútinu na kus); ↓ vkladanie, † vyberanie a stimulácia 1000 IU PMSG, 1000 IU SG, 1000 IU PMSG + 1000 IU HCG, 1000 IU PMSG + 250 μ g PGF₂ α , 450 IU FSH (↓↓↓ časy aplikácie). TIA vyjadrená v percentách spomalenia hydrolýzy TAPA trypsinom ($\bar{x} \pm \sigma$) — Total trypsin inhibitory activity (TIA) of blood plasma (KP) of ewes in oestrous period during and after 11-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chloresuperlutin per sponge); ↓ insertion, † removal and stimulations with 1000 IU PMSG, 1000 IU SG, 1000 IU PMSG + 1000 IU HCG, 1000 IU PMSG + 250 μ g PGF₂ α , 450 IU FSH (↓↓↓ times of applications). TIA is given in percentage of the reduction rate of TAPA trypsin hydrolysis ($\bar{x} \pm \sigma$)

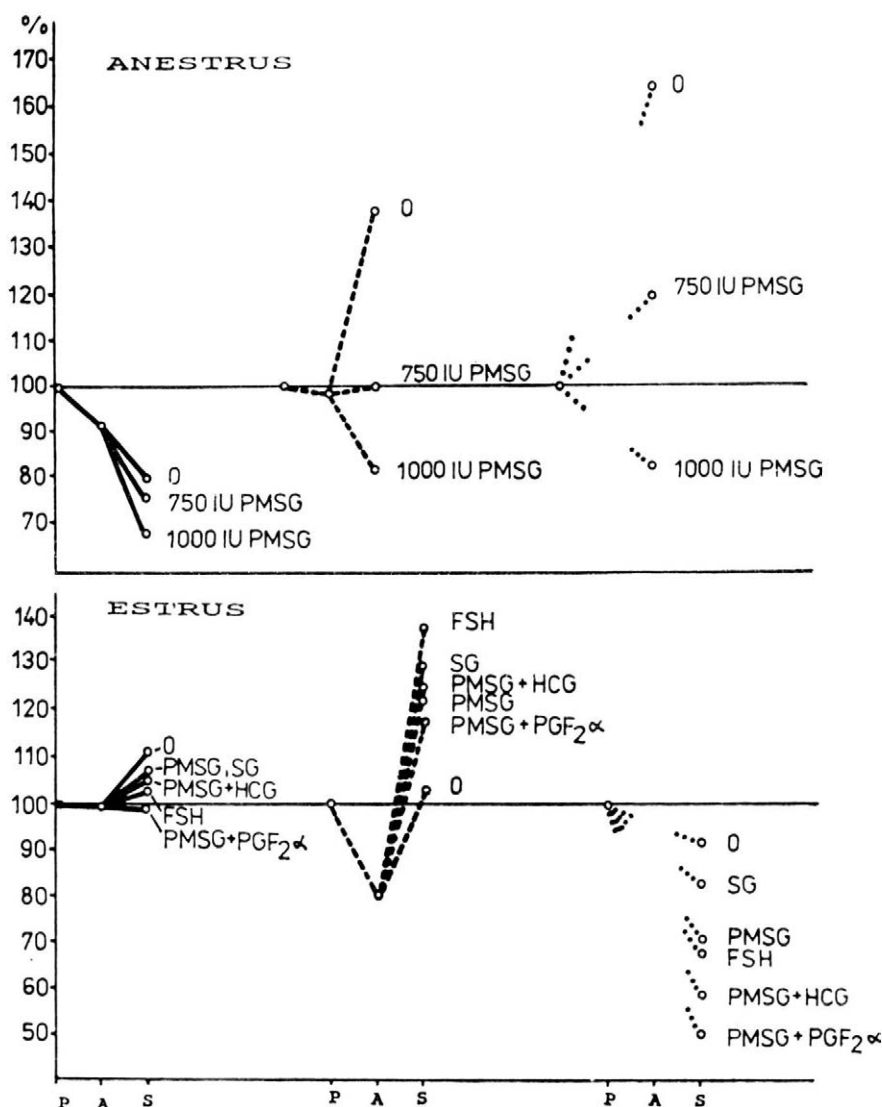


5. Frakcia nízkomolekulových trypsín inhibičných aktivít [nTIA] krvnej plazmy (KP) v estrickom období počas a po 11dňovej inštalácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutinu na kus; ↓ vkladanie, ↑ vyberanie a stimulácia 1 000 IU PMSG, 1 000 IU SG, 1 000 IU PMSG + 1 000 IU HCG, 1 000 IU PMSG + 250 μg $\text{PGF}_2\alpha$, 450 IU FSH (↓↓↓ časy aplikácie). TIA vyjadrená v percentách spomalenia hydrolýzy TAPA trypsínom ($\bar{x} \pm \sigma$) — The fraction of low-molecular trypsin inhibitory activities [nTIA] of blood plasma (KP) in oestrous period during and after 11-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chlorsuperlutin/sponge); ↓ insertion, ↑ removal and stimulations with 1 000 IU PMSG, 1 000 IU SG, 1 000 IU PMSG + 1 000 IU HCG, 1 000 IU PMSG + 250 μg $\text{PGF}_2\alpha$, 450 IU FSH (↓↓↓ times of applications). TIA given in percentage of the reduction rate of TAPA trypsin hydrolysis ($\bar{x} \pm \sigma$)



6. Trypsín inhibičné aktivity (TIA) cervikálneho hlienu (CH) v estrickom období. Priemerné počiatkové hodnoty sú na osi y, zmeny po 11dňovej instilácii Agelínových poševných hubiek (20 mg chlorsuperlutínu na kus) a stimulácii 1000 IU PMSG, 1000 IU SG, 1000 IU PMSG + 1000 IU HCG, 1000 IU PMSG + 250 µg PGF₂alfa, 450 IU FSH (↓ ↓ ↓ časy aplikácie) sú vyjadrené v $\bar{x} \pm \sigma$ v jednotlivých intervaloch (h) — Trypsin inhibitory activities (TIA) of cervical mucus (CH) in oestrous period. y-axis shows initial mean values, changes after 11-day instillation of Ageline vaginal sponges (20 mg chlorsuperlutin per sponge) and stimulations with 1000 IU PMSG, 1000 IU SG, 1000 IU PMSG + 1000 IU HCG, 1000 IU PMSG + 250 µg PGF₂alpha, 450 IU FSH (↓ ↓ ↓ times of applications) are given in $\bar{x} \pm \sigma$ in the different intervals (h)

v krvnej plazme



P - POČIATOČNÉ A - po AGELÍNE S - po STIMULÁCII

7. Zmeny priemerných hodnôt TIA KP, nTIA a TIA CH v anestríckom a estríckom období vyjadrené v percentách priemerných počiatkových hodnôt (P — počiatkové hodnoty = 100 %, A — priemerné hodnoty po vybratí Agelínových poševných hubiek, S — priemerné hodnoty počas 120 h po vybratí hubiek a začatí stimulácie). 750 a 1000 IU PMSG v anestrí, 1000 IU PMSG, 1000 IU PMSG + 1000 HCG, 1000 IU PMSG + 250 µg PGF₂α, 450 IU FSH v estrí — Changes in the mean values of TIA KP, nTIA and TIA CH in anoestrous and oestrous periods expressed in percentage of the initial mean values (P — initial values = 100 %, A — mean values after removal of Ageline vaginal sponges, S — mean values during 120 h after sponge removal and stimulation beginning). 750 and 1000 IU PMSG in anoestrus, 1000 IU PMSG, 1000 IU PMSG + 1000 HCG, 1000 IU PMSG + 250 µg PGF₂α, 450 IU FSH in oestrus

Zmeny antiproteolytických aktivít krvnej plazmy (KP) a cervikálneho hlienu (CH) po superovulačných stimuláciách ukazujú na ich účasť v reprodukčnom procese. Serínové proteázy sa zúčastňujú pri prebudovávaní tkanív a ich deštrukčný potenciál je regulovaný ich inhibítormi. Krvná plazma obsahuje najmenej deväť proteínázových inhibítorov rozdielnej molekulovej hmotnosti. Ashley (1987) dáva do súvisu zníženú fertilitu žien s ich zvýšenou hladinou alfa₁ antitrypsínu v krvnej plazme a genitálnych sekrétoch. Syntézu plazminogénových aktivátorov (PA = serínové proteázy, ktoré premieňajú neaktívny plazminogén na aktívnu proteázu — plazmín) a ich inhibítora (PAI), ako aj inhibítora plazmínu (PI) regulujú v ovariálnych folikuloch gonadotropíny (Smokovitis a i., 1988; Knecht, 1988). Stimulácie k superovuláciám menia pomer FSH a LH v závislosti na zložení stimulačnej dávky, čo v konečnom štádiu môže vyústiť v nerovnováhu proteáza — inhibitor vo folikulárnej tekutine a k poruchám pri ovuláciách. Na tomto sa môžu zúčastňovať proteázy a ich inhibítory lokálne produkované v ováriách, ale aj inhibítory privádzané na miesto pôsobenia krvou. Folikul sa v preovulačnej fáze stáva priepustnejší a cez jeho stenu môžu prechádzať do folikulárnej tekutiny aj tak veľké molekuly, ako má alfa₂ makroglobulín (alfa₂M). Tento plazmatický glykoproteín inhibuje proteázy všetkých štyroch tried a Roma i. (1987) jeho stanovenie vo folikulárnej tekutine používajú k určeniu vhodnosti oocyty na použitie v „*in vitro* fertilization — embryo transfer — IVF — ET“. Podobné stanovenie alfa₁ antitrypsínu vo folikulárnej tekutine používajú Imoedemhe a Shaw (1986). Z literatúry je známe, že stimulácie k superovuláciám môžu vyvolávať funkčné zmeny v pečeni a vytváranie trombov, čo je doprevádzané zníženou fibrinolytickou aktivitou v krvi (Spanel-Borrowski a Heiss, 1986; Younis a i., 1988; Kaaja a i., 1989). Z našich výsledkov vyplýva, že superovulačné stimulácie u oviec Merino menia priemerné hodnoty trypsín inhibičných aktivít (TIA) (trypsín — modelová serínová proteáza) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu v závislosti od obdobia (anestrické, estrické) aj veľkosti a zloženia stimulačnej dávky (Arendarčík a i., 1983; Molnárová a Arendarčík, 1988; Molnárová a i., 1988, 1989a, b; 1991a, b). Zmeny v jednotlivých dňoch naznačujú určité rozdiely v odpovediach celkovej TIA KP a nízkomolekulových TIA KP. Je všeobecne známe, že fertilita oviec ošetrovaných intravaginálnymi progestagénmi na synchronizáciu ruje býva menšia ako u oviec s prirodzeným estrom, najmä po umelej inseminácii. Pearce a Robinson (1985) zistili, že tu hraje dôležitú úlohu množstvo inkorporovaného progestagénu a že je dôležité presné načasovanie inseminácie v relácii k vlne LH (v strednom až pozdnom estri), lebo podmienky pre transport spermií cervixom sú vtedy optimálne. Do akej miery sa tu uplatňuje zmenené zloženie cervikálneho hlienu, sme sledovali stanovením zmien TIA cervikálneho hlienu (CH). V anestrickom období stimulácia 1 000 IU PMSG úplne potlačila maximálne hodnoty TIA CH 24 h po vybratí hubiek, 750 IU PMSG ich potlačila čiastočne a priemerné hodnoty TIA CH boli ovplyvnené podobne. V estrickom období sme po vybratí Angelínových hubiek v jednotlivých dňoch nepozorovali zvýšenie TIA CH a priemerné hodnoty boli nižšie po synchronizácii a najmä po stimuláciách. Do akej miery zmenené zloženie

cervikálneho hlienu po stimuláciách ovplyvňuje fertilitu samíc, je predmetom ďalších štúdií. S m o k o v i t i s a i. (1987) zistili značné rozdiely v obsahoch PA, PAI a PI v spermiiach mužov, býkov, baranov, kozlov, kancov a žrebčov. Zistili, že pridanie plazmínu spôsobilo znateľné zvýšenie mobility spermií býkov. Semenná plazma obsahuje tiež PAI a PI a jej najvyššie hodnoty boli nájdené u baranov a kozlov. Fyziologická úloha týchto značných druhových rozdielov nie je zatiaľ jasná. Vzťah medzi aktivátormi a inhibítormi v spermiiach môže byť významný pri fertilizačnom procese, lebo sa s najväčšou pravdepodobnosťou zúčastňujú na pochodoch spojených s dozrievaním spermií v pohlavnom trakte samcov a samíc (R o b i n s o n a i., 1987).

Zmeny proteolytických a antiproteolytických aktivít ako následok hormonálnej stimulácie gonadotropínami sa môžu prejavovať aj v radiácii hypotalamo-hypofýzovej oblasti, lebo proteínázy tu spôsobujú nielen hydrolýzu endogenných hypofyzárnych hormónov na aminokyseliny, ale zúčastňujú sa pravdepodobne pri uvoľňovaní hormónov z buniek (V a n h a — P e r t t u l a, 1969; C h i l d s a i., 1987).

Z odlišných zmien po podaní Agelínových poševných tampónov TIA KP, nTIA KP a po stimuláciách aj TIA CH v anestríckom a estríckom období možno usudzovať, že mechanizmy radiácie syntézu a sekréciu TIA do krvnej plazmy sú odlišné od tých, ktoré pravdepodobne lokálne riadia syntézu a sekréciu TIA do cervikálneho hlienu, lebo zvýšené hodnoty priemerné TIA KP sa neodrazili vo zvýšených priemerných hodnotách TIA CH.

Endokrinné regulácie sú často moderované lokálne vytváranými látkami a parakrinné regulácie tak môžu do značnej miery vytvárať mikroprostredie, ktoré do značnej miery ovplyvňuje vývoj a rast ovariálnych folikulov a kvalitu oocytov, ale aj ich ďalší vývoj po oplodnení (T o n e t a a d e Z e r e g a, 1989). Štúdiom vlastností folikulárnej tekutiny bude možné lepšie zistiť zmenené kvalitatívne a kvantitatívne faktory po stimuláciách a ich vplyv na fertilitu samíc po superovulačných stimuláciách a pomôžu stanoviť optimálne postupy pri riadenej reprodukcii hospodárskych zvierat.

Literatúra

- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Stimulation of sheep ovaries, production of ova, speed of their displacement and localization in sexual tract, trypsin inhibiting activity (TIA) in plasma and cervical mucus. *Poľnohospodárstvo*, 29, 1983, s. 1092—1103.
- ASHLEY, M. J.: Smoking, Alpha₁ — Antitrypsin and decreased fertility in women. *Med. Hypoth.*, 22, 1987, s. 277—285.
- BAGDASARIAN, A. — WHEELER, J. — STEWARD, G. J. — AHMED, S. S. — COLMAN, R. W.: Isolation of alpha protease inhibitor from human normal and malignant ovarian tissue. *J. Clin. Invest.*, 67, 1981, s. 281—291.
- BARTÍK, M. — CHAVKO, M. — KASAFÍREK, E: N-alpha-tosyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrate in color test and polagraphic test of trypsin. *Clin. Chim. Acta*, 56, 1974, s. 23—30.
- HAENDLE, H. — INGRISH, H. — WERLE, E.: Über einen neuen Trypsin-Chymotrypsin inhibitor in Zervicalsekret der Frau. *Hoppe-Seylers Z. Physiol Chem.*, 351, 1970, s. 545—546.
- HANSEL, W. — CONVEY, E. M.: Physiology of the estrous cycle. *J. Anim. Sci., Suppl.* 2., 1983, s. 404—424.
- CHILDS, G. W. — UNABELA, G. — TIBOLT, R. — LLOYD, J. M.: Cytological factors that support norparallel secretion of luteinizing hormone and follicle—stimulating hormone during the estrous cycle. *Endocrinology*, 121, 1987, č. 5, s. 1801—1813.

- IMOEDEMHE, D. — SHAW, R. W.: Follicular fluid alplai antitrypsin correlation with fertilizing capacity of oocytes. *Brit. J. Obstet. Gynaec.*, 93, 1986, s. 863—868.
- KAAJA, R. — SIEGBERG, R. — TIITINEN, A. — KOSKIMIES, A.: Severe ovarian hyperstimulation syndrome and deep venous thrombosis. In: *The Lancet*, October 28, 1989, s. 1043.
- KNECHT, H.: Plasminogen activator is associated with the extracellular matrix of ovarian granulosa cells. *Molec. Cell. Endocrin.*, 56, 1988, s. 1—9.
- MOLNÁROVÁ, M.: Inhibitory trypsinu v cervikálnom hliene niektorých hospodárskych zvierat. [Kandidátska dizertácia.] Košice, 1975. 178 s. — Vysoká škola veterinárska
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Zmeny trypsin inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF₂ alfa a PMSG v anestrii. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 11, s. 659—669.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Vplyv vitamínu A na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po hormonálnom ovplyvnení ovárií oviec v estrickom období. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, č. 3, s. 155—164.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MĚSZÁROSOVÁ, T.: Zmeny antiproteolytických aktivít krvnej plazmy a folikulárnej tekutiny ovárií troch plemien po superovulačných stimuláciách. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991a, č. 9, s. 539—549.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MĚSZÁROSOVÁ, T.: Antiproteolytické aktivity krvného séra a folikulárnej tekutiny ovárií oviec po stimulácii sérovým gonadotropínom a po podaní Antisergónu. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991b, č. 8, s. 497—507.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MĚSZÁROSOVÁ, T. — MOLNÁR, P.: Trypsin inhibiting activity in follicular fluid in ewes after hormonal stimulation of ovaries. In: BOĐA, K. (ed.): *Endocrinology of farm animals*, 1989a, s. 145—151.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M.: Vplyv PMSG na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy, cervikálneho hlienu a niektoré reprodukčné orgány oviec v anestrii. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, č. 2, s. 91—100.
- MOLNÁROVÁ, M. — PRZALA, J. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P.: Vplyv synchronizácie a stimulácie ovárií oviec na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a folikulárne populácie. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989b, č. 6, s. 335—348.
- PEARCE, D. T. — ROBINSON, T. J.: Plasma progesterone concentration ovarian and endocrinological responses and sperm transport in ewes with synchronized oestrus. *J. Reprod. Fertil.*, 75, 1985, s. 49—62.
- ROBINSON, R. — RICHARDSON, R. — HINDS, K. — CLAYTON, D. — POIRIER, G. R.: Features of a seminal proteinase inhibitor — zona pellucida — binding component on murine spermatozoa. *Gamete Res.*, 16, 1987, s. 217—228.
- ROM, R. — REICH, R. — LAUFER, N. — LEWIN, A. — RABINOWITZ, R. — PEVSNER, B. — LANCET, M. — SHENKER, J. G. — MISKIN, R. — ADELMANN-GRILL, B. C. — TSAF-RIRI, A.: Follicular fluid contents as predictors of success *in vitro* fertilization — embryo transfer. *Human. Reprod.*, 2, 1987, č. 6, s. 505—510.
- SPANIEL-BOROWSKI, K. — HEISS, CH.: Luteolysis and trombus formation in ovaries of immature superstimulated golden hamsters. *Austral. J. Biol. Sci.*, 39, 1986, s. 407—416.
- SMOKOVITIS, A. — KOKOLIS, N. — ALEXOPOULOS, C. — ALEXAKI, E. — ELEFTERIOU, E.: Plasminogen activator activity, plasminogen activator inhibition and plasmin inhibition in spermatozoa seminal plasma of man and various animal species-effect of plasmin on sperm motility. *Fibrinolysis I*, 1987, s. 253—257.
- 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.
- TONETA, S. A. — DI ZEREGA, G.: Intragonadal regulation of follicular maturation. *Endocrin. Rev.*, 10, 1989, s. 205—229.
- VANHA—PERTTULA, T.: Aminoacyl and dipeptidyl arylamidases (aminopeptidases) of the pituitary gland as related to function. *Endocrinology*, 85, 1969, č. 6, s. 1062—1069.
- YOUNIS, J. S. — ZEEVI, D. — RABINOWITZ, R. — LAUFER, N. — SCHENKER, J. G.: Transient liver function test abnormalities in ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil. Steril.*, 50, 1988, č. 1, s. 176—178.

Došlo dňa 2. 4. 1991

MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P. (University of Veterinary Medicine, Košice): *Changes in antiproteolytic activities of blood plasma and cervical mucus after superovulation stimulations*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (9—10): 517—530.

The function of proteins, peptides, proteases and inhibitors of proteases in modulations of regulation mechanisms of gonadotrophins during the development of ovarian follicles has not been fully explained up to now. We can see difference reactions of ewes to superovulation stimulations in oestrous and anoestrous periods as shown by the variation of the antiproteolytic activity of blood plasma and servical mucus. Trypsine is used as a model for serine protease, and trypsin inhibitory activity (TIA) was measured from the reduced rate of trypsin hydrolysis of the chromogenic substrate N-alpha-tosyl-L-arginine-4-nitroanilide (TAPA, Bartík et al., 1974). Full hydrolytic activity was determined as a change in absorbancy at 405 nm = 1.0 after ten-minute incubation at 25 °C and pH = 8.1, and inhibition was expressed in percentage of full activity. Statistical analyses were performed by Student's *t*-test. Twenty-three ewes in anoestrus and twenty-eight ewes in oestrus were included in this experiment. They were of the Slovak Merino breed, two to three years old, with the mean live weight of thirty to forty kg. The ewes were treated with Ageline vaginal sponges (20 mg chlorsuperlutin/sponge) to provide for synchronization of ovarian activity, in the interval of eleven to twelve days. After removal of sponges, the ewes were stimulated for superovulation as shown in Tab. I. Heparinized blood plasma samples were stored at -25 °C. Low molecular TIA activities were determined in HClO₄-treated blood plasma. Samples of servical mucus were taken on cotton-wool tampons which were eluated in 0.2 M Tris-HCl buffer, pH = 8.1. Figs. 1-6 shows TIA changes in blood plasma and cervical mucus on particular days. Fig. 7 shows the mean values of controls (I — initial) after synchronization (A) and after stimulation (S). TIA changes were different in anoestrous and oestrous periods. Differences in TIA changes in blood plasma and cervical mucus in oestrous period suggested certain local regulation mechanisms of synthesis and/or secretion of this activity in the cervix. Some values of TIA were maximum at the time of expected heat or ovulation and may be some of the factor(s) which influenced fertility of females after superovulation stimulations.

ewes; superovulation; stimulation; antiproteolytic activities (TIA); blood plasma; cervical mucus; oestrus; anoestrus

Adresa autorov:

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

IZOLACE A STUDIUM BIOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ NEONKOGENNÍCH KUŘECÍCH HERPESVIRŮ MARKOVY NEMOCI

1. CHARAKTERIZACE *IN VITRO*

V. Jurajda, R. Halouzka

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Izolace a studium biologických vlastností neonkogenních kuřecích herpesvirů Markovy nemoci. 1. Charakterizace in vitro.* Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 531—534.

Z leukocytů separovaných z krve výkrmových kuřat bez klinických i patomorfologických příznaků Markovy nemoci (MD) a z krve nosnic laboratorního nevakcinovaného chovu bez klinických příznaků, ale s téměř 100% incidencí precipitačních MD-protilátek byly izolovány dva kmeny herpesvirů (označené jako izoláty VUB-M a VUB-K). Po adaptaci *in vitro* byly cytopatické pro kuřecí embryonální fibroblasty za 3 dny po infekci. Izoláty byly identifikovány jako kuřecí herpesviry Markovy nemoci na základě vzniku a charakteru cytopatického efektu, neinfekčnosti kultivačního média, ztráty infekčnosti buněk po jejich destrukci, sérologicky a elektronopticky.

kuřecí embryonální fibroblasty; cytopatický efekt

Výzkum a vývoj nových vakcín vychází z nutnosti chránit drůbež před patogenními kmeny viru Markovy nemoci (MDV) o rozličné antigenní výbavě, zejména před vysoce virulentními variantami MDV (Witter aj., 1980). Proto se upouští od monopolního používání vakcín obsahujících krůtí herpetický virus (HVT) a vyvíjejí se vakcíny i z jiných vhodných kmenů MDV (Schat a Calnek, 1978; Witter, 1987; Witter aj., 1987) nebo bivalentní v kombinaci s HVT (Schat aj., 1982; Witter, 1982) či trivalentní za použití vakcinačních kmenů všech tří sérotypů (Witter aj., 1985).

V Československu se od roku 1973 vyrábí a také používá pouze jeden typ vakcíny proti Markově nemoci (MD), a to vakcína Marvak, výrobce Bioveta Nitra. Obsahuje krůtí herpetický virus THV-BIO-I (Sala j aj., 1976). Protože existenci vysoce virulentních variant MDV nelze již vyloučit ani v našich chovech (Jurajda a Halouzka, 1988), pokusili jsme se ve shodě se současnými vědeckými poznatky o kontrole výskytu MD o izolaci nepatogenních kuřecích herpesvirů MD se záměrem jejich případného využití pro inovaci stávající československé vakcíny proti Markově nemoci.

Předkládaná práce je věnována izolaci nepatogenních kuřecích herpesvirů Markovy nemoci a jejich charakterizaci *in vitro*.

IZOLACE VIRU

Směsné vzorky heparinizované krve jsme získali na vykrvovací lince drůbeží porážky v M. ze dvou turnusů výkrmových kuřat z různých lokalit Jihomoravského kraje a od osmi nosnic z laboratorního nevakcinovaného chovu, který se vyznačoval dlouhodobou nepřítomností klinického i patomorfologického výskytu MD a téměř 100% incidencí precipitačních MD-protilátek. Vlastní izolační pokusy jsme prováděli *in vitro* na kulturách primárních kuřecích embryonálních fibroblastů (CEF), které jsme infikovali separovanými krevními lymfocyty [Jurajda aj., 1984.] V případě negativního výsledku primoizolace po 5–7 dnech inkubace jsme prováděli další dvě subpasáže. V pozitivním případě byly buňky sklizeny a skladovány v tekutém dusíku.

IDENTIFIKACE IZOLOVANÉHO VIRU

Izoláty byly typizovány na základě vzniku a charakteru cytopatického efektu v CEF [Biggs a Milne, 1972], neinfekčnosti kultivačního média a ztráty infekčnosti buněk po jejich destrukci opakovanými cykly mražení a tání [Biggs a Payne, 1967], sérologicky imunodifúzí v agarovém gelu proti specifickému séru [Chubb a Churchill, 1968] a elektronopticky [za elektronoptické vyšetření děkujeme dr. Valíčkovi z VÚVeL Brno].

VÝSLEDKY

V prvním pokusu jsme odebrali 40 vzorků krve od výkrmových kuřat ze dvou turnusů bez příznaků Markovy nemoci. Vyšetřením *in vitro* v CEF jsme u tří testovaných vzorků pozorovali za pět dní po infekci (DPI) tvorbu shluků kulatých, silně světlolomných buněk. Velikost shluků se úměrně s dobou inkubace postupně zvětšovala. Po fixaci buněčných kultur methanolem a obarvením podle Pappenheima jsme pozorovali mikroskopické plaký, tvořené vícejadernými buňkami (obr. 1 a 2). Cytoplazma některých buněk, zejména na okraji plaků, byla silně bazofilní. V jádrech buněk byly pozorovány inkluze. Tvorba cytopatického efektu (CPE) byla zachována i v průběhu opakovaných pasáží pomocí infikovaných intaktních buněk. Již ve druhé pasáži se doba vzniku plaků zkrátila na tři dny inkubace. Mezi počtem plakotvorných jednotek (PFU) v inokulu a počtem vzniklých mikroplaků byla pozorována lineární závislost. Přenos CPE byl možný pouze s buněčným inokulem, nikoliv s filtrovaným médiem (Synpor filtry velikosti 450 nm) nebo buňkami destruovanými opakovanými cykly mražení a tání.

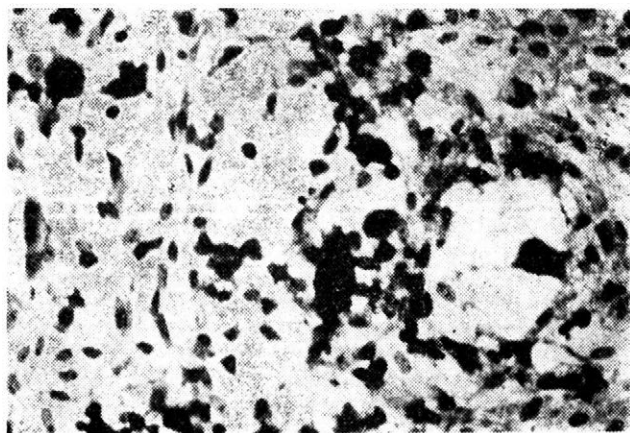
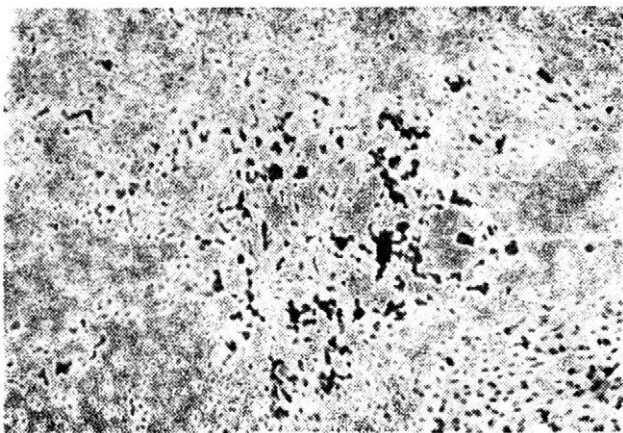
Ze tří izolátů byl pro další charakterizaci vybrán náhodným způsobem jeden a označen jako izolát VUB-M. Elektronopticky byl charakterizován jako herpesvirus.

Ve druhém pokusu jsme použili směsný vzorek leukocytů separovaných z krve nosnic. Již v první pasáži došlo od 5. DPI k vývoji MD-specifických cytopatických změn, které bylo možné opakovaně pasážovat. V prvních sedmi pasážích bylo zapotřebí k vývoji počítatelných mikroplaků týdenní inkubace, od osmé pasáže se izolát adaptoval a již třetí den inkubace se začínaly objevovat výrazné shluky kulatých refraktilních buněk (izolát byl označen jako VUB-K). Ostatní identifikační techniky přinesly stejné výsledky jako u izolátu M.

Precipitační antigeny připravené z buněk infikovaných izoláty M a K [Jurajda aj., 1984] reagovaly v imunodifúzi proti MD-specifickému séru vznikem jedné precipitační linie.

Na základě těchto výsledků jsme izolované viry identifikovali jako kuřecí herpesviry Markovy nemoci.

1. Cytopatický efekt v kultuře kuřecích embryonálních fibroblastů za 4 dny po infekci izolátem M (HE, 250x) — Cytopathic effect in the culture of chicken embryo fibroblasts in four days after isolate M infection (HE, 250x)



2. Cytopatický efekt v kultuře kuřecích embryonálních fibroblastů za 4 dny po infekci izolátem M (HE, 640x) — Cytopathic effect in the culture of chicken embryo fibroblasts in four days after isolate M infection (HE, 640x)

DISKUSE

Za nejvhodnější substrát pro izolaci MDV *in vitro* jsou z buněčných kultur preferovány kuřecí ledviny nebo kachní embryonální fibroblasty. CEF jsou vhodné pro MDV adaptované již na předchozí buněčné systémy nebo pro apatogenní kmeny MDV či krůti herpetický virus (Sharma, 1971). Poměrně rychlá izolace viru z periferních krevních lymfocytů výkrmových kuřat, vzhled a rychlost tvorby cytopatického efektu v CEF po infekci izolátem M odpovídají růstovým charakteristikám slabě patogenních nebo apatogenních kmenů MDV (Witter, 1983). Přítomnost HVT lze vyloučit, protože kuřata nebyla vakcinována.

Stejně vlastnosti vykazoval i izolát K. V porovnání s izolátem M je však zajímavé, že doba potřebná k vytvoření počítatelného CPE se zkrátila na tři dny až po sedmi počátečních pasážích, kdežto u izolátu M stačily již dvě pasáže. Jiné odlišnosti těchto dvou izolátů nebyly *in vitro* pozorovány.

Další použité typizační techniky podpořily identifikaci obou izolátů jako kuřecí herpesviry Markovy nemoci.

Literatura

- BIGGS, P. M. — MILNE, B. S.: Biological properties of a number of Marek's disease virus isolates. In: BIGGS, P. M. (ed.): *Oncogenesis and Herpesviruses*, WHO IARC France, Lyon, 1972, s. 88—94.
- BIGGS, P. M. — PAYNE, L. N.: Studies of Marek's disease. I. Experimental transmission. *J. Natl. Cancer Inst.*, 39, 1967, s. 267—280.
- CHUBB, R. C. — CHURCHILL, A. E.: Precipitating antibodies associated with Marek's disease. *Veter. Rec.*, 83, 1986, s. 4—7.
- JURAJDA, V. — HALOUZKA, R.: Izolace patogenního viru Markovy nemoci z hejna kuřat vakcinovaných krůti herpetickou vakcínou. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 741—746.
- JURAJDA, V. — POSPIŠIL, Z. — POKORNÁ, B. — SALAJ, J.: Chráněnost kuřat proti Markově nemoci v laboratorních podmínkách po aplikaci čs. vakcíny Marvak a vakcíny dovážené z NDR. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 171—180.
- SALAJ, J. — ČASNOCHA, E. — ČERNÍK, K. — ŽUFFA, A. — MALÁ, E. — LINDENSTEINOVÁ, M. — GUNIŠOVÁ, E.: MARVAK [Výzkumná zpráva.] Nitra, Bioveta, n. p., 1976, 88 s.
- SHARMA, J. M. *In vitro* cell association of Marek's disease herpesvirus. *Amer. J. Veter. Res.*, 32, 1971, s. 291—301.
- SCHAT, K. A. — CALNEK, B. W.: Protection against Marek's disease derived tumor transplantants by the nononcogenic SB-1 strain of Marek's disease virus. *Inf. Immun.*, 22, 1978, s. 225—232.
- SCHAT, K. A. — CALNEK, B. W. — FABRICANT, J.: Characterization of two highly oncogenic strains of Marek's disease virus. *Avian Pathol.*, 11, 1982, s. 593—605.
- WITTER, R. L.: Protection by attenuated and polyvalent vaccines against highly virulent strains of Marek's disease virus. *Avian Pathol.*, 11, 1982, s. 49—62.
- WITTER, R. L.: Characteristics of Marek's disease viruses isolated from vaccinated commercial chicken flocks: association of viral pathotype with lymphoma frequency. *Avian Diseases*, 27, 1983, s. 113—132.
- WITTER, R. L.: New serotype 2 and attenuated serotype 1 Marek's disease vaccine viruses: comparative efficacy. *Avian Diseases*, 31, 1987, s. 752—765.
- WITTER, R. L. — SHARMA, J. M. — FADLY, A. M.: Pathogenicity of variant Marek's disease virus isolants in vaccinated and unvaccinated chickens. *Avian Diseases*, 24, 1980, s. 210—232.
- WITTER, R. L. — SHARMA, J. M. — CHASE, W. B. — HALVORSON, D. A. — SIVANANDAN, V.: Field trials to test the efficacy of polyvalent Marek's disease vaccines in layer and broiler breeder chickens. *Poult. Sci.*, 64, 1985, s. 2280—2286.
- WITTER, R. L. — SILVA, R. F. — LEE, L. F.: New serotype 2 and attenuated serotype 1 Marek's disease vaccine viruses: selected biological and molecular characteristics. *Avian Diseases*, 31, 1987, s. 829—840.

Došlo dne 2. 9. 1991

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Isolation and study of biological characteristics of nononcogenic chicken herpesviruses of Marek's disease. Part 1. In vitro characterization.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (9—10): 531—534.

The present paper deals with isolation of nonpathogenic chicken herpesviruses of Marek's disease (MD) and their *in vitro* characterization. Two strains of herpesviruses (denoted as VUB—M and —K isolates) were isolated from leucocytes separated from the blood of fattening chickens without clinical and pathomorphological symptoms of Marek's disease and from the blood of laying hens of a laboratory nonvaccinated flock without clinical symptoms, but with almost 100% incidence of precipitating MD antibodies. After *in vitro* adaptation, they were cytopathic for chicken embryonal fibroblasts in three days after infection. Isolates were identified as chicken herpesviruses of Marek's disease on the basis of the origin and nature of cytopathic effect in CEF (Biggs and Milne, 1972), lack of infectivity of culture medium and loss of infectivity of cells after their destruction through repeated cycles of freezing and thawing (Biggs and Payne, 1967), then serologically by agar gel immunodiffusion against specific serum (Chubb and Churchill, 1968) and electronoptically. chicken embryonal fibroblasts; cytopathic effect

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Vladimír Jurajda, CSc., doc. MVDr. Roman Halouzka, CSc.,
Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

IZOLACE A STUDIUM BIOLOGICKÝCH VLASTNOSTÍ NEONKOGENNÍCH KUŘECÍCH HERPESVIRŮ MARKOVY NEMOCI

2. CHARAKTERIZACE *IN VIVO*

V. Jurajda, R. Halouzka

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Izolace a studium biologických vlastností neonkogenních kuřecích herpesvirů Markovy nemoci. 2. Charakterizace in vivo*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (9—10): 535—542.

V průběhu pětitédenního pozorovacího období jsme sledovali patogenitu, imunosupresi, produkci protilátek a virového antigenu v peří u kuřat Brown Leghorn experimentálně infikovaných dvěma kmeny (M a K) kuřecích herpesvirů Markovy nemoci (MD). Žádný z izolátů nevyvolával klinické ani patomorfologické makroskopické příznaky onemocnění. Izolát M indukoval u 11 % infikovaných kuřat mikroskopické MD-specifické změny v periferních nervech (typu C) a jen mírné a přechodné známky imunosuprese. Izolát K naopak nepostihoval periferní nervy, ale redukoval hmotnost kuřat i relativní hmotnost Fabriciovy burzy včetně silnějšího postižení lymfatických orgánů kuřat. Oba izoláty byly charakterizovány jako neonkogenní a jen slabě patogenní kuřecí herpesviry Markovy nemoci pro vnímavá kuřata za experimentálních podmínek.

kuřata Brown Leghorn; imunosuprese; hmotnost kuřat; relativní hmotnost Fabriciovy burzy

Prevence Markovy nemoci (MD) vakcinací je nejčastějším způsobem kontroly jejího výskytu v chovech drůbeže a z hlediska ekonomického i způsobem nejefektivnějším. Proto se hledají nejvhodnější vakcinační kmeny, které by chránily kuřata před vznikem lymfoidních nádorů co nejdéle a pokud možno i po infekci vysoce virulentními patotypy viru MD.

V předchozí publikaci (Jurajda a Halouzka, 1992) jsme popsali izolaci dvou kuřecích herpesvirů Markovy nemoci (kmeny M a K) a výsledky jejich charakterizace *in vitro*. Předkládaná práce je věnována charakterizaci obou izolátů v podmínkách *in vivo*, kdy jsme v průběhu pětitédenního testovacího období sledovali patogenitu a imunosupresivní vlastnosti izolátů, vznik a dynamiku produkce protilátek a virového antigenu v peří experimentálně infikovaných kuřat. Podrobné výsledky patomorfologického hodnocení MD-specifických změn a imunosuprese jsou publikovány v práci Halouzka a Jurajda (1992).

MATERIÁL A METODY

Přítomnost protilátek proti viru Markovy nemoci (MDV) v krevním séru a precipitačního MDV-antigenu v peřových brcích testovaných kuřat jsme zjišťovali technikou dvojité imunodifúze v agarovém gelu podle Ouchterlonyho, modifikovanou Woernlem (1966). Přípravu agarového gelu a způsobu testu popsali Forejtek a Jurajda (1972). Přípravu specifického precipitačního MVD-antigenu a způsob jeho detekce u kuřat popsali Jurajda aj. (1984). Specifické MDV-antisérum jsme připravili od kuřat s výskytem lymfoidních nádorů po infekci onkogenním kmenem GA/MDV (Eidson a Schmittle, 1968), které jsme odučnili a koncentrovali podle Woernla (1966) a skladovali společně se specifickým MDV antigenem při teplotě -20°C do použití.

Pomnožování a titrace izolátů se prováděla v systému kuřecích embryonálních fibroblastů (CEF) (Jurajda aj. 1984). Infikované CEF v koncentraci $5-10 \cdot 10^6 \cdot \text{ml}^{-1}$ byly skladovány s přidavkem DMSO a bovinního séra při teplotě tekutého dusíku.

V pokusech jsme používali dvoudenní kuřata Brown Leghorn (Biggs a Payne, 1963) z ÚMG CSAV Praha, která byla rozdělena vždy do tří experimentálních a jedné kontrolní skupiny po 40 kuřatech.

Před parenterální (*i.m.*) infekcí kuřat do stehenního svalu v dávce 0,2 ml byl titr izolátů upraven podle poslední titrace ředěním do tří infekčních dávek — nízké (10^2 PFU), střední (10^3 PFU) a vysoké (10^4 PFU). Skutečná velikost vysoké dávky byla kontrolována titrací a v práci je definována jako aktuální titr. V termínech 1., 2., 3. a 5. týden po infekci (TPI) jsme z každé z infikovaných skupin a skupiny kontrolní odebrali po 10 kuřatech. Kuřata jsme zvážili, utratili a odebrali individuální vzorky krve a peří na sérologické vyšetření. Po patomorfologickém vyšetření kuřat jsme odebrali Fabriciovu burzu a slezinu, které jsme po zvážení pak společně se vzorky kůže, thymu, periferních nervů (*n. ischiadicus*, *plexus brachialis*) a gonád mikroskopicky vyšetřovali na přítomnost MD-specifických změn a morfologické známky imunosuprese.

Relativní hmotnost Fabriciovy burzy a sleziny byla stanovována podle autorů Lucio a Hitchner (1979). Charakter a stupeň regresivních změn v lymfatických orgánech byl stanovován podle kritérií, které popsali Halouzka a Jurajda (1991).

Hodnocení výsledků se provádělo na počítači TNS—GC (AK Slušovice) programem Abstat při 5% hladině významnosti a za pomoci tabulek kritických hodnot matematické statistiky (Roth aj., 1962; Reisenauer, 1965).

VÝSLEDKY

Aktuální titr izolátu M v použité 19. buněčné pasáži byl 10800 PFU/0,2 ml a izolátu K v 9. buněčné pasáži 8600 PFU/0,2 ml.

Získané výsledky jsou shrnuty v tabulkách I a II.

CHARAKTERIZACE IZOLÁTU M

Hmotnost kuřat ani relativní hmotnost Fabriciovy burzy nevykazovaly po celé sledované období žádné odchylky od hodnot zjišťovaných u kontrolních kuřat. Relativní hmotnost sleziny v porovnání s kontrolní skupinou byla vyšší v 1. TPI u skupiny kuřat infikovaných vysokou dávkou, v 2. a 3. týdnu u všech infikovaných skupin a v 5. týdnu pouze u skupiny kuřat infikovaných nízkou dávkou. Relativní hmotnost sleziny byla u infikovaných kuřat zvýšena v průměru o 43 %.

U žádného z infikovaných kuřat nebyly pozorovány v průběhu celého pokusu tumory ani jiné makroskopické patologické změny. Mikroskopickým vyšetřením jsme pozorovali MD změny ve Fabriciově burze u jednoho kuřete (tj. u 0,8 % z infikovaných), v kůži 27 kuřat (22,7 %), *n. ischiadicu* u 12 kuřat (10,1 %), *plexu brachialis* čtyř kuřat (3,4 %) a v gonádách osmi kuřat (6,7 %). Periferní nervy byly postiženy celkem

u 13 infikovaných kuřat (10,9 %). Z celkového počtu 833 vzorků vyšetřovaných tkání od infikovaných kuřat byly MD změny zjištěny u 6,1 % vzorků a u 33,6 % infikovaných kuřat. V thymu a slezině jsme MD změny nepozorovali.

V 1. TPI byly detekovány u 45 % vyšetřovaných kuřat pasivní MD-protilátky. Aktivní MD-protilátky jsme zjistili u jednoho kuřete ve 3. TPI; pravidelnější výskyt protilátek byl zaznamenán až v 5. TPI. V období od 2. do 5. TPI byly aktivní MD-protilátky prokázány u 22 z 89 infikovaných kuřat, tj. u 24,7 %.

Vylučování viru péřovými folikuly bylo prokázáno již od 2. TPI a přetrvávalo do konce sledovaného období. Z celkového počtu 89 infikovaných a vyšetřovaných kuřat vylučovalo 26 kuřat, tj. 29,2 %.

Mikroskopické změny svědčící o imunosupresi byly detekovány ve Fabriciově burze infikovaných kuřat 48krát (tj. u 40,3 %) s průměrným indexem 0,79, v thymu 29krát (24,4 %) s průměrným indexem 0,48 a ve slezině 15krát (12,6 %) s průměrným indexem 0,18. Celkem bylo od infikovaných kuřat vyšetřeno 357 vzorků lymfatických orgánů a v 92 případech (25,8 %) byly pozorovány morfologické známky imunosuprese. Průměrný index imunosuprese byl 0,48. Imunosupresivní změny byly zjištěny celkem u 62 infikovaných kuřat, tj. u 52,1 %.

CHARAKTERIZACE ISOLÁTU K

Hmotnost kuřat i relativní hmotnost Fabriciovy burzy byly u infikovaných kuřat v porovnání s kontrolními kuřaty negativně ovlivňovány. Deprese růstu částečně korelovala s velikostí infekční dávky. U Fabriciovy burzy došlo k překvapivému vzestupu relativní hmotnosti ve 2. TPI u skupiny infikované vysokou dávkou izolátu K, naopak nejnižší hodnoty indexu relativní hmotnosti byly zaznamenány u kuřat infikovaných vysokou dávkou v 1. a 5. TPI. Relativní hmotnost sleziny byla zvýšena u všech infikovaných kuřat, kromě posledního odběru vzorků v 5. TPI. Průměrné zvýšení hmotnosti sleziny dosahovalo 50 % oproti kontrolním kuřatům.

U žádného z infikovaných kuřat nebyly pozorovány v průběhu pokusu tumory ani jiné makroskopické patologické změny. Při mikroskopickém vyšetření nebyly zjištěny MD změny ve Fabriciově burze, thymu a periferních nervech. Naopak změny byly pozorovány ve slezině jednoho kuřete (tj. u 0,85 % z infikovaných kuřat), v kůži 17 kuřat (14,4 %) a v gonádách 14 kuřat (11,9 %). Z celkového počtu 826 vzorků vyšetřovaných tkání od infikovaných kuřat byly změny zjištěny u 3,87 % vzorků a u 23,73 % infikovaných kuřat.

Pasivní precipitační MD-protilátky byly v 1. TPI detekovány u 75 % vyšetřovaných kuřat, ve 2. týdnu ještě částečně přetrvávaly. Aktivní MD-protilátky nebyly do 5. TPI prokázány.

Vylučování viru péřovými folikuly bylo prokázáno pouze u jednoho kuřete ze skupiny infikované vysokou dávkou ve 2. TPI.

Morfologické změny svědčící o imunosupresi byly detekovány ve Fabriciově burze infikovaných kuřat 52krát (tj. u 44,1 %) s průměrným indexem 0,79, v thymu 37krát (31,4 %) s průměrným indexem 0,56 a ve slezině 25krát (21,2 %) s průměrným indexem 0,29. Celkem bylo

I. Celkové vyhodnocení sledovaných charakteristik u kuřat BrL po infekci izolátem M — Overall evaluation of target characteristics in BrL chickens after infection with M isolate

Sku- pina ¹	Dávka (PFU) ²	Týden po infekci ³	Hmotnost kuřat ⁴ [g]	Relativní hmot- nost Fabriciovy burzy ⁵ [g]	Relativní hmot- nost sleziny ⁶ [g]	Imunosuprese ⁷		Histologické změny ⁸		AGP	FF
						kuře ⁹	index	kuře ⁹	nervy ¹⁰		
1	—	1	54,9	0,168	0,072a ¹⁾	0/10 ²⁾	0,00	0/10	0/20	3/10	nt
		2	90,3	0,248	0,099a	0/10	0,00	0/10	0/20	0/10	0/10
		3	121,1	0,246	0,123a	0/10	0,00	0/10	0/20	0/10	0/10
		5	245,0	0,235	0,164a	0/10	0,00	0/10	0/20	0/10	0/10
			127,8	0,224	0,114	0/40	0,00	0/40	0/80	3/40	0/30
2	10 ²	1	58,1	0,153	0,090a	1/10	0,03	1/10	1/20	6/10	nt
		2	89,6	0,246	0,180b	6/10	0,50	4/10	3/20	0/10	1/10
		3	122,1	0,227	0,181b	9/10	0,90	2/10	0/20	0/10	1/10
		5	223,5	0,265	0,232b	1/10	0,17	4/10	2/20	7/10	3/10
			123,3	0,222	0,171	17/40	0,40	11/40	6/80	13/40	5/30
3	10 ³	1	58,6	0,168	0,082a	4/10	0,27	3/10	3/20	5/10	nt
		2	94,5	0,228	0,150b	10/10	0,93	2/10	2/20	0/10	2/10
		3	115,2	0,254	0,169b	2/9	0,19	4/9	0/18	1/9	4/9
		5	234,0	0,253	0,218ab	8/10	0,97	3/10	0/20	7/10	4/10
			125,6	0,226	0,155	24/39	0,60	12/39	5/78	13/39	10/29
4	10 ⁴	1	59,4	0,182	0,130b	5/10	0,20	4/10	1/20	4/10	nt
		2	87,6	0,207	0,145b	7/10	0,83	6/10	4/20	0/10	2/10
		3	118,7	0,247	0,173b	7/10	0,60	2/10	0/20	0/10	6/10
		5	257,0	0,279	0,204ab	2/10	0,17	5/10	0/20	7/10	3/10
			130,7	0,229	0,163	21/40	0,45	17/40	5/80	11/40	11/30
[%] Izolát M ¹¹			126,5	0,226	0,163	62/119 52,10	0,48	40/119 33,61	16/238 6,72	37/119 31,09	26/89 29,21

¹ group, ² dose (PFU), ³ week after infection, ⁴ chicken weight, ⁵ relative weight of bursa Fabricii, ⁶ relative weight of spleen, ⁷ immunosuppression, ⁸ histological changes, ⁹ chicken, ¹⁰ nerves, ¹¹ isolates

II. Celkové vyhodnocení sledovaných charakteristik u kuřat BrL po infekci izolátem K — Overall evaluation of target characteristics in BrL chickens after infection with K isolate

Sku- pina ¹	Dávka (PFU) ²	Týden po infekci ³	Hmotnost kuřat ⁴ [g]	Relativní hmot- nost Fabriciovy burzy ⁵ [g]	Relativní hmot- nost sleziny ⁶ [g]	Imunosuprese ⁷		Histologické změny ⁸		AGP	FF
						kuře ⁹	index	kuře ⁹	nervy ¹⁰		
1	—	1	71,1a ¹⁾	0,248a	0,062a	0/9 ²⁾	0,00	0/10	0/20	8/10	nt
		2	104,8a	0,227a	0,076a	0/10	0,00	0/10	0/20	1/10	0/10
		3	136,7a	0,276a	0,125a	0/10	0,00	0/10	0/20	0/10	0/10
		5	295,9a	0,290ac	0,191a	0/10	0,00	0/10	0/20	0/10	0/10
			152,1	0,260	0,114	0/39	0,00	0/40	0/80	9/40	0/30
2	10 ²	1	64,6b	0,188b	0,108b	0/10	0,00	1/10	0/20	6/10	nt
		2	95,1ab	0,252ab	0,152b	8/10	0,40	4/10	0/20	1/10	0/10
		3	124,3ab	0,228ab	0,209b	6/10	0,47	2/10	0/20	0/10	0/10
		5	203,3b	0,209b	0,198a	3/10	0,53	1/10	0/20	0/10	0/10
			121,8	0,219	0,167	17/40	0,35	8/40	0/80	7/40	0/30
3	10 ³	1	61,6b	0,185b	0,106b	5/10	0,27	2/10	0/20	9/10	nt
		2	93,9ab	0,266ab	0,175b	9/10	0,60	4/10	0/20	1/10	0/10
		3	107,2b	0,194b	0,211b	5/9	0,78	3/9	0/18	0/9	0/9
		5	236,7b	0,234bc	0,195a	3/10	0,23	1/10	0/20	0/10	0/10
			124,8	0,220	0,172	22/39	0,47	10/39	0/78	10/39	0/29
4	10 ⁴	1	58,3b	0,169b	0,098b	1/10	0,03	0/10	0/20	7/10	nt
		2	82,3b	0,265b	0,144b	10/10	0,83	1/10	0/20	0/10	1/10
		3	112,6ab	0,209b	0,223b	9/9	1,37	5/9	0/18	0/9	0/9
		5	225,1b	0,201b	0,234a	8/10	1,03	4/10	0/20	0/10	0/10
			119,6	0,211	0,175	28/39	0,82	10/39	0/78	7/39	1/29
Izolát ¹¹ K [%]			122,1	0,217	0,171	67/118 56,78	0,54	28/118 23,73	0/236 —	24/118 20,34	1/88 1,14

Vysvětlivky k tab. I a II — Explanatory notes to Tabs. I and II;

AGP = přítomnost MD-protilátek v séru; FF = přítomnost MDV-antigenu v peří; nt = netestováno — AGP = serum presence of MD-antibodies; FF = feather presence of MDV-antigen; nt = not tested

1. Hodnoty označené odlišnými písmeny se statisticky liší ve Studentově *t*-testu ($P < 0,05$) v rámci daného týdne po infekci -- Values denoted by different letters are statistically significant in Student's *t*-test ($P < 0,05$) within a given week after infection

2. Počet pozitivních/počet vyšetřovaných — The number of positive chickens/the number of examined chickens

For 1—11 see Tab. I

od infikovaných kuřat vyšetřeno 354 vzorků lymfatických orgánů a ve 114 případech (32,2 %) byly pozorovány mikroskopické morfologické známky imunosuprese. Průměrný index imunosuprese byl 0,54. Imunosupresivní změny byly zjištěny celkem u 67 infikovaných kuřat, tj. u 56,8 procenta.

DISKUSE

Infekce kuřat izolátem M se v pětitydenním testovacím období neprojevovala klinicky ani patomorfologicky vznikem nádorů. Patogenita izolátu posuzovaná na základě mikroskopických změn byla minimální — MD změny byly zjištěny u 33,6 % infikovaných kuřat; periferní nervy byly postiženy u 11 % kuřat. Frekvence těchto změn nebyla ovlivňována dobou po infekci ani velikostí infekční dávky izolátu M.

Izolát produkoval poměrně rychlou tvorbu precipitačních protilátek, jejichž přítomnost svědčí podle autorů Witter aj. (1987) také o tom, že izolovaný virus vlastní A-antigen. Virus se také rychle replikoval, což dokumentovala detekce precipitačního MDV-antigenu v péřových brcích kuřat již od 2. TPI. Zatímco incidence MDV-antigenu v peří alespoň mírně souvisela s velikostí infekční dávky, u MD-protilátek tato souvislost nebyla pozorována.

Imunosupresivní působení izolátu M na lymfatické orgány kuřat BrL mělo jen mírný charakter a bylo přechodného rázu. Na hmotnosti kuřat a relativní hmotnosti Fabriciovy burzy se neprojevovalo, pouze mikroskopické změny v lymfatických orgánech svědčily o určitém a krátkodobém imunopresivním vlivu. Splenomegalie, pozorována téměř u všech infikovaných kuřat, korelovala s virovou replikací (Calnek aj., 1970).

Rovněž infekce izolátem K se neprojevovala u kuřat klinicky ani patomorfologicky.

Patogenita izolátu K posuzovaná na základě mikroskopických MD změn byla ještě menší než u izolátu M — pouze u 23,7 % infikovaných kuřat byly zjištěny změny, přičemž periferní nervy nebyly postiženy. Frekvence změn byla jen částečně ovlivňována dobou po infekci, nikoliv však velikostí infekční dávky.

Nepřítomnost precipitačních MD-protilátek i virového antigenu v peří by mohla být způsobena pomalejším replikačním cyklem izolátu.

Imunosupresivní působení izolátu K v porovnání s izolátem M bylo větší. Pozorovali jsme snížení hmotnosti infikovaných kuřat v průměru o 20 % v porovnání s kontrolními kuřaty a také relativní hmotnost Fabriciovy burzy byla nižší v průměru o 16 %. Postižení lymfatických orgánů bylo výraznější a také více korelovalo s velikostí infekční dávky než u izolátu M.

Výsledky šetření v pokusech *in vivo* prokázaly, že izoláty M a K viru Markovy nemoci jsou neonkogenní a jen slabě patogenní pro vnímavá kuřata BrL za experimentálních podmínek.

Izolát M byl z hlediska indukce mikroskopických MD-specifických změn virulentnější, ale měl slabší imunosupresivní účinek. Izolát K způsoboval nepatrné a přechodné MD-specifické změny a jeho virulence spočívala spíše v imunosupresi organismu.

Literatura

- BIGGS, P. M. — PAYNE, L. N.: Transmission experiments with Marek's disease (fowl paralysis). *Veter. Rec.*, 75, 1963, s. 117—119.
- CALNEK, B. W. — HITCHNER, S. B. — ADLINDER, H. K.: Lyophilization of cell-free Marek's disease herpesvirus and a herpesvirus from turkeys. *Appl. Microbiol.*, 20, 1970, s. 723—726.
- EIDSON, C. S. — SCHMITTLE, S. C.: Studies on acute Marek's disease. I. Characteristics of isolate GA in chickens. *Avian Diseases*, 12, 1968, s. 467—476.
- FOREJTEK, P. — JURAIDA, V.: Použití precipitace v agarovém gelu při epizootologickém vyšetření chovů drůbeže. *Veter. Med. (Praha)*, 17, 1972, s. 295—299.
- HALOUZKA, R. — JURAIDA, V.: Morphological signs of immunosuppression in poultry. *Acta Veter. (Brno)*, 60, 1991, s. 271—276.
- HALOUZKA, R. — JURAIDA, V.: Izolace a studium biologických vlastností neoncogenních kuřecích herpesvirů Markovy nemoci. 3. Patomorfologické vyhodnocení imunosuprese. *Acta Veter. (Brno)*, 61, 1992, s. 43—49.
- JURAIDA, V. — HALOUZKA, R.: Izolace a studium biologických vlastností neoncogenních kuřecích herpesvirů Markovy nemoci. 1. Charakterizace *in vitro*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 s. 531—534.
- JURAIDA, V. — POSPIŠIL, Z. — POKORNÁ, B. — SALAJ, J.: Chráněnost kuřat proti Markově nemoci v laboratorních podmínkách po aplikaci čs. vakcíny Marvak a vakcíny dovážené z NDR. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 171—180.
- LUCIO, B. — HITCHNER, S. B.: Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing-antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Diseases*, 23, 1979, s. 466—478.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. Praha, SNTL 1965, 196 s.
- ROTH, Z. — JOSÍFKO, M. — MALÝ, V. — TRČKA, V.: Statistické metody v experimentální medicíně. Praha, SZN 1962, 592 s.
- WITTER, R. L. — SILVA, R. F. — LEE, L. R.: New serotype 2 and attenuated serotype 1 Marek's disease vaccine viruses: selected biological and molecular characteristics. *Avian Diseases*, 31, 1987, s. 829—840.
- WOERNLE, H.: The use of the agar-gel diffusion technique in the identification of certain avian virus diseases. *The Veterinarian*, 4, 1966, s. 17—28.

Došlo dne 2. 9. 1991

JURAIDA, V. — HALOUZKA, R. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Isolation and study of biological characteristics of nononcogenic chicken herpesviruses of Marek's diseases. Part II. In vivo characterization*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (9—10): 535—542.

In a previous paper (Jurajda and Halouzka, 1992) the *in vitro* isolation of two chicken herpesviruses of Marek's disease (M and K strains) was described and results of their characterization were presented. The present paper deals with the *in vivo* characterization of both isolates: pathogenicity and immunosuppressive characteristics of isolates were observed in a five-week test period, along with the development and production dynamics of antibodies and viral antigen in the feathers of experimentally infected chickens of the Brown Leghorn breed. A technique of double immunodiffusion in agar gel according to Ouchterlony, modified by Woernl (1966), was used to determine the presence of antibodies to Marek's disease virus (MDV) in blood serum and of precipitating MDV-antigen in feather quills of tested chickens. Isolate multiplication and titration were performed in a system of chicken embryonal fibroblasts (CEF) (Jurajda et al., 1984). Chickens were infected *i.m.* with three virus doses — 10^2 to 10^4 PFU per chicken while the dose 10^4 corresponded to the titre of 10,800 PFU/0.2 ml for M isolate and to the titre of 8,600 PFU/0.2 ml for K isolate. The nature and rate of regressive changes in lymphatic organs were determined according to criteria described by Halouzka and Jurajda (1991). The results are summarized in Tabs. I and II. Neither of the isolates evoked clinical or pathomorphological macroscopic symptoms of the disease. M isolate induced microscopic MD-specific changes in the peripheral nerves (of C type) and only moderate and transient signs

of immunosuppression in 11 % of infected chickens. On the other hand, K isolate did not affect peripheral nerves, but it reduced chicken weight and also the relative weight of bursa Fabricii, including stronger effects on the lymphatic organs of chickens. Both isolates were characterized as nononcogenic and only weakly pathogenic chicken herpesviruses of Marek's disease for sensitive chickens in experimental conditions.

Brown Leghorn chickens; immunosuppression; chicken weight; relative weight of bursa Fabricii

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Vladimír J u r a j d a, CSc., doc. MVDr. Roman H a l o u z k a, CSc.,
Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

SEZÓNŇÍ DYNAMIKA VÝSKYTU PARAZITŮ TRÁVICÍHO ÚSTROJÍ U KURA DOMÁCÍHO

J. Svoboda

SVOBODA, J. (Ministerstvo zemědělství ČR, Praha): *Sezónní dynamika výskytu parazitů trávicího ústrojí u kura domácího*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9–10): 543–547.

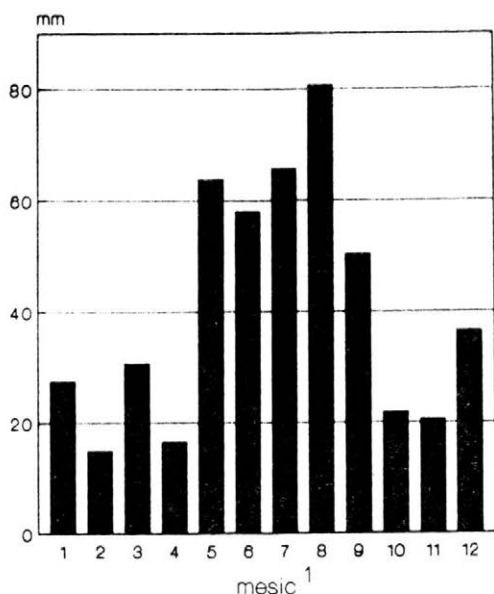
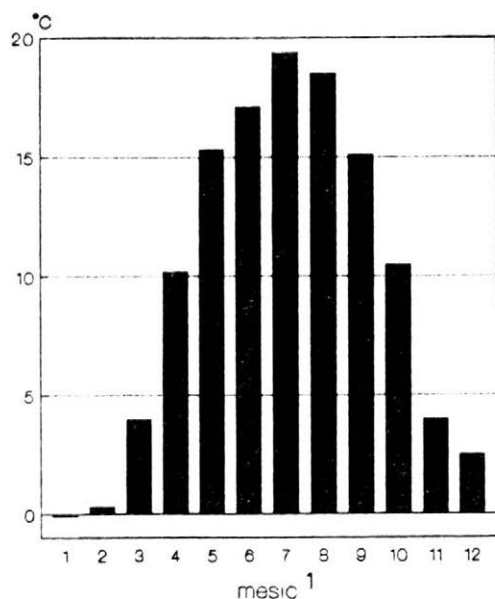
Analýza výskytu parazitů v souhrnu jednotlivých měsíců v letech 1986–1989 byla zaměřena na extenzitu invaze jednotlivých skupin parazitů trávicího ústrojí u kura domácího ve velkochovech a malochovech. Výskyt kokciidií *Eimeria* ve velkochovech kura domácího se pohyboval od hodnot přes 5 % pitvaných kusů v měsících květnu, červenci a listopadu až po 22 % v srpnu. Byla prokázána závislost výskytu kokciidií ve velkochovech na venkovní teplotě a srážkách v předchozím období. Hlístice *Heterakis gallinae* a *Capillaria* spp. byly diagnostikovány ojediněle v hodnotách nepřesahujících extenzitu invaze 2 % převážně ve druhé polovině roku po předchozím teplém období s vydatnou srážkovou činností. Z výsledků vyšetření kura domácího z malochovů vyplývá, že extenzita parazitůz trávicího ústrojí má sezónní charakter s nástupem v létě a kulminací na podzim. Zvýšený výskyt invaze kokciidií rodu *Eimeria* se začal projevovat už od dubna, u hlístic *Capillaria* spp. a *Trichostrongylus tenuis* a tasemnic (*Cestoda*) v červenci a u roupů *H. gallinae* v srpnu.

kur domácí; paraziti trávicího ústrojí; sezónní dynamika

Invadovanost zvířat kokciidiemi má vzestupný trend na jaře, u některých druhů zvířat i na podzim (Jurášek, 1987). Heterakidóza dosahuje maximum extenzity v dubnu a květnu a v září a říjnu (Schmidt a Roberts, 1981). Podle údajů, které uveřejnili Boch a Supper (1977), začíná počet kapilárií postupně narůstat v květnu, kulminuje v červnu a od konce srpna se opět začíná snižovat. Askaridióza je nejčastější v červnu až říjnu (Jurášek, 1987). Skrjabin (1966) zjišťoval u drůbeže maximum extenzity invaze tasemnicemi na podzim, zejména po vydatných srážkách.

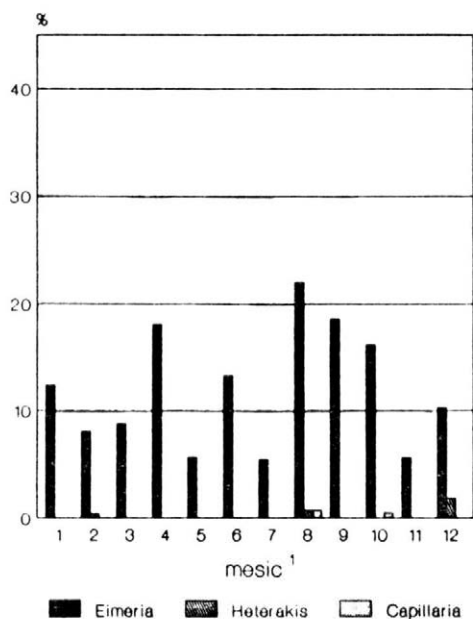
MATERIÁL A METODY

Z velkochovů bylo v roce 1986 vyšetřeno 536 kusů kura domácího, 411 kusů v roce 1987, 475 kusů v roce 1988 a 484 kusů v roce 1989. Vyšetření bylo prováděno u všech věkových kategorií kura domácího z velkochovů okresů Praha-západ, Kladno, Benešov, Beroun a Příbram, využívajících většinou klecových technologií, ale i technologií s hlubokou podestýlkou. Z malochovů bylo vyšetřeno 206 kusů v roce 1986, 146 kusů



1. Průměrné teploty a srážky v jednotlivých měsících v letech 1986–1989 — Average temperatures and rainfall sums in individual months of the years 1986–1989

¹ month



2. Nálezy kokciidií, *H. gallinae* a *Capillaria* spp. u kura domácího z velkochovů v jednotlivých měsících v letech 1986–1989 — Findings of *Coccidia*, *H. gallinae* and *Capillaria* spp. in domestic fowl kept on large farms in individual months of the years 1986–1989

¹ month

v roce 1987, 146 kusů v roce 1988 a 174 kusů v roce 1989. Postupovali jsme podle metodik používaných při parazitologických vyšetřeních ve veterinárních ústavech (Kolektiv, 1975, 1988).

Údaje o průměrné měsíční teplotě a srážkách byly získány z Hydrometeorologického ústavu v Praze 6-Suchbátě (obr. 1).

Výskyt kokciidií ve velkochovech byl v jednotlivých měsících roku nevyrovnaný. Byly diagnostikovány druhy *Eimeria acervulina*, *E. mitis*, *E. praecox*, *E. tenella*, *E. maxima* a *E. brunetti*. Kapilárie a roupí byli ve velkochovech diagnostikováni pouze ojediněle v nízké extenzitě, a to jen u kura domácího odchovávaného na hluboké podestýlce (obr. 2).

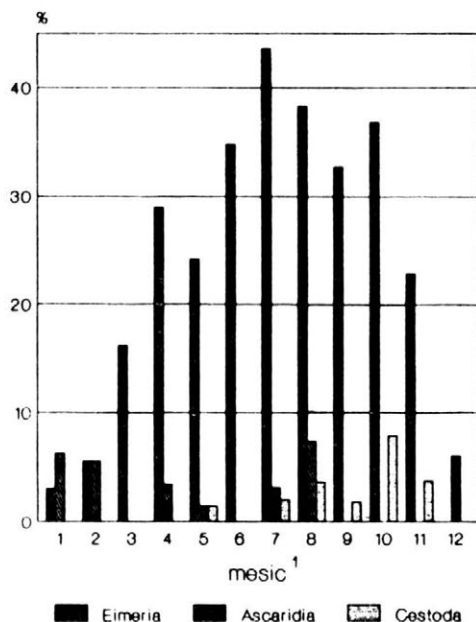
V malochovech dochází na jaře k vzestupu extenzity výskytu kokciidií s kulminací v červnu až říjnu. Oproti velkochovům byla navíc diagnostikována *E. necatrix*, a to především u vyšších věkových kategorií. Maximální extenzita výskytu roupů *Heterakis gallinae* byla v malochovech zjišťována v říjnu a listopadu, u kapilárií druhů *Capillaria caudinflata*, *C. retusa* a *C. annulata* od července do října. Škrkavky *Ascaridia galli* byly nalézány pouze v měsících lednu, únoru, dubnu, květnu, červenci, srpnu a v prosinci. *Trichostrongylus tenuis* byl diagnostikován sporadicky, a to pouze v únoru, červenci a září až listopadu. Tasemnice byly nalézány také sporadicky, a to jen v květnu a v červenci až listopadu (obr. 3 a 4). Jednalo se o druhy *Davainea proglottina*, *Hymenolepis* spp., *Choanotaenia infundibulum* a *Railletina cesticillus*.

DISKUSE

Výskyt kokciidií ve velkochovech byl během roku nevyrovnaný ve srovnání s jeho daleko vyhraněněji sezónním průběhem v malochovech. Vyšší hodnoty extenzity invaze začátkem podzimu odpovídají nálezům Juráška (1987).

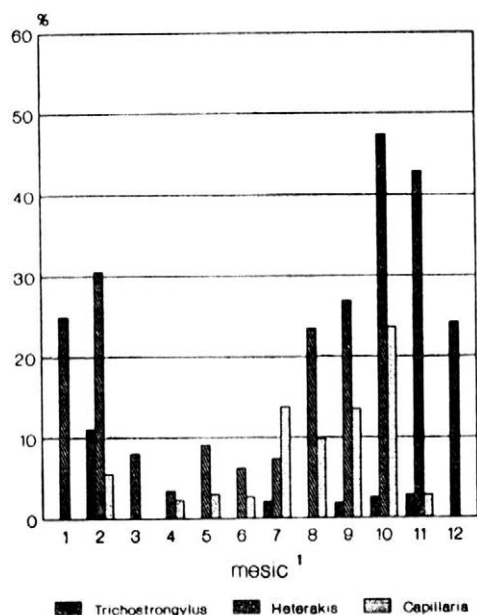
Období sporadického výskytu roupů a kapilárií ve velkochovech se kryje s obdobím kulminující extenzity těchto helmintů v malochovech.

Na rozdíl od Juráška (1987) byl zjištěn vzestup invadovanosti kura domácího v malochovech kokciidiemi od začátku léta do podzimu. To



3. Nálezy kokciidií, *A. galli* a tasemnic u kura domácího z malochovů v jednotlivých měsících v letech 1986 až 1989 — Findings of *Coccidia*, *A. galli* and tapeworms in domestic fowl kept on small farms in individual months of the years 1986–1989

¹ month



4. Nálezy *H. gallinae*, *Capillaria* spp. a *T. gylus tenuis* u kura domácího z malochovů v jednotlivých měsících v letech 1986–1989 — Findings of *H. gallinae*, *Capillaria* spp. and *T. tenuis* in domestic fowl kept on small farms in individual months of the years 1986–1989

¹ month

odpovídá dřívějšímu nástupu parazita, krátkému vývojovému cyklu a krátké době sporulace. V souladu s Rommelem (1987) byla zjištěna závislost výskytu kokcidiózy na teplých deštivých dnech (obr. 1).

Nejnižší extenzita výskytu roupů byla zjištěna na rozdíl od autorů Schmidt a Roberts (1981) v březnu a červenci. Titíž autoři udávají vrchol podzimní invadovanosti na září až říjen. V této práci byla zjištěna nejvyšší extenzita v říjnu a listopadu.

Maximální extenzita invaze kapilárií koreluje s nálezy Bocha a Supperera (1977), kteří uvádějí maximální výskyt kapilárií od období léta do podzimu.

Podzimní výskyt *Trichostrongylus tenuis* nepochybně souvisí s předchozími příznivými podmínkami pro vývoj hlístice.

Vzhledem k nepravidelným nálezům škrkavek u drůbeže během celého roku nebyla prokázána významná závislost mezi meteorologickými vlivy a zvýšenou extenzitou invaze.

Nejvyšší extenzita invaze tasemnic byla v souladu se Skrjabinem (1966) zjišťována na podzim.

Literatura

- BOCH, J. — SUPPERER, H.: Veterinärmedizinische Parasitologie. Berlin und Hamburg, Verlag Paul Parey 1977, 517 s.
- KOLEKTIV: Laboratorní vyšetřovací metodiky. Praha, ÚSVÚ 1975, 614 s.
- KOLEKTIV: Veterinárne laboratorne metodiky. Parazitológia. Bratislava, ŠVS SSR, SVS ČSR, 1989, 169 s.
- JURÁŠEK, V.: Parazitológia a invázne choroby. Bratislava, Príroda 1987, 349 s.
- ROMMEL, M.: Prophylaxe und Therapie der Kokcidiose des Geflügels. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 100, 1987, č. 8, s. 270–272.
- SCHMIDT, C. D. — ROBERTS, S. L.: Foundations of parasitology. St. Louis, the C. V. Mosby Company 1981, 795 s.
- SKRJABIN, K. I. a kol.: Osnovy cestodologii, tom I–VI, Moskva, Izdatel'stvo AN SSSR 1954–1966.

Došlo dne 24. 1. 1992

The extensity of digestive tract infection with different parasites in domestic fowl kept on large and small farms was diagnosed in individual months of the years 1986—1989. The obtained results were confronted with the values of average monthly temperatures and rainfall sums in individual months of the above-mentioned period. The numbers of birds examined in individual months of the years 1986—1989 were as follows: 105 to 234 from large farms and 32 to 112 from small farms. The numbers of examined chicks from small farms were lowest in winter, and on the other hand highest in summer. The numbers of examined fowl from large farms varied from month to month. Particularly *Coccidia* (average extensity 12.1 %), scarcely *Heterakis gallinae* (0.2 %) and *Capillaria* spp. (0.1 %) were detected in birds kept on a large scale. The occurrence of *Coccidia* fluctuated from 5 % in birds dissected in May, July and November to 22 % in birds dissected in August. *H. gallinae* and *Capillaria* spp. occurred rarely, namely in the second half of the year after warm and rainy periods (Figs. 1 and 2). The occurrence of gastrointestinal parasites in domestic fowl kept on small farms is variable within the year while the change begins in summer and culminates in autumn after warm and rainy months. Only following the sporulation of larger numbers of oocysts, or the maturation of larger numbers of eggs or cysticercoids their pathogenicity can play a key role while their concentrations in the environment are increasing. Hence parasitoses begin to appear after the rise of temperatures and rainfall. The *Coccidia* infection showed a rising tendency since April, the *Capillaria* spp., *Trichostrongylus tenuis* and tapeworm infection since July and the *H. gallinae* infection since August. The *Coccidia* infection culminated in July. This was the result of the earlier occurrence of *Coccidia* parasites, their short life cycle, short time of sporulation, and it was also due to the fact that the higher number of 3 to 10 weeks old chickens which are the most sensitive of all age categories was examined. The *Ascaridia galli* infection culminated in August, the *H. gallinae*, *Capillaria* spp. and tapeworm infection in October, and the nematode *Trichostrongylus tenuis* infection in November (Figs. 3 and 4). Hence the warm and rainy weather has positive effects on the development of parasites in fowl kept on a small scale.

domestic fowl; gastrointestinal parasites; seasonal dynamics

Adresa autora:

MVDr. Jiří S v o b o d a, Ministerstvo zemědělství ČR, odbor 230, Těšnov 17,
110 00 Praha 1

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 4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojité mezery). Ilustrace, grafy, tabulky 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 číslicí 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, proč 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 kdokoli 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 nedostacích 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 zkratky.

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.

VYUŽITIE MONOKLONÁLNYCH PROTILÁTKOVI PROTI ĽUDSKÝM HLA II ANTIGÉNOVI NA DETEKCIU BOVINNÝCH B LYMFOCYTOVI A MAKROFÁGOVI

R. Dušínský, M. Simon, J. Ujházyová, K. Poláková

DUŠINSKÝ, R. — SIMON, M. — UJHÁZYOVÁ, J. — POLÁKOVÁ, K. (Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, Ivanka pri Dunaji; Ústav experimentálnej onkológie SAV, Bratislava): *Využitie monoklonálnych protilátok proti ľudským HLA II antigénom na detekciu bovinných B lymfocytov a makrofágov*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 549—554.

Krížová reaktivita 9 myších monoklonálnych protilátok určujúcich ľudské HLA-DR a HLA-DP antigény bola testovaná nepriamym imunofluorescenčným a cytotoxickým testom s rôznymi typmi bovinných buniek a so separovanými antigenmi lymfocytov pomocou SDS-PAGE a prenesenými na nitrocelulóзовú membránu. Protilátky Bra13, Bra14, Bra20, Bra22, Bra30, Bra70, HL-38 špecifické pre HLA-DR antigény reagovali s bovinnými B lymfocytmi a monocytmi, ale nie s T lymfocytmi. Na izolovaných bovinných membránových antigenoch bol získaný imunoblottingom podobný reakčný vzor ako na ľudských antigenoch. Tieto protilátky rozoznávajú analogické bovinné antigenne štruktúry na BoLA-DR molekulách ako na ľudských bunkách. Protilátky Bra38 a BraFB6 nereagovali v žiadnom teste s bovinnými antigenmi. Usudzujeme preto, že epitop definovaný protilátkou Bra38 (HLA-DR) pri hovädzom dobytku chýba. Rovnako, prítomnosť analogickej štruktúry HLA-DP definovanej s BraFB6 nebola potvrdená. Štúdané monoklonálne protilátky vykazujúce krížovú reaktivitu môžu byť využité vo veterinárnej imunodiagnostike na detekciu makrofágov a B lymfocytov.

dobytok; monoklonálne protilátky; krížová reaktivita; MHC antigény; B lymfocyty; makrofágy

Monoklonálne protilátky (MP) na určovanie antigenov bunkového povrchu sú užitočné pre štúdium bunkovej diferenciácie a pre enumeráciu rôznych populácií buniek pri normálnych a patologických stavoch. Použitie MP je preto opodstatnené aj vo veterinárnej imunológii a diagnostike.

Medzi dobre definované povrchové štruktúry bunkových membrán patria antigény hlavného histokompatibilného komplexu (MHC). MHC antigény triedy II človeka sú kódované z viacerých lokusov, z ktorých sú najlepšie definované lokusy HLA-DR, HLA-DP, HLA-DQ. Na rozdiel od antigenov triedy I sa antigény triedy II vyznačujú aj odlišnou tkanivovou distribúciou a sú exprimované najmä na B lymfocytoch, makrofágoch a stimulovaných T lymfocytoch (Bach, 1958).

Vzhľadom na podobnosť štruktúry MHC rôznych druhov monoklonálne protilátky proti HLA antigénom často krížovo reagujú s bovinými bunkami (Chardon a i., 1983; Spooner a Ferone, 1984; Janzer-Pfeil a Splitter, 1989). V porovnaní s ľudským MHC existuje doposiaľ len niekoľko MP primárne získaných proti boviným MHC antigénom. Krížovo reagujúce MP by mohli byť využité na odhaľovanie analogických štruktúr bovinného MHC (BoLA) a diferenciáciu subpopulácií boviných lymfocytov.

Cieľom tejto práce bolo preskúmať krížovú reaktivitu dobre definovaných a v ČSFR dostupných MP proti antigénom HLA-DR a HLA-DP s bovinými bunkami a so separovanými membránovými antigenmi.

MATERIÁL A METÓDY

Séria 8 MP označených prefixom Bra bola pripravená po imunizácii s ľudskými lymfoblastickými leukemickými bunkami REH v Ústave experimentálnej onkológie SAV Bratislava (Poláková a i., 1985). Protilátka HL-38 bola získaná v Ústave molekulárnej genetiky ČSAV Praha. Základná charakteristika týchto MP je uvedená v tab. I.

Lymfocyty z periférnej krvi boli izolované s použitím hustotného gradientu Vero-grafínu (Simon a i., 1984). Po získaní lymfocytov boli z tohoto gradientu odobrané aj granulocyty a trombocyty. T a B lymfocyty sa separovali „panning“ metódou (Wysocki a Sato, 1978), ktorá bola modifikovaná tak, že B lymfocyty adherovali na plastikové Petriho misky bez použitia lektínov. Lymfocyty z lymfatických uzlín boli získané po disociácii orgánu. Monocyty sa získali z periférnej krvi po ich adhezii na plastikové Petriho misky pokryté fetálnym tefacím sérom (Kumagai a i., 1979). Krv a lymfatické uzliny použité na izoláciu buniek boli získané od zvierat zabíjajúcich na bitúnku.

Použité testy na detekciu antigénov:

- Štandardný mikrolymfocytotoxický test (Terasaki a McClelland, 1964).
- Nepriamy imunofluorescenčný test s použitím prasacieho antimýšieho imunoglobulínu konjugovaného s FITC (SWAM/FITC, SEVAC Praha), (Boucheix a i., 1983).
- Imunoblot: Bunkový lyzát lymfocytov obsahujúci membránové frakcie bol inkubovaný s 2-merkaptotanolom a SDS pri izbovej teplote 1 h, alebo pri teplote 100 °C 2 min. Ďalej bol separovaný na 10% polyakrylamidovom géli (Laemmli, 1970). Vzorky boli elektroforeticky prenesené z gélu na nitrocelulóзовú membránu (Sartorius, 0,45 µm) polosuchou metódou (Kyhse-Andersen, 1984). Po inkubácii s MP boli nitrocelulóзовé prúžky inkubované s prasacím antimýšim imunoglobulínom konjugovaným s peroxidázou (SWAM/Px, SEVAC Praha). Na vizualizáciu naviazania MP bol použitý 4-chloro-1-naftol.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Reaktivita myších monoklonálnych protilátok určujúcich HLA-DR, HLA-DP antigény (tab. 1) bola sledovaná nepriamym imunofluorescenčným testom s bovinými lymfocytmi z lymfatických uzlín, periférnej krvi, s lymfocytmi separovanými podľa ich schopnosti adherovať na plastikový povrch, ďalej s monocytmi, granulocytmi a trombocytmi. Okrem toho bola zisťovaná reaktivita MP v mikrolymfocytotoxickom teste na adherujúcich (B) a neadherujúcich (T) lymfocytoch. Väčšina testovaných MP proti HLA-DR antigénom reagovala s bovinými B lymfocytmi a monocytmi a nie s ostatnými typmi buniek (tab. II, III, IV). Podiel buniek reagujúcich s týmito MP v imunofluorescenčnom teste koreloval s počtom buniek majúcich povrchový imunoglobulín. Takáto tkanivovo špecifická krížová reaktivita ukazuje na homologické antigenne štruktúry u oboch druhov. Výnimkou bola protilátka Bra38, ktorá na ľudských bunkách rozoznáva rovnaké antigenne miesto na DR molekule ako protilátka Bra30 (Poláková a Karpátová, 1990). Protilátka Bra38

I. Charakteristika monoklonálnych protilátok — Characteristics of monoclonal antibodies

Monoklonálne protiľátky (MP) ¹	Izotyp ²	Reaktivita s HLA-D, reťazce ³
Bra13	IgG3	DR + DP β
Bra14	IgG3	DR + DP β
Bra20	IgG2b	DR α, β
Bra22	IgG1	DR + DP β
Bra30	IgG2a	DR α, β
Bra38	IgG1	DR α, β
Bra70	IgG3	DR + DP β
BraFB6	IgG2b	DP β
HL-38	IgG2a	DR + DP β

¹ monoclonal antibodies (MP), ² isotype, ³ reactivity with HLA-D, chains

II. Reaktivita monoklonálnych protilátok — Reactivity of monoclonal antibodies in cytotoxic test

Monoklonálne protiľátky (MP) ¹	Ľudské lymfocyty ²		Reaktivita MP ³ [%]	
			bovinné lymfocyty ⁴	
	B	T	adherujúce ⁵ (B)	neadherujúce ⁶ (T)
Bra13	NT	NT	+	—
Bra14	NT	NT	+	—
Bra20	+	—	+	—
Bra22	+*	—	—	—
Bra30	+	—	+	—
Bra38	NT	NT	—	—
Bra70	+	—	+	—
BraFB6	+	—	—	—
HL-38	+	—	+	—

Reakcie MP na ľudských lymfocytoch sú prevzaté z práce Chorváth a i. (1987); + pozitívna reakcia (lýza buniek) — negatívna reakcia, * reakcia bola pozitívna i v neprítomnosti komplementu; NT — netestované — MP reactions on human lymphocytes are taken over from the paper written by Chorváth et al. (1987); + positive reaction (cell lysis), — negative reaction, * reaction was positive also in complement absence; NT — not tested

¹ monoclonal antibodies (MP), ² human lymphocytes, ³ MP reactivity, ⁴ bovine lymphocytes, ⁵ adherent, ⁶ nonadherent

však nereagovala s bovinými bunkami. Krížová reaktivita testovaných monoklonálnych protilátok potvrdzuje jav pozorovaný inými autormi, že niektoré protiľátky proti HLA II antigénom nevykazujú krížovú reaktivitu s bovinými bunkami (Brodsky a i., 1981; Janzer-Pfeil a Splitter, 1989). Štruktúrna podobnosť ľudského a boviného MHC bola dokázaná pomocou krížovej reaktivity monoklonálnych protilátok,

III. Reaktivita monoklonálnych protilátok v nepriamom imunofluorescenčnom teste/a — Reactivity of monoclonal antibodies in an indirect immunofluorescence test/a

Monoklonálne protilátky (MP) ¹	Ľudské bunkové línie ²		Reaktivita MP ³ [%]			
			bovinné lymfocyty ⁴			
	B	T	lymfatická uzlina ⁵	periferná krv ⁶	odherujúce (B) ⁷	neadherujúce ⁸ (T)
Bra13	>90	—	32,8 ± 6,2	26,7 ± 7,3	82,7 ± 7,5	5,8 ± 3,6
Bra14	>90	—	28,6 ± 7,5	20,2 ± 6,2	89,9 ± 7,1	8,3 ± 3,4
Bra20	>90	—	24,3 ± 6,8	28,6 ± 7,5	92,4 ± 8,2	4,2 ± 2,9
Bra22	>90	—	21,9 ± 7,1	19,7 ± 6,1	80,1 ± 7,6	5,4 ± 3,6
Bra30	>90	—	28,9 ± 8,2	20,7 ± 7,6	95,3 ± 4,5	6,1 ± 3,8
Bra38	>90	—	—	—	—	—
Bra70	>90	—	29,8 ± 6,5	27,4 ± 6,6	92,3 ± 7,4	4,5 ± 2,5
BraFB6	>90	—	—	—	—	—
HL-38	>90	—	27,4 ± 6,7	25,7 ± 5,4	88,4 ± 8,7	6,2 ± 3,2
SwAB/FITC			24,5 ± 5,3	27,8 ± 6,4	89,6 ± 5,3	5,7 ± 3,1

Reakcie MP na ľudských bunkových líniách sú prevzaté z prác Poláková a i., 1985; Chorváth a i., 1985; Hořejší a i., 1986; hodnoty reaktivity sú uvedené ako aritmetické priemery a smerodajná odchýlka z 10 zvierat; SwAB/FITC — prasací antiimunoglobulín proti bovinnému Ig — MP reactions on human cell lines have been taken over from the papers by Poláková et al., 1985; Chorváth et al., 1985; Hořejší et al., 1986; reactivity values are presented as arithmetical means and standard deviation for 10 animals SwAB/FITC — swine antiimmunoglobulin against bovine Ig

For 1—4 see Tab. II; ⁵ lymphatic node, ⁶ peripheral blood, ⁷ adherent, ⁸ nonadherent

IV. Reaktivita monoklonálnych protilátok v nepriamom imunofluorescenčnom teste/b — Reactivity of monoclonal antibodies in an indirect immunofluorescence test/b

Monoklonálne protilátky (MP) ¹	Ľudské B lymfocyty ²	Reaktivita MP ³ [%]			
		bovinné ⁴			
		B lymfocyty ⁵	monocyty ⁶	granulocyty ⁷	trombocyty ⁸
Bra13	+	+	+	—	—
Bra14	++	++	+	—	—
Bra20	++	+	+	—	—
Bra22	++	++	++	—	—
Bra30	++	++	++	—	—
Bra38	++	—	—	—	—
Bra70	+	+	+-	—	—
BraFB6	+	—	—	—	—

For 1—3 see Tab. II; ⁴ bovine, ⁵ B lymphocytes, ⁶ monocytes, ⁷ granulocytes, ⁸ trombocytes

ako aj prítomnosťou homologických úsekov DNA v oblasti DR a DQ génov (Andersson a i., 1986a, b; Andersson a Rask, 1988). Napriek tejto podobnosti MHC molekuly vykazujú značnú komplexnosť, z čoho môže vyplývať absencia krížových reakcií niektorých monoklonálnych protilátok. Zdá sa, že analogické DP gény nie sú prítomné pri

hovädzom dobytku. Naznačujú to výsledky RFLP analýzy (Andersson a Rask, 1988), ako aj chýbanie krížovej reakcie monoklonálnej protilátky detekujúcej HLA-DP antigény (Janzer-Pfeil a Splitter, 1989). Absenciu analogickej štruktúry DP molekúl pri hovädzom dobytku podporuje aj negatívna reakcia MP BraFB6 s bovinými lymfocytmi.

Protílátky séria Bra sa vyznačovali rôznou reaktivitou s bovinými antigénmi separovanými pomocou SDS-PAGE a prenesenými na nitrocelulózovú membránu. Protílátky Bra13, Bra14, Bra22 a Bra30 reagovali s antigénom ($M_r = 50, 1 \text{ kDa}$), keď vzorka nebola varená pred elektroforézou. Na druhej strane, ak boli vzorky tepelne opracované, reakcia nastala len pri MP Bra13, Bra14 a Bra22 s ľahkým reťazcom (β , 28,3 kDa). Antigénne miesto určované protílátkou Bra30 ($\alpha + \beta$) je citlivé na tepelnú denaturáciu a dá sa predpokladať, že je závislé na konformácii alebo asociácii ľahkých a ťažkých reťazcov MHC II molekúl. Pri MP Bra20, Bra70, Bra38 a BraFB6 metódou imunoblotu neboli zaznamenané žiadne reakcie. Negatívne reakcie Bra38 a BraFB6 takto korelujú s výsledkami v imunofluorescenčnom a cytotoxickom teste, pri Bra20 a Bra70 však predpokladáme na základe údajov v tab. IV slabú reaktivitu s antigénom.

Reakcie MP so separovanými bovinými antigénmi boli z hľadiska molekulovej hmotnosti a citlivosti antigénu na denaturačné podmienky podobné ako pri ľudských antigénoch (Poláková a Karpátová, 1990). To nasvedčuje tiež tomu, že 6 zo 7 protílátok rozoznáva boviné antigénne štruktúry analogické HLA-DR.

Molekuly MHC triedy II patria medzi hlavné povrchové znaky B lymfocytov a monocytov (makrofágov). Monoklonálne protílátky určujúce tieto štruktúry môžu byť využité na detekciu makrofágov a B lymfocytov vo veterinárnom výskume a v klinickej praxi.

Literatúra

- ANDERSSON, L. — RASK, L.: Characterization of the MHC class II region in cattle. The number of DQ genes varies between haplotypes. *Immunogenetics*, 27, 1988, s. 110—120.
- ANDERSSON, L. — BOHME, J. — PETERSON, P. A. — RASK, L.: Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes. 2. Polymorphism of DR genes and linkage disequilibrium in the DQ-DR region. *Anim. Genet.*, 17, 1986a, s. 295—304.
- ANDERSSON, L. — BOHME, J. — RASK, L. — PETERSON, P. A.: Genomic hybridization of bovine class II major histocompatibility genes. 1. Extensive polymorphism of DQ α and DQ β genes. *Anim. Genet.*, 17, 1986b, s. 95—112.
- BACH, F.: The HLA class II genes and products: The HLA-D region. *Immunology Today*, 6, 1985, s. 89—94.
- BOUCHEIX, C. — PERROT, J. Z. — MIRSHAHI, M. — BERNADOU, A. — ROSENFELD, C.: A rapid method for detection of membrane antigens by immunofluorescence and its application to screening hybridoma antibodies. *J. Immunol. Meth.*, 57, 1983, s. 145—150.
- BRODSKY, f. m. — STONE, W. H. — PARHAM, P.: Of cow and men: A comparative study of histocompatibility antigens. *Hum. Immunol.*, 3, 1981, s. 143—152.
- HOŘEJŠÍ, V. — NĚMEC, B. — ANGELISOVÁ, P. — KRIŠTOFOVÁ, H. — GORGA, J. C. — HILGERT, I.: Characterization of seven new monoclonal antibodies against human DR, DR + DP and DQ1 + DQ3 antigens. *Tissue Antigens*, 28, 1986, s. 288—297.
- CHARDON, P. — KALIL, J. — LEVEZIEL, H. — COLOMBANI, J. — VAIMAN, M.: Monoclonal antibodies to HLA recognize monomorphic and polymorphic epitopes on BoLA Tissue Antigens, 22, 1983, s. 62—71.
- CHORVÁTH, B. — POLÁKOVÁ, K. — DURAJ, J. — SEDLÁK, J. — KARPATOVÁ, M. — BABUŠÍKOVÁ, O. — UJHÁZY, P.: Hemopoietic cell line distribution and immunoprecipitation of cell surface proteins recognized by two newly prepared monoclonal antibodies

- elicited by a human non-T, non-B leukemia cell line. *Neoplasma*, 32, 1985, s. 649—656.
- CHORVÁTH, B. — DURAJ, J. — SEDLÁK, J. — PLEŠKOVÁ, I. — MUÑOZOVÁ, H. — BUC, M.: Supplementary characteristics of anti-MHC class II monoclonal antibodies elicited by an ALL cell line. *Neoplasma*, 34, 1987, s. 417—425.
- JANZER-PFEIL, A. M. — SPLITTER, G. A.: Identification of two independent MHC class II antigens in a bovine lymphoblastoid cell line. *Veter. Immunol. Immunopathol.*, 22, 1989, s. 307—319.
- KUMAGAI, K. — ITOH, K. — HINUMA, S. — TADA, M.: Pretreatment of plastic petri dishes with fetal calf serum. A simple method for macrophage isolation. *J. Immunol. Methods*, 29, 1979, s. 17—25.
- KYHSE-ANDERSEN, J.: *J. Biochem. Biophys. Meth.*, 10, 1984, s. 203.
- LAEMMLI, U. K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 1970, s. 680—685.
- POLÁKOVÁ, K. — CHORVÁTH, B. — SEDLÁK, J. — DURAJ, J. — MAŤOŠKA, J. — KARPATOVÁ, M.: Monoclonal antibodies against MHC class II antigens elicited with a human non-T, non-B acute lymphoblastic leukemia cell line. *Neoplasma*, 32, 1985, s. 641—648.
- POLÁKOVÁ, K. — KARPATOVÁ, M.: Study of monomorphic determinants on DR molecules of HLA class II antigens. *Neoplasma*, 37, 1990, s. 239—251.
- SIMON, M. — ABRHÁMOVÁ, D. — DUŠINSKÝ, R. — BOĎA, K.: Cytotoxické protilátky proti lymfocytárnym antigénom hovädzieho dobytku. *Veter. Med. (Praha)*, 29, 1984, s. 449—456.
- SPOONER, L. — FERRONE, S.: Cross reaction of monoclonal antibodies to human MHC class I and class II products with bovine lymphocyte subpopulations. *Tissue Antigens*, 24, 1984, s. 270—277.
- TERASAKI, P. I. — MCCLELLAND, J. D.: Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature*, 204, 1964, s. 998—1000.
- WYSOCKI, L. J. — SATO, V. J.: „Panning“ for lymphocytes: A method for cell selection. *Proc. Nat. Acad. Sci., U.S.A.*, 75, 1978, s. 2844—2849.

Došlo dňa 19. 11. 1991

DUŠINSKÝ, R. — SIMON, M. — UJHÁZYOVÁ, J. — POLÁKOVÁ, K. (Institute of Animal Biochemistry and Genetics Slovak Academy of Sciences, Ivanka pri Dunaji; Institute of Experimental Oncology, Slovak Academy of Sciences, Bratislava): *Use of monoclonal antibodies to human HLA II antigens for the detection of bovine B lymphocytes and macrophages*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (9—10): 549—554.

The crossreactivity of mouse monoclonal antibodies (MoAbs) (Tab. I) prepared against human HLA-DR and HLA-DP antigens was studied in various bovine cells: lymphocytes from lymph nodes and peripheral blood, adherent (B) and nonadherent (T) lymphocytes, monocytes, granulocytes and platelets. In the immunofluorescence test, MoAbs Bra13, Bra14, Bra20, Bra22, Bra30, Bra70, HL-38 reacted with bovine B lymphocytes and monocytes, but not with other tested cells (Tab. III, IV). These antibodies, except Bra22, were positive with B lymphocytes in the complement dependent cytotoxic test (Tab. II). The similarity of the bovine antigens and HLA-DR antigens determined by used MoAbs was also proved by immunoblotting. Monoclonal antibodies Bra38 and BraFB6 did not react with the bovine cells and separated antigens. The epitope (HLA-DR) recognized by the antibody Bra38 is probably absent in cattle. The presence of HLA-DP analogue determined by the antibody BraFB6 has not been confirmed. The crossreactive MoAbs could be used for the detection of B lymphocytes and macrophages in veterinary immunology.

cattle; monoclonal antibodies; crossreactivity; MHC antigens; B lymphocytes; macrophages

Adresy autorov:

RNDr. Roman Dušinský, CSc., ing. Michal Simon, CSc., ing. Jana Ujháziová, Ústav biochémie a genetiky živočíchov SAV, 900 28 Ivanka pri Dunaji
RNDr. Katarína Poláková, CSc., Ústav experimentálnej onkológie SAV, Špitálska ul. 21, 812 32 Bratislava

HYDROLÝZA CELULÓZY ENZÝMOVÝM KOMPLEXOM Z TRÁVIACEJ ŠŤAVY SLIMÁKA ZÁHRADNÉHO (*HELIX POMATIA*)

J. Smutný, M. Kriváňová, I. Zelenák, J. Feješ

SMUTNÝ, J. — KRIVÁŇOVÁ, M. — ZELENÁK, I. — FEJEŠ, J. (Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice): *Hydrolýza celulózy enzýmovým komplexom z tráviacej šťavy slimáka záhradného (Helix pomatia)*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 555—560.

V práci je uvedená metodika na sledovanie hydrolýzy celulózy v rastlinných krmivách pomocou enzýmového komplexu z tráviacej šťavy slimáka záhradného (EHP). Rýchlosť reakcie bola sledovaná meraním množstva vznikajúcich redukujúcich cukrov metódou podľa Somogyiho a Nelsona. Optimálne pH účinku vo fosfátovom tlmivom roztoku bolo veľmi ploché medzi 5 až 7. Vzhľadom na fyziologické podmienky hydrolýzy u zvierat a na zameranie práce sa pracovalo pri pH 7. V práci bola sledovaná závislosť hydrolýzy celulózy od množstva enzýmu a formy substrátu (celulóza) a časová závislosť hydrolýzy.

Helix pomatia; hydrolýza celulózy

Pri využití objemových krmív hospodárskymi zvieratami má významnú úlohu odbúravanie celulózy. Len rozrušením lignocelulóзовých bunecných stien môže dôjsť k ekonomickému využitiu aj ostatných látok, prítomných v rastlinných krmivách. U živočíchov, ktorí sa živia rastlinnou potravou, je odbúravanie celulózy zabezpečené celulolytickými baktériami, prítomnými v tráviacom systéme.

Celulolytická aktivita a niektoré ďalšie hydrolázy sú prítomné v žalúdočnej šťave slimáka záhradného. Tento enzýmový komplex sa s úspechom používa na degradáciu bunecných stien kvasiniek a nižších húb pri génových manipuláciách (Hinnen a i., 1978; Case a i., 1979). Vychádzajúc z jeho doteraz známeho zloženia možno predpokladať, že tento enzýmový komplex by mohol zlepšiť stráviteľnosť netradičných krmív (napr. piliny), preto sme sa pokúsili vypracovať metodiku na sledovanie jeho účinkov v nich.

V tejto práci predkladáme metodiku sledovania celulolytickej aktivity enzýmového komplexu z tráviacej šťavy slimákov *H. pomatia* (EHP), využiteľnú na uvedený účel.

MATERIÁL A METÓDY

Všetky použité chemikálie boli od firmy Lachema Brno, okrem kryštalickej celulózy (Bukóza Vranov) a enzýmového komplexu z tráviacej šťavy slimáka záhradného

(EHP), ktorý bol vyrobený v našom laboratóriu podľa návodu z Ústavu biochémie a genetiky živočíchov SAV v Bratislave, resp. komerčný od firmy Boehringer Mannheim, ktorý sa predáva pod názvom Protoplast forming enzyme.

Pre enzýmovú reakciu sme ako substrát použili 5% suspenziu kryštalickej celulózy v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku. Jeho pH sme zvolili podľa rozsahu optima enzýmovej reakcie a podľa zamerania ďalšej práce na 7,0. Ako enzým sme použili 0,1% roztok EHP v rovnakom fosfátovom tlmivom roztoku. Roztok enzýmu bol skladovaný bez zmeny celololytickej aktivity pri teplote -20°C dva mesiace. Ako štandard pre stanovenie produktov enzýmovej reakcie sme použili 0,75 mM roztok glukózy. Produkty enzýmového štiepenia celulózy sme stanovovali ako množstvo vzniknutých redukujúcich cukrov metódou podľa Somogyiho a Nelsona (Nelson, 1944). Táto metóda práve pre svoju nešpecifickosť vyhovuje pre naše účely lepšie ako presné glukózooxidázové metódy, pretože pomocou nej sú stanoviteľné aj di- až oligosacharidy s redukujúcim koncovým cukrom. Jednoduchšiu nešpecifickú o-toluidínovú metódu sme v predbežných pokusoch tiež odskúšali, ale nepoužili sme ju pre kancerogénne účinky o-toluidínu.

Enzýmovú reakciu sme robili nasledujúcim spôsobom: Ku 2 ml substrátu (5% celulóza) sme pridali 0,1 ml 0,1% EHP a inkubovali v termostate pri teplote 37°C . Dĺžka inkubácie je uvedená vo výsledkoch. Reakciu sme zastavili pridaním 1 ml 0,3 M $\text{Ba}(\text{OH})_2$ a 1 ml 0,3 M ZnSO_4 . Zrazeninu sme odstredili centrifugáciou pri 3 000 g 15 minút. Na stanovenie redukujúcich cukrov sme použili 0,2 ml supernatantu ku 2 ml činidla (Somogyi I + Somogyi II v pomere 4:1). Ďalej sme postupovali podľa citovanej metódy. Absorbanciu produktov farebnej reakcie sme merali pri 520 nm oproti vode.

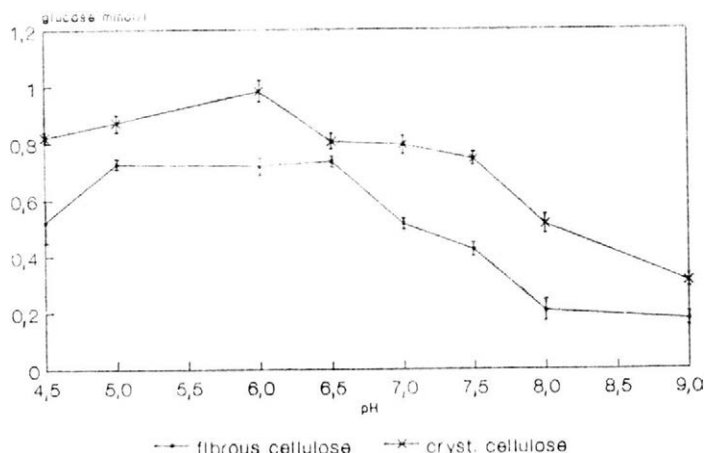
VÝSLEDKY A DISKUSIA

Pri stanovení optimálnych podmienok hydrolýzy celulózy s EHP sme zvolili koncentráciu substrátu 5 %, nakoľko sa jedná o vysokopolymerezovaný nerozpustný substrát a dlhé inkubačné časy. S ohľadom na predpokladané natívne substráty v podmienkach *in vivo*, pri zavádzaní metodiky sme skúšali ako substrát len kryštalickú a vláknitú formu celulózy. Ako vyplýva z obr. 1, pre prácu s EHP v podmienkach *in vitro* je vhodnejšia kryštalická celulóza, hoci pre celulózy sa ako vhodnejší substrát uvádza celulóza vláknitá (Bartoš, 1987). Štatistická významnosť rozdielov bola pri každom meraní pH vysoká ($P < 0,001$).

Pri voľbe tlmivého roztoku sme použili najbežnejšie tlmivé roztoky. Porovnávali sme 0,1 M TRIS — HCl tlmivý roztok a 0,15 M fosfátový tlmivý roztok, oba pri pH 6,5. Pri použití čistej celulózy (v rovnakom množstve a koncentrácii ako EHP) boli rozdiely v množstve degradovanej celulózy pri inkubácii do 24 hodín minimálne. Pri použití EHP po jedenhodinovej inkubácii bol rozdiel medzi oboma použitými tlmivými roztokmi minimálny, ale po 24hodinovej inkubácii bolo množstvo degradovanej celulózy vo fosfátovom tlmivom roztoku dvojnásobné oproti tlmivému roztoku TRIS — HCl (tab. I). Acetátové alebo citrátové tlmivé roztoky sme nemohli použiť, pretože by neobsiahli rozsah pH, v ktorom sme chceli EHP otestovať.

Optimálne pH hydrolýzy celulózy s EHP sme sledovali v rozpätí od 4,5 do 9 v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku. Najvyššia rýchlosť reakcie pre kryštalickú aj vláknitú celulózu bola v rozpätí medzi pH 5 až 7, avšak krivka vykazuje veľmi plochý priebeh (obr. 1). S ohľadom na fyziologické podmienky hydrolýzy v bachore prežúvavcov a na ďalšie zameranie práce sme zvolili pracovné pH 7.

Rýchlosť hydrolýzy v závislosti od množstva enzýmu je na obr. 2. Z tejto závislosti vyplýva, že lineárny priebeh reakcie za daných podmienok je asi do 0,15 ml. Pre ďalšie pokusy sme zvolili množstvo 0,1 ml



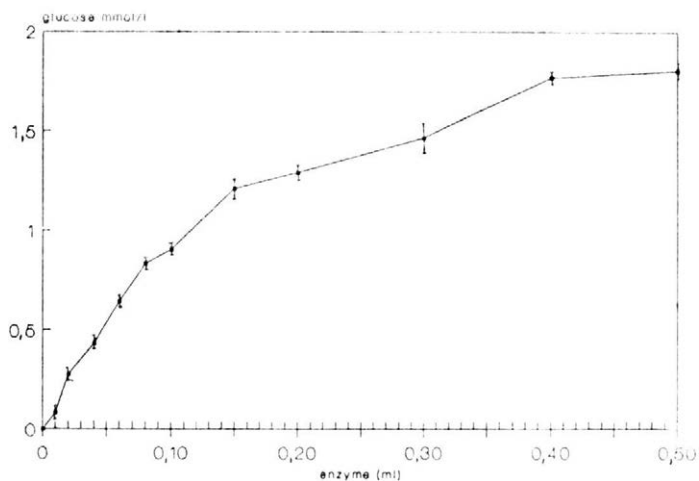
1. Hydrolýza 5% suspenzie kryštalickej a vláknitej celulózy s 0,1 ml ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku s rôznym pH. Doba inkubácie bola 24 hodín. Uvedené hodnoty sú priemerom 6 meraní ($\pm$ S. E. M.) — Hydrolysis of 5% suspension of crystalline and fibrous cellulose with 0.1 ml ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) in 0.15 M phosphate buffer with different pH. The incubation time was 24 hours. Given values are the mean of 6 measurements ($\pm$ S. E. M.)

I. Hydrolýza 5% suspenzie kryštalickej celulózy v 0,1 M TRIS — HCl tlmivom roztoku (pH 6,5) a 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku (pH 6,5) s 0,1 ml celulózy, resp. ECHP (koncentrácia $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). Uvedené hodnoty sú priemerom 6 meraní ($\pm$ S. E. M.) — Hydrolysis of 5 % suspension of crystalline cellulose in 0.1 M TRIS — HCl buffer and 0.15 M phosphate buffer (pH 6.5) with 0.1 ml cellulase or ECHP (the same concentration $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). Given values are the mean of 6 measurements ($\pm$ S. E. M.)

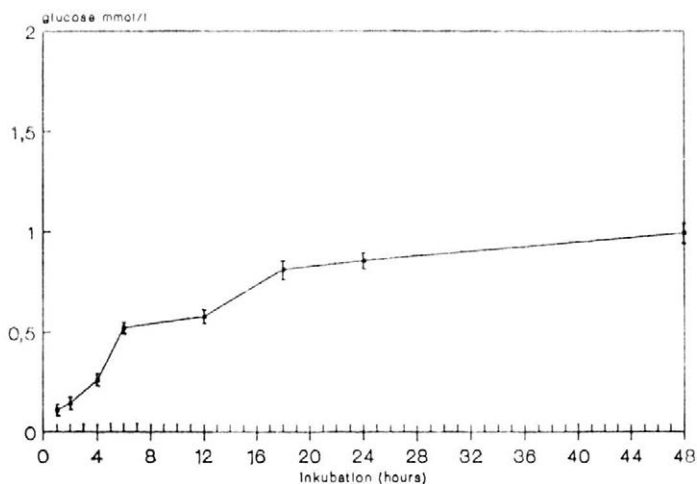
Inku- bácia ¹ [h]	Celuláza ²		ECHP	
	TRIS	fosfát ³	TRIS	fosfát ³
1	$0,089 \pm 0,003$	$0,099 \pm 0,003$	$0,103 \pm 0,009$	$0,123 \pm 0,010$
24	$0,206 \pm 0,003$	$0,178 \pm 0,006$	$0,327 \pm 0,004$	$0,643 \pm 0,021$

¹ incubation, ² cellulose, ³ phosphate

ECHP (koncentrácia $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). Toto množstvo je 10krát nižšie, ako použili Bučko a Vargicová (1990) pre celulózu T-100 z *Trichoderma viride*. Namerané hodnoty redukujúcich cukrov pri rovnakých inkubačných časoch zodpovedajú použitým množstvám enzýmu.



2. Hydrolýza 5% suspenzie kryštalickej celulózy v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku pH 7 s rôznym množstvom ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). Doba inkubácie 24 hodín. Uvedené hodnoty sú priemerom 6 meraní ($\pm$ S. E. M.) — Hydrolysis of 5% suspension of crystalline cellulose in 0.15 M phosphate buffer pH 7 with various amount of ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$). The incubation time was 24 hours. Given values are the mean of 6 measurements ($\pm$ S. E. M.)



3. Hydrolýza 5% suspenzie kryštalickej celulózy s 0,1 ml ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku pH 7 v závislosti na dĺžke inkubácie. Uvedené hodnoty sú priemerom zo 6 meraní ($\pm$ S. E. M.) — Hydrolysis of 5% suspension of crystalline cellulose with 0.1 ml ECHP ($1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$) in 0.15 M phosphate buffer pH 7 in dependence on the incubation time. Given values are the mean of 6 measurements ($\pm$ S. E. M.)
Adresa autorov:

Časová závislosť hydrolýzy celulózy s ECHP je uvedená na obr. 3. ECHP je zmesou rôznych hydrolytických enzýmov. Podľa údajov firmy Boehringer Mannheim Protoplast-forming enzyme obsahuje glukuronidázy, glukanázy, chitinázy, mannanázy, celulózy a iné hydrolytické enzýmy. Pri štiepení celulózy produkty jednej hydrolytickej reakcie sú súčasne substrátmi ďalších enzýmových reakcií. Použitá metóda deteguje rôzne redukujúce cukry (mono- až oligosacharidy), preto je vyjadrenie rýchlosti enzýmovej reakcie len približením skutočnosti. Ako vyplýva z obr. 3, po 24hodinovej inkubácii je už len slabý nárast množstva redukujúcich cukrov. Môže ísť o inhibíciu reakcie reakčnými produktami alebo o rozbehnutie inej reakcie, ktorá viaže alebo odbúrava produkty predošlej reakcie. V krátkych časových intervaloch je nárast množstva redukujúcich cukrov vysoký, ale pohybuje sa od dolnej hranice citlivosti stanovenia použitou metódou.

Podobne by bolo možné vysvetliť skok v priebehu hydrolýzy medzi 4. a 6. hodinou inkubácie. Ku prvotnému pôsobeniu endo- a exoglukanáz (súbor c_x) môže pristupovať synergické pôsobenie cellobiohydrolázy, čím sa rapídne zvýši množstvo redukujúcich cukrov v roztoku (S a s a k i, 1981).

Z uvedených výsledkov vyplýva, že pre prácu s ECHP *in vitro* je vhodnejším substrátom kryštalická celulóza. Optimálne množstvo enzýmu za podmienok popísaných v práci je 0,1 ml pri koncentrácii $1 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$. Doba inkubácie pri teplote 37°C pre popísanú metódu je v rozmedzí od 6 do 24 hodín. Optimálne pH účinku v 0,15 M fosfátovom tlmivom roztoku bolo medzi 5 až 7. Vzhľadom na zameranie ďalšej práce sa pracovalo pri pH 7.

Táto metóda sa javí vhodná pre sledovanie vplyvu ECHP na štiepenie celulózy v rastlinných krmivách. Využitie ECHP na tento účel by mohlo byť ekologicky nezávadnou metódou úpravy krmív.

SMUTNÝ, J. — KRIVÁŇOVÁ, M. — ZELENÁK, I. — FEJEŠ, J. [Institute of Animal Physiology, Slovak Academy of Science, Košice]: *Hydrolysis of cellulose with an enzymatic complex from the digestive juice of a garden snail (Helix pomatia)*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 555—560.

The method for observing of the cellulose hydrolysis in vegetable feeds with the enzymatic complex from the digestive juice of the garden snail *Helix pomatia* (EHP) is presented. The reaction rate was observed by measuring the amount of arising reducing sugars according to the method of Somogyi and Nelson. The optimum pH in phosphate buffer was very flat and ranged from 5 to 7. With regard to physiological conditions of hydrolysis in animals and to the aim of our work pH 7 was used. Dependence of the cellulose hydrolysis on the amount of enzyme and substrate form (cellulose) as well as time dependence of hydrolysis were investigated.

Helix pomatia; cellulose hydrolysis

Adresa autorov:

RNDr. Ján Smutný, RNDr. Mária Kriváňová, MVDr. Imrich Zelenák, DrSc.,
MVDr. Július Feješ, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV,
Dukelských hrdinov 1/B, 040 01 Košice

K. Bukovjan, E. Bukovjanová, P. Fojtík, M. Dvořák, E. Matoušková

BUKOVJAN, K. — BUKOVJANOVÁ, E. — FOJTÍK, P. — DVORÁK, M. — MATOUŠKOVÁ, E. (Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, Jíloviště-Strnady; Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, Pohoří-Chotouň; Vysoká škola zemědělská, Brno): *Vybrané biogenní prvky v krevní plazmě zaječí zvěře (Lepus europaeus Pall.)*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 561—575.

U zaječí zvěře pocházející z různých zemědělských oblastí byla srdeční punkcí odebrána krev. V krevní plazmě nevykazující hemolýzu byly stanoveny základní biogenní prvky (Ca, P, Mg, Na, K, chloridy). Pro srovnání jsou uvedeny i hodnoty zajíců narozených a chovaných v zajetí. Změny v hladinách jsou popisovány při různém imisním zatížení ekosystémů, fyziologicky pak ve vyšším stadiu gravidity, laktaci a růstu mláďat. Rovněž problematika kvalitativního hladovění zaječí zvěře se promítá do obsahu minerálů v plazmě. Hladiny vybraných prvků jsou vyhodnoceny u skupiny dospělých zajíců, zaječek i mláďat bez rozlišení pohlaví do období vymizení Strohova výrůstku. Výsledky jsou statisticky vyhodnoceny a shrnuty v příložených tabulkách a srovnány s dostupnou literaturou.

Lepus europaeus Pall.: zemědělské výrobní typy; krevní plazma; biogenní prvky

Pro správný vývoj organismu a funkci řady orgánů i tělních systémů jsou nepostradatelné minerální látky. Ty jsou součástí kostry, ovlivňují ve svém důsledku fyzikálně chemické procesy probíhající v organismu zvěře, zasahují do metabolismu účinku některých hormonů, enzymů a vitamínů. Zde slouží přímo jako aktivátory nebo jsou jejich složkou. Podstatně ve svém důsledku ovlivňují vlastní reprodukci, vývoj plodů a celkový zdravotní stav.

Problematickou biochemického vyšetření plazmy se zaměřením na minerální látky se zabývaly u volně žijící zaječí zvěře Tataruchová a Steinecková (1984), které vyšetřily jedince ze dvou lokalit z bezprostřední blízkosti Vídně, dále pak Mouthon (1976), Nováková (1981), Bukovjan aj. (1987, 1988). Dynamiku a kolísání hladin vybraných minerálů v plazmě zaječí zvěře udává Bukovjan aj. (1990). Obsahem fosforu, hořčíku a vápníku ve vztahu k imisnímu zatížení modelových území se zabývala Nováková (1971, 1987).

Obdobnou problematiku u jedinců držených v klecovém chovu sledoval Mihardja (1979), Bukovjan aj. (1987, 1991a, b).

Účelem příspěvku je podat základní informaci o hladinách vybraných biogenních prvků (Ca, P, Na, K, Mg, Cl) v nehemolytické plazmě zaječí zvěře různého pohlaví a věku pocházející z odlišných ekosystémů, včetně dynamiky kolísání hladin v průběhu roku.

MATERIÁL A METODY

Zpracovaný a vyhodnocený materiál pochází z různých výrobních zemědělských typů ČR a klecového chovu VÚLHM Jiloviště-Strnady. K vyšetření byly použity vzorky z pravidelných celoročních odlovů, které byly prováděny v šestitýdenních intervalech v oblasti bramborářské (1), bramborářskoobilnářské (2), řepařské (3), zelinářské (4) a obilnářské (5). Pro možnost srovnání byla vyhodnocena i skupina živých zajíců obojího pohlaví a různého věku narozených a držných v klecovém chovu (6).

U ulovené zvěře byla do tří minut po zásahu brokovou střelou odebrána krev přímou punkcí srdečních komor. Vzorky odebrané nad uvedenou hranici nejsou v konečném statistickém vyhodnocení zahrnuty vzhledem k rychle nastupujícím postmortálním změnám v biochemických pochodech organismu. Tyto vlivy mohou nekontrolovatelně ovlivnit hladiny vyšetřovaných prvků krevní plazmy.

U zaječí zvěře pocházející z klecového chovu byl odběr proveden podle užívaných metodik oddělení Fyziologie a chorob zvěře VÚLHM (Bukovjanaj, 1987) ze srdečních komor.

Vlastní analýzy prvků byly provedeny fotokolorimetrickými metodami za použití Bio-La-testů fy Lachema ČSFR (fosfor, hořčík); obsah plazmových chloridů byl zjištěn metodou podle Carrola za použití fosfowolframového činidla; draslík a sodík plamenným fotometrem. Ke stanovení vápníku bylo použito biuretové reakce.

Věk zaječí zvěře byl zjištěn běžnými rutinními metodami (přítomnost Strohova výrůstku, stav pohlavních orgánů, osifikace skeletu).

Statistická průkaznost byla testována na základě Studentova t -testu ($p = 0,025$ a $p = 0,05$), pro výpočet regresní křivky byla použita funkce $Y = A + BX + C/X$. K běžným statistickým výpočtům bylo použito stabilních programů. Hladiny sledovaných prvků jsou uvedeny v $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$.

VÝSLEDKY

VÁPŇÍK (Ca)

U vyhodnoceného souboru volně žijící zaječí zvěře činil průměrný obsah prvku v krevní plazmě $2,97 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,45$, přičemž větší kolísání bylo zaznamenáno u adultních zaječek oproti zajícům.

V průběhu roku byly na vybraných lokalitách zjišťovány podstatné změny v hladinách vápníku. Pro zimní měsíce, ve kterých jsou již podstatně vyčerpány tukové zásoby a dochází ke změně trávení, byl charakteristický nižší průměrný obsah vápníku $2,67 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,37$ (leden) a $2,75 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,40$ (únor). Statisticky významný pokles v dubnu je pravděpodobně zapříčiněn nižším obsahem prvku ($2,64 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,35$) u vysoce gravidních a laktujících zaječek. V následujících měsících byl zaznamenán vyrovnaný vyšší obsah $2,97 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,47$ a $2,93 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,36$, stejně jako v září $2,91 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,60$. V tomto období probíhal odlov zvěře převážně na vojtěšce, která má ve svých pletivech relativně vysoký obsah vápníku, zvláště v mladší fázi růstu. Pozvolný pokles v červenci ($2,74 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,28$), který vedl v srpnu až k nejnižší hladině vápníku v plazmě ($2,53 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,64$) souvisí zřejmě s problematikou kvantitativního hladovění, náhlou změnou trávení a poklesem pH trávicího traktu, což se v důsledku projeví sníženou resorbci. Problematiku kvantitativního hladovění výstižně popsal Štěrba (1984) ve vztahu k zásadním patomorfologickým změnám GIT, jater a srdce.

Podstatně vyšší hladiny Ca v plazmě byly zaznamenány u zvěře pocházející z bramborářskoobilnářské (3,26 mmol.l⁻¹ ± 0,60, řepařské (3,20 mmol.l⁻¹ ± 0,41) a zelinářské (3,15 mmol.l⁻¹ ± 0,61) oblasti oproti jedincům odloveným v oblasti obilnářské (2,70 mmol.l⁻¹ ± 0,37) a bramborářské (2,85 mmol.l⁻¹ ± 0,56).

I. Obsah vápníku v krevní plazmě (mmol.l⁻¹) ulovených a klecově chovaných zajíců
— Calcium content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	8	8	15	21	11	17
Průměr ²	2,866	3,230	3,192	3,188	2,779	2,887
Median ³	2,770	2,990	3,060	3,000	2,740	2,900
Rozptyl ⁴	0,709	0,389	0,181	0,440	0,095	0,217
± s	0,842	0,623	0,426	0,664	0,309	0,465
Střední chyba ⁵	0,297	0,254	0,110	0,144	0,093	0,112
Minimum ⁶	1,40	2,73	2,49	2,37	2,40	2,74
Maximum ⁷	4,03	4,46	3,86	4,66	3,42	3,98
samice ⁹						
<i>n</i>	14	8	24	21	12	18
Průměr ²	2,826	3,291	3,209	3,105	2,628	2,977
Median ³	2,810	3,245	3,130	3,010	2,675	3,050
Rozptyl ⁴	0,076	0,336	0,148	0,319	0,184	0,562
± s	0,276	0,580	0,385	0,564	0,429	0,750
Střední chyba ⁵	0,073	0,205	0,078	0,123	0,124	0,176
Minimum ⁶	2,42	2,50	2,50	2,04	1,97	0,80
Maximum ⁷	3,28	4,47	4,29	4,4	3,17	4,21
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	3	8	19	11	6	29
Průměr ²	2,826	2,980	3,109	2,825	2,876	2,740
Median ³	—	2,920	3,200	2,660	2,910	2,790
Rozptyl ⁴	—	0,081	0,159	0,692	0,092	0,113
± s	0,090	0,284	0,399	0,832	0,303	0,337
Střední chyba ⁵	—	0,164	0,910	0,250	0,124	0,062
Minimum ⁶	2,73	2,73	2,40	1,82	2,36	1,73
Maximum ⁷	2,91	3,29	3,89	4,25	3,15	3,17

¹locality, ²average, ³median, ⁴variance, ⁵standard error, ⁶minimum, ⁷maximum, ⁸males, ⁹females, ¹⁰juvenile

Vysvětlivky pro tab. I—VI — Explanatory notes to Tabs. I—VI

lokalita 1 — Želivka (bramborářská oblast), 2 — Bystřice u Benešova (bramborářsko-obilnářská), 3 — Loučeň, okr. Ml. Boleslav (řepařská), 4 — Zbraslav nad Vltavou (ze-linářská), 5 — Ostřešany, okr. Pardubice (obilnářská), 6 — klecový chov — locality 1 — Želivka (potato-growing region), 2 — Bystřice near Benešov (potato and cereal growing region), 3 — Loučeň, Ml. Boleslav district (beet-growing region), 4 — Zbraslav nad Vltavou (vegetable-growing region), 5 — Ostřešany, Pardubice district (cereal-growing region), 6 — cage raising

V oblasti řepařské je používána jako doplňkové hnojivo cukrovarnická šáma, která může mít vliv na hladinu vápníku, naopak v oblasti zelinářské se mohou uplatňovat úlety z nedaleké cementárny, která je vzdálena vzdušnou čarou 4 km od modelového území. Na těchto lokalitách je rovněž celoročně zjišťováno vyšší pH půdy v neutrální až alkalické oblasti, jakož i sezónně vyšší tvrdost povrchové vody.

U dospělých zajíců bez rozlišení pohlaví v klecovém chovu činila průměrná hladina vápníku $2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,60$ (zaječky $2,97 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,75$ a zajíci $2,88 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,46$, u mláďat ve věku 3–10 měsíců byly zjištěny hodnoty nižší $2,74 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,34$). U této zvěře jsou zřejmě nižší hladiny plazmového vápníku ovlivněny množstvím prvku v přijímané dávce, jejíž složení není zpravidla konstantní a kvalita krmných směsí je nevyvážená.

II. Obsah fosforu v krevní plazmě ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ulovených a klecově chovaných zajíců — Phosphorus content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	10	8	19	21	17	25
Průměr ²	1,691	1,960	1,997	1,829	1,855	1,940
Median ³	1,625	2,160	1,930	1,780	1,660	2,000
Rozptyl ⁴	0,300	0,274	0,214	0,212	0,424	0,144
$\pm s$	0,548	0,524	0,463	0,461	0,650	0,379
Střední chyba ⁵	1,173	0,234	0,106	0,100	0,157	0,075
Minimum ⁶	1,09	1,08	1,29	0,85	1,0	1,06
Maximum ⁷	2,68	2,43	2,93	2,76	3,6	2,82
samice ⁹						
<i>n</i>	15	8	30	20	23	20
Průměr ²	1,635	1,912	2,061	2,016	1,853	1,958
Median ³	1,660	2,040	1,900	1,915	1,860	1,995
Rozptyl ⁴	0,101	0,200	0,212	0,564	0,156	0,310
$\pm s$	0,318	0,447	0,461	0,751	0,395	0,556
Střední chyba ⁵	0,082	0,158	0,084	0,167	0,082	0,124
Minimum ⁶	1,16	1,23	1,29	1,06	1,17	1,15
Maximum ⁷	2,17	2,43	2,87	4,18	2,63	2,91
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	2	2	20	10	9	50
Průměr ²	1,990	2,335	2,272	2,369	2,138	2,297
Median ³	—	—	2,165	2,260	2,450	2,295
Rozptyl ⁴	—	—	0,310	0,177	0,287	0,342
$\pm s$	—	—	0,557	0,420	0,536	0,584
Střední chyba ⁵	—	—	0,124	0,133	0,178	0,082
Minimum ⁶	1,46	1,83	1,20	1,94	1,27	0,91
Maximum ⁷	2,52	2,84	3,61	3,23	2,66	3,63

For 1–10 see Tab. I

U zaječí zvěře byla zjištěna průměrná hladina fosforu $2,13 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,48$. V průběhu roku byl nejnižší obsah v plazmě zaznamenán od ledna do května, kdy se pravděpodobně uplatňoval u samic vliv gravidity a laktace. Vyrovnaný obsah byl charakteristický pro měsíce červen až srpen ($2,3 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,52$; $2,24 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,28$; $2,20 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,60$).

HOŘČÍK (Mg)

Průměrná hladina hořčíku v plazmě zaječí zvěře činila $1,24 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,32$, vyšší hodnoty byly zjištěny v květnu ($1,31 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,32$), červnu ($1,36 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,21$), září ($1,42 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,34$), říjnu ($1,43 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,47$) a listopadu ($1,41 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 0,34$). Nízké hladiny

III. Obsah hořčíku v krevní plazmě (mmol.l^{-1}) ulovených a klecově chovaných zajíců
— Magnesium content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	12	8	17	21	15	25
Průměr ²	1,172	1,188	1,292	1,116	1,360	1,249
Median ³	1,065	1,180	1,180	1,120	1,200	1,200
Rozptyl ⁴	0,113	0,019	0,248	0,119	0,405	0,092
$\pm s$	0,337	0,138	0,498	0,345	0,636	0,304
Střední chyba ⁵	0,097	0,061	0,120	0,075	0,164	0,060
Minimum ⁶	0,86	1,03	0,84	0,19	0,75	0,74
Maximum ⁷	2,11	1,39	2,92	1,98	2,90	1,96
samice ⁹						
<i>n</i>	15	8	26	21	19	22
Průměr ²	1,090	1,318	1,273	1,195	1,412	1,137
Median ³	1,000	1,310	1,215	1,140	1,130	1,075
Rozptyl ⁴	0,029	0,111	0,063	0,117	0,387	0,053
$\pm s$	0,171	0,333	0,251	0,343	0,622	0,231
Střední chyba ⁵	0,044	0,126	0,049	0,074	0,142	0,049
Minimum ⁶	0,90	1,01	0,88	0,29	0,58	0,88
Maximum ⁷	1,45	1,89	1,92	1,94	2,63	1,61
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	8	3	19	9	7	36
Průměr ²	1,503	1,230	1,358	1,262	1,377	1,298
Median ³	1,310	—	1,330	1,220	1,360	1,320
Rozptyl ⁴	0,196	—	0,073	0,067	0,073	0,078
$\pm s$	0,442	0,078	0,271	0,260	0,270	0,280
Střední chyba ⁵	0,255	—	0,062	0,086	0,102	0,046
Minimum ⁶	1,19	1,14	0,85	0,96	1,02	0,70
Maximum ⁷	2,01	1,28	1,88	1,66	1,77	1,93

For 1—10 see Tab. I

byly příznačné pro leden ($1,17 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,37$) až duben ($1,03 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,27$). Nejvyšší obsah byl zaznamenán u zajíců $1,36 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,64$, u zaječek $1,41 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,62$ a mláďat bez rozlišení pohlaví $1,38 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,27$ pocházejících z obilnářské oblasti.

DRASLÍK (K)

Průměrná hladina draslíku v krevní plazmě ulovené zaječí zvěře byla $6,79 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,77$. Vyšší hladiny v průběhu roku byly zaznamenány v dubnu ($7,37 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,89$), září ($7,12 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,88$) a říjnu ($7,38 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 2,54$), nižší pak v lednu ($6,01 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,84$) až březnu ($6,40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,74$).

Zajíci vyšetření ze zelinářské oblasti měli vyšší obsah prvku (samci $7,811 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 2,47$ a samice $8,33 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 2,44$) oproti ostatním z jiných výrobních typů.

IV. Obsah draslíku v krevní plazmě ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ulovených a klecově chovaných zajíců — Potassium content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	10	5	17	23	18	25
Průměr ²	7,340	8,180	6,579	7,813	7,027	6,807
Median ³	7,200	8,000	5,950	8,000	6,425	6,800
Rozptyl ⁴	10,223	0,422	6,685	6,120	5,963	3,127
$\pm s$	3,197	0,649	2,585	2,473	2,441	1,768
Střední chyba ⁵	1,011	0,290	0,627	0,515	0,575	0,353
Minimum ⁶	3,00	7,60	3,25	4,05	3,65	3,85
Maximum ⁷	15,20	9,30	14,60	14,00	12,60	11,06
samice ⁹						
<i>n</i>	15	9	29	24	24	22
Průměr ²	6,500	6,832	7,305	8,333	7,795	5,592
Median ³	5,850	8,000	7,600	8,000	8,000	5,180
Rozptyl ⁴	5,703	4,947	4,884	5,959	3,901	6,003
$\pm s$	2,388	2,224	2,209	2,441	1,975	2,450
Střední chyba ⁵	0,616	0,840	0,410	0,498	0,403	0,522
Minimum ⁶	4,15	2,45	3,75	3,8	4,9	2,3
Maximum ⁷	13,60	9,08	12,18	14,5	11,6	11,8
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	3	3	21	18	11	54
Průměr ²	5,300	6,600	7,580	8,500	7,300	5,744
Median ³	—	—	7,650	8,000	7,600	5,875
Rozptyl ⁴	—	—	6,075	6,708	4,988	3,314
$\pm s$	1,603	3,704	2,464	2,590	2,233	1,820
Střední chyba ⁵	—	—	0,537	0,610	0,673	0,247
Minimum ⁶	4,3	2,4	3,75	4,0	4,3	2,85
Maximum ⁷	7,15	9,4	12,3	16,0	12,1	9,11

For 1—10 see Tab. I

Ve vyhodnoceném souboru byla zjištěna průměrná hladina sodíku v plazmě $136,69 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 13,97$. Nejvyšší hodnoty byly zaznamenány v červenci $148,75 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 19,57$. V měsících kvalitativního hladovění, ve kterých dochází během krátké doby k podstatným změnám trávení a resorpci biogenních prvků u zaječí zvěře, byla signifikantně nižší hladina (srpen $130,86 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 15,94$ a září $132,09 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 14,21$).

V jednotlivých oblastech byly u dospělé zvěře jednotlivé obsahy sodíku prakticky vyrovnány a pohybovaly se u zajíců $132,78 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 17,2$ až $146,74 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 16,5$ a zaječek $138,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 13,7$ až $145,63 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 16,9$. Celkově vyšší hladiny byly zaznamenány v oblasti zelinářské.

V. Obsah sodíku v krevní plazmě ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ulovených a klecově chovaných zajíců
— Sodium content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	10	8	18	23	18	25
Průměr ²	142,000	138,000	143,670	146,740	132,778	136,568
Median ³	136,500	138,000	140,000	143,000	133,000	138,000
Rozptyl ⁴	501,111	528,500	215,765	274,383	289,595	106,749
$\pm s$	22,386	22,989	14,688	16,564	17,017	10,332
Střední chyba ⁵	7,078	10,281	3,462	3,453	4,011	2,066
Minimum ⁶	128	111	126	120	105	113
Maximum ⁷	204	168	179	180	164	152
samice ⁹						
<i>n</i>	15	7	29	24	25	23
Průměr ²	138,200	142,571	143,448	145,625	141,320	136,696
Median ³	138,000	138,000	140,000	146,500	142,000	137,000
Rozptyl ⁴	187,600	183,286	331,542	285,549	132,977	163,494
$\pm s$	13,696	13,583	18,208	16,898	11,531	12,786
Střední chyba ⁵	3,536	5,117	3,381	3,449	2,306	2,666
Minimum ⁶	106	123	114	112	117	111
Maximum ⁷	176	164	185	180	170	170
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	8	3	21	18	11	51
Průměr ²	139,667	144,333	146,381	142,000	136,545	134,392
Median ³	136,000	—	144,000	142,500	136,000	133,000
Rozptyl ⁴	66,330	—	332,940	130,230	98,670	69,200
$\pm s$	8,144	—	17,970	11,412	9,933	8,318
Střední chyba ⁵	4,702	—	3,921	2,6 ⁹	2,995	1,164
Minimum ⁶	134	124	122	128	116	118
Maximum ⁷	149	168	180	168	154	155

For 1—10 see Tab. I

Průměrná koncentrace chloridů v plazmě zaječí zvěře z volné přírody se pohybovala $101,68 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 7,3$. Nejnižší obsahy byly zaznamenány v dubnu $99,67 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 3,87$, květnu $97,92 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 6,98$ a srpnu $99,25 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 6,52$. V ostatních měsících roku byly prakticky vyrovnány. Nižší obsah byl zjištěn v oblasti zelinářské (zajáci $100,52 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 10,57$, zaječky $99,96 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 4,88$, naopak vyšší v oblasti obilnářské ($105,32 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 13,4$ a $104,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 9,89$).

VI. Obsah chloridů v krevní plazmě ($\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) ulovených a klecově chovaných zajíců
— Chloride content in blood plasma (mmol/l) of shot and cage-kept hares

Lokalita ¹	1	2	3	4	5	6
samci ⁸						
<i>n</i>	12	8	21	23	17	22
Průměr ²	99,333	100,333	104,571	100,522	104,000	104,409
Median ³	101,500	100,000	105,000	101,000	101,000	103,500
Rozptyl ⁴	57,151	131,867	128,657	111,715	98,000	111,968
$\pm s$	7,559	11,483	11,342	10,569	9,899	10,581
Střední chyba ⁵	2,182	4,688	2,475	2,203	2,400	2,255
Minimum ⁶	82	86	84	89	93	81
Maximum ⁷	107	116	133	140	124	132
samice ⁹						
<i>n</i>	15	8	30	25	25	23
Průměr ²	102,267	100,750	101,567	99,960	105,320	102,826
Median ³	102,000	101,000	102,000	100,000	104,000	103,000
Rozptyl ⁴	59,495	34,500	65,702	23,790	180,310	44,422
$\pm s$	7,713	5,873	8,105	4,877	13,428	6,665
Střední chyba ⁵	1,991	2,076	1,479	0,975	2,685	1,389
Minimum ⁶	86	91	79	87	88	90
Maximum ⁷	116	108	115	108	145	121
juvenilní ¹⁰						
<i>n</i>	3	3	23	18	11	57
Průměr ²	109,667	108,000	103,652	100,168	102,273	103,895
Median ³	—	—	105,000	100,500	103,000	104,000
Rozptyl ⁴	—	—	47,600	44,997	25,618	43,774
$\pm s$	5,686	1,732	6,899	6,706	5,061	6,616
Střední chyba ⁵	—	—	1,438	1,580	1,526	0,876
Minimum ⁶	105	106	86	86	92	83
Maximum ⁷	116	109	116	114	110	125

For 1—10 see Tab. I

VII. Hladina vápníku v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Calcium level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum	Maximum
I.	33	2,6867	0,3676	2,7037	1,90	3,43
II.	38	2,7537	0,4006	2,7618	2,08	3,82
III.	32	2,8353	0,4573	2,7926	2,21	3,90
IV.	17	2,6459	0,3534	2,8093	2,04	3,47
V.	27	2,9700	0,4761	2,8169	2,09	3,90
VI.	32	2,9303	0,3570	2,8181	2,04	3,80
VII.	17	2,7365	0,2750	2,8145	2,23	3,11
VIII.	37	2,5373	0,6425	2,8070	1,40	4,25
IX.	32	2,9113	0,6049	2,7963	2,04	4,10
X.	44	2,8584	0,4683	2,7830	1,51	3,98
XI.	35	2,6243	0,4525	2,7675	1,99	3,86
XII.	57	2,8116	0,4122	2,7500	1,66	3,74

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,2439, A = 2,4795, B = -0,0528, C = 0,2834; použito rovnice typu $Y = A + BX + C\sqrt{X}$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.2439, A = 2.4795, B = -0.0528, C = 0.2834; the equation type $Y = A + BX + C\sqrt{X}$ — was used

¹ month, ² regression x

VIII. Hladina fosforu v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Phosphorus level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum ³	Maximum ⁴
I.	52	1,8983	0,5159	1,8092	1,00	2,96
II.	46	1,9450	0,5779	1,8246	0,83	3,18
III.	28	1,9196	0,4261	2,0224	1,30	2,82
IV.	12	1,9008	0,1771	2,1027	1,67	2,24
V.	35	1,8763	0,5403	2,1655	1,09	3,62
VI.	46	2,3048	0,5296	2,2107	1,32	3,33
VII.	13	2,2438	0,2842	2,2385	1,80	2,96
VIII.	26	2,2027	0,5971	2,2487	1,16	3,61
IX.	27	2,5937	0,6205	2,2414	1,20	3,82
X.	44	2,2136	0,5454	2,2166	1,11	3,57
XI.	20	2,4720	0,4925	2,1742	1,67	3,19
XII.	73	1,9953	0,4965	2,1144	1,15	3,60

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,6682, A = 1,6763, B = 0,146, C = -0,0088; použito rovnice typu $Y = A + BX + CX^2$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.6682, A = 1.6763, B = 0.146, C = -0.0088; the equation type $Y = A + BX + CX^2$ was used

For 1—4 see Tab. VII

IX. Hladina hořčíku v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Magnesium level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum ³	Maximum ⁴
I.	42	1,1743	0,3662	1,1166	0,29	2,38
II.	26	1,1300	0,3353	1,1542	0,19	2,00
III.	32	1,1513	0,2426	1,1882	0,77	1,92
IV.	20	1,0330	0,2730	1,2187	0,72	1,63
V.	24	1,3088	0,2173	1,2455	0,89	1,64
VI.	35	1,3569	0,2073	1,2687	1,03	1,94
VII.	13	1,1392	0,4130	1,2884	0,41	1,94
VIII.	28	1,1139	0,2314	1,3045	0,83	2,01
IX.	33	1,4173	0,3367	1,3170	0,89	2,14
X.	47	1,4306	0,4740	1,3259	0,20	2,92
XI.	28	1,4071	0,3410	1,3313	0,50	2,00
XII.	45	1,2313	0,4144	1,3330	0,30	1,89

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,5838, A = 1,0755, B = 0,0430, C = 0,0018; použito rovnice typu $Y = A + BX + CX^2$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.5838, A = 1.0755, B = 0.0430, C = 0.0018; the equation type $Y = A + BX + CX^2$ was used

For 1—4 see Tab. VII

X. Hladina sodíku v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Sodium level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum ³	Maximum ⁴
I.	60	139,8500	18,9726	141,6221	80	180
II.	53	142,0755	13,5545	139,1632	120	204
III.	45	138,5111	10,9204	137,1637	109	156
IV.	13	125,6423	6,2234	135,6235	118	135
V.	28	133,6429	9,6272	134,5427	106	148
VI.	40	132,7750	9,6570	133,9212	111	154
VII.	16	148,7500	19,5840	133,7590	126	180
VIII.	28	130,8571	15,5390	134,0562	100	158
IX.	34	132,0882	14,2071	134,8127	108	168
X.	47	135,3404	20,5440	136,0286	94	185
XI.	21	140,8571	11,3149	137,7038	120	160
XII.	74	139,8378	17,4631	139,8383	68	168

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,5778, A = 144,5402, B = -3,1479, C = 0,2297; použito rovnice typu $Y = A + BX + CX^2$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.5778, A = 144.5402, B = -3.1479, C = 0.2207; the equation type $Y = A + BX + CX^2$ was used

For 1—4 see Tab. VII

XI. Hladina draslíku v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Potassium level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum ³	Maximum ⁴
I.	60	6,0115	1,8413	6,0656	3,50	11,60
II.	49	6,4102	2,2069	6,2942	2,95	13,60
III.	57	6,4086	1,7458	6,4577	2,65	9,30
IV.	14	7,3714	0,8965	6,5875	5,40	8,00
V.	39	6,6549	1,5465	6,6957	3,50	10,00
VI.	40	6,2443	2,0170	6,7887	3,10	9,40
VII.	32	7,1663	1,0753	6,8701	4,60	8,00
VIII.	32	6,6953	1,4718	6,9424	3,80	11,21
IX.	39	7,1246	1,8878	7,0071	3,80	11,50
X.	51	7,3796	2,5407	7,0656	2,40	14,60
XI.	29	6,9990	2,1814	7,1187	2,80	12,80
XII.	69	7,0801	1,8412	7,1671	2,30	13,80

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,8224, A = 5,4416, B = -0,0511, C = 0,6751; použito rovnice typu $Y = A + B + C\sqrt{X}$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.8224, A = 5.4416, B = -0.0511, C = 0.6751; the equation type $Y = A + B + C\sqrt{X}$ was used

For 1—4 see Tab. VII

XII. Hladina chloridů v krevní plazmě ulovených zajíců v průběhu roku — Chloride level in blood plasma of hares shot within a year

Měsíc ¹	n	$\bar{x}$	$\pm s$	Regrese $\bar{x}^2$	Minimum ³	Maximum ⁴
I.	54	103,3333	10,0301	103,2232	74	126
II.	50	102,0000	8,1791	102,2152	86	135
III.	40	102,1000	7,8961	101,6846	82	123
IV.	15	99,6667	3,8668	101,4013	87	103
V.	25	97,9200	6,9757	101,2759	85	114
VI.	37	104,7838	5,3910	101,2627	88	119
VII.	24	104,1250	12,1093	101,3345	79	140
VIII.	28	99,2500	6,5248	101,4736	89	108
IX.	35	100,0857	8,1181	101,6677	83	116
X.	45	101,8889	6,3540	101,9079	86	116
XI.	30	101,8000	6,2500	102,1873	88	111
XII.	42	103,2381	5,8594	102,5008	86	116

Vysvětlivka: regrese $\bar{x}$ I = 0,3319, A = 107,1334, B = 1,0442, C = -4,9554; použito rovnice typu $Y = A + BX + C\sqrt{X}$

Explanatory note: regression $\bar{x}$ I = 0.3319, A = 107,1334, B = 1.0442, C = -4.9554; the equation type $Y = A + BX + C\sqrt{X}$ was used

For 1—4 see Tab. VII

Zatímco biochemické parametry krevní plazmy jsou u domácích zvířat známy již delší dobu a mohly být stanoveny velkým množstvím vyšetření základní referenční hodnoty, nejsou údaje o této problematice u volně žijící drobné zvěře a jmenovitě u zajíce polního téměř k dispozici.

Vyšší hladiny vápníku ($3,44 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,43$), než které jsme zaznamenali u zvěře z modelových lokalit, uvádí Tataruchová a Steinecková (1984). Nižší hladiny byly ve shodě s našimi výsledky v letním období ($3,22 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,56$). V zimě činila průměrná hladina $3,42 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,59$ a na podzim $3,48 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,17$. Nejvyšší hladina je udávána na jaře $3,72 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,16$. Na základě získaných výsledků předpokládáme, že kolísání vápníku ve velmi úzkých hranicích ($V_k = 12,5 \%$) je odrazem jeho vysoké homeostatické regulace v krevní plazmě.

Hodnoty, které zjistili Mouthon aj. (1975) a Mihardja aj. (1979) se pohybují okolo $3 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a jsou srovnatelné s výsledky Tataruchové a Steineckové (1984) i našimi.

Relativní hyperkalcemie byla všeobecně popisována u domácích zvířat žijících v okolí cementárenských podniků (Boďa a Lebeda, 1972). Obdobnou problematikou se u zaječí zvěře dříve zabývala Nováková (1973, 1987). Cementárenské úlety obohacují okolní prostředí sloučeninami vápníku, což se odrazilo i ve vyšších průměrných hodnotách prvku v plazmě zaječí zvěře v bezprostřední blízkosti nejen závodů, ale i jejich zázemí. U dospělých kusů pocházejících ze závětrné strany cementárny jsou udávány průměrné hodnoty u dospělých zajíců $17,9 \text{ mg} \% \pm 3,1$ až $23,4 \text{ mg} \% \pm 2,3$ a u mláďat $16,6 \text{ mg} \% \pm 4,7$ až $23,3 \text{ mg} \% \pm 3,3$ (Nováková, 1987).

Výsledky našich předchozích prací (Bukovjan aj., 1987) poukazují na možnost kolísání obsahu vápníku i na shodných lokalitách v jednotlivých letech. V roce 1984 a 1987 činily např. průměrné hodnoty v oblasti obilnářskobramborářské $2,62 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,07$ a $2,86 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,72$; v oblasti řepařské $2,65 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,29$ a $3,09 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,28$, v oblasti zelinářské $2,74 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,30$ a $2,76 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,36$.

Při vyhodnocení depistážních odlovů ze středních, východních a jižních Čech byl zjištěn průměrný obsah vápníku v plazmě zajíců $2,75 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,39$ (Bukovjan aj., 1990). Vyšší hladiny byly v květnu $2,99 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,48$ a září $3,13 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,49$. Relativně nejnižší pak v srpnu $2,47 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,57$.

Tataruchová a Steinecková (1984) uvádějí kolísání fosforu v relativně úzkých hranicích ($\bar{x} = 2,14 \pm 0,54 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) s odvoláním na silnou homeostatickou regulaci prvku v organismu. Na jaře činila průměrná hodnota $2,19 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,11$; v létě $1,79 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,56$; na podzim $2,34 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,62$ a v zimě $2,07 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,46$. Uváděné hodnoty jsou v souladu s našimi zjištěními ze současnosti $2,13 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,48$ i minulosti $2,03 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,57$.

Podstatně nižší hodnoty uvádí Nováková (1981), a to $1,36 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Hladina fosforu v důsledku imisního zatížení se při vyšetřeních prováděných autorkou zvyšovala o polovinu až dvojnásobek, a to výrazněji u dospělých jedinců a samců. V různě imisně zatížených lokalitách udává obsahy fosforu v séru ulovených zajíců $4,6 \text{ mg}\% - 4,8 \text{ mg}\%$ (centrum

cementárny a návětrné zázemí); $8,1 \text{ mg}\% \pm 2,2$ – $5,7 \text{ mg}\% \pm 2,2$ (centrum návětrného zázemí aglomerace těžkého průmyslu); $7,3 \text{ mg}\% \pm 3,0$ (závětrné zázemí velkoměsta) a $5,5 \text{ mg}\% \pm 2,3$ (lokální malé zdroje znečištění).

Bukovjan aj. (1987) zaznamenali v letech 1984 a 1987 tyto průměrné hladiny fosforu ve vybraných zemědělských oblastech: zelinářská $2,32 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,49$ a $2,29 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,52$; řepařská $2,82 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,2$ a $1,88 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,30$; bramborářskoobilnářská $2,32 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,77$ a $2,36 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,79$. V klecovém chovu zajetí zvěře byly u dospělých jedinců zjištěny průměrné hladiny fosforu $1,94 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,47$ (zajíci $1,95 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,38$ a zaječky $1,96 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,56$), u mláďat pak hodnoty vyšší $2,29 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,48$ (Bukovjan aj., 1991a, b). Poměr Ca : P u dospělých činil 1 : 1,51 a u mláďat 1 : 1,2. Obsah vápníku a fosforu se odráží ve vzájemném poměru těchto prvků v krevní plazmě. Nováková (1987) zjistila poměr Ca : P u zajíců z imisně postižené oblasti cementárny 1 : 5,7, elektrárny 1 : 2,7, těžkého průmyslu 1 : 2,6 a velkoměsta 1 : 3,6. Bukovjan aj. (1987) v letech 1984 a 1987 uvádějí v zelinářské oblasti poměr 1 : 1,16 a 1 : 1,21, oblasti řepařské 1 : 0,94 a 1 : 1,64 a bramborářskoobilnářské 1 : 1,13 a 1 : 1,21.

Srovnatelné hladiny hořčíku ($1,16 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) s našimi udávají Mi-hardja aj. (1979), naopak Tataruchová a Steinecková (1984) popisují hladiny podstatně vyšší $1,53 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,43$. Na základě výsledků se domnívají, že zvýšení prvků v plazmě zajetí zvěře může být ovlivněno aplikací hnojiv obsahujících hořčík. Obdobně jako Scheunert, Trautmann (1986) uvádějí, že oproti Ca, P, Na je obsah Mg v plazmě podstatně určován jeho obsahem v přijímané potravě. Vyšší hodnoty zaznamenaly Tataruchová a Steinecková (1984) na jaře $1,86 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,56$ a v létě $1,52 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,21$ oproti podzimu $1,33 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,44$.

V bramborářskoobilnářské oblasti zaznamenali Bukovjan aj. (1987) v roce 1984 a 1987 průměrnou hladinu hořčíku $1,27 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,34$ a $1,11 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,14$; zelinářské $1,40 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,27$ a $1,21 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,45$; řepařské $1,24 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,46$ a $1,21 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,33$. V klecovém chovu pak průměrné hodnoty adultní zvěře $1,19 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,48$ (zajíci $1,25 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,7$ a zaječky $1,14 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,23$), mláďata bez rozlišení pohlaví $1,30 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 0,28$.

Poměrně vysoké kolísání draslíku v jednotlivých čtvrtletích roku uvádějí Tataruchová a Steinecková (1984). Na jaře zaznamenaly hladinu $6,52 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 3,02$; v létě $5,50 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,41$ a na podzim hladinu srovnatelnou $5,41 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,59$. Průměrná celoroční hladina činila $6,15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 3,2$. Na základě výsledků vyšetření došly k závěru, že hladina draslíku v plazmě může být ovlivněna zvýšeným příjmem potravy obsahující tento prvek v důsledku hnojení zemědělských porostů.

Naproti tomu udává Labuda (1975), že erytrocyty obsahují několikanásobně větší množství draslíku než krevní plazma a že na výši hladiny prvku v krvi nemá podstatný vliv jeho obsah v přijímaném krmivu.

Na základě předchozích výsledků se Bukovjan aj. (1987 a 1990) domnívají, že vysoké kolísání hladin u jednotlivých jedinců z těchto lokalit souvisí zřejmě se silou stresu v průběhu odlovu a případnou lokalizací zásahu na těle zajíce.

U klecově chovaných zajíců zaznamenali Bukovjan aj. (1991a, b) průměrnou hladinu draslíku v plazmě $6,15 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 2,09$ a mladé zvěře pak $4,74 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 1,82$.

Patofyziologicky je hladina draslíku ovlivněna dlouhodobými záněty zažívacího doprovázených průjmy, které mohou být u zaječích zvěře častým doprovodným onemocněním některých silných invazí parazitů GIT a kokciidií, popřípadě příjmem potravy kontaminované patogenními bakteriemi a plísněmi.

Tataruchová a Steinecková (1984) potvrdily, že koncentrace sodíku v plazmě ($\bar{x} = 134,0 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 19,0$) podléhá relativně malým výkyvům ($V_k = 13,3 \%$). V letním období zjistily výrazně nižší hladiny než na podzim. Toto zjištění je v souladu i s našimi výsledky.

Bukovjan aj. (1987) zaznamenali nejnížší průměrné hodnoty sodíku $126,36 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 20,4$ v období červenec až srpen, srovnatelné $130,66 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 10,48$ a $136,50 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 18,75$ v dubnu až červnu a v říjnu až prosinci. Nejvyšší hodnoty pak v lednu až březnu $143,20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 20,32$.

U domácích zvířat je popisován deficit sodíku při pastevním odchovu na písčitých půdách hnojených potaší, která má vliv na snížení obsahu tohoto prvku v rostlinných pletivech (Boďa a Lebeda, 1972).

Bukovjan aj. (1987) uvádějí v lednu až březnu průměrné hladiny chloridů $96 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 4,76$, duben až červen $101,71 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 11,74$, červenec až září $97,36 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 11,56$ a říjen až prosinec $104,8 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 2,31$. U zajíců z řepařské oblasti uvádí průměrnou hladinu v plazmě $101,2 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 9,16$ a statistický průkazný pokles chloridů v květnu, srpnu, září a listopadu (Bukovjan aj., 1990). V klecovém chovu pak byly u dospělé zvěře zjištěny srovnatelné hodnoty ($103,6 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 8,62$), u mláďat pak $103,9 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1} \pm 6,22$.

Na závěr lze souhrnně konstatovat, že sledování metabolismu vybraných biogenních prvků v průběhu delšího časového období na různě zatížených a obhospodařovaných ekosystémech má nesporný, dosud však plně nevyužívaný biodiagnostický i bioindikační význam v ekologickém monitoringu změn zdravotního stavu a bioindikaci zatíženosti přírodního prostředí.

V nynější fázi výzkumu je bezesporu nutné vyhodnotit a stanovit základní referenční biochemické a hematologické parametry veškeré volně žijící zvěře, která se vzhledem ke svému způsobu života a rozšíření dá postupně využít jako vhodný bioindikační druh.

Literatura

- BOĎA, K. — LEBEDA, M.: Patologická fyziologie hospodářských zvířat. Praha, SZN 1972, s. 332—336.
- BUKOVJAN, K. — DVOŘÁK, M. — PROŠEK, J. — BUKOVJANOVÁ, E.: Preliminary results of mineral substances, enzymes, and steroid progesteron level of the hunted hares and caged up hares. *Práce Výzk. Úst. lesn. Hospod. Mysl.*, 71, 1987, s. 229—251.
- BUKOVJAN, K. — BUKOVJANOVÁ, E. — KARPENKO, A. — PÁV, J. — ŠEBESTA, J. — ZAHRADNÍKOVÁ, W. — DVOŘÁK, M.: Zdravotní stav zajíce polního a jeho životní prostředí na modelovém území Loučeň. *Práce Výzk. Úst. lesn. Hospod. Mysl.*, 72, 1988, s. 105—174.
- BUKOVJAN, K. — BUKOVJANOVÁ, E. — PÁV, J. — DVOŘÁK, M.: Hladiny minerálních látek u ulovených zajíců v průběhu roku. *Veterinářství*, 40, 1990, č. 2, s. 67—69.

- BUKOVJAN, K. — FANTA, B. — KAMENÍK, P.: Hematologické a biochemické hodnoty klecově chovaných adultních zajíců polních (*Lepus europaeus* Pall.) Práce Výzk. Úst. lesn. Hospod. Mysl., 75, 1991a.
- BUKOVJAN, K. — FANTA, B. — KAMENÍK, P.: Biochemické a hematologické hodnoty klecově chovaných juvenilních zajíců polních (*Lepus europaeus* Pall.). Zpr. lesn. Výzk., 1991b.
- LABUDA, J.: Výživa a krmenie hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1975, s. 50 až 56.
- MIHARDJA, S.: Contribution a la définition de valeurs de reference chez lievre. Hématologie-Biochimie sanguine. Ann. Rech. vétér., 10, 1979, s. 87—92.
- MOUTHON, G.: Etude de quelques parametres biochimiques sanguins chez lievre. Bull. Soc. Sci. Veter. et Med. comp., 78, 1976, 227—230.
- NOVÁKOVÁ, E.: Einfluß der Umweltverunreinigung durch Industrie auf den Feldhasen und auf seine Hege. Wiss. Schitzung Weltjagdausstellung Plovdiv, Bulgarien, 1981.
- NOVÁKOVÁ, E.: Využití volně žijících ptáků a savců, zvláště zvěře v bioindikaci, biodiagnostice a ekologickém monitoringu. VŠ Praha, Ústav aplikované ekologie a ekotechniky, Kostelec nad Černými lesy, 1987, s. 34—36.
- NOVÁKOVÁ, E. — ROUBAL, Z.: Taux de calcium et de phosphore dans le sérum sanguin des lievres expositieux pollutions de l'air. In: Union inter. des biologistes du gibier. Actes du X^e Congres, Paris 1971, s. 529—536.
- SCHEUNERT, A. — TRAUTMANN, A.: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie. 6. Aufl., Berlin und Hamburg, 1976.
- ŠTĚRBA, F.: Monodietní syndrom (steatoza) zajíců. Veterinářství, 34, 1984, s. 76—78.
- TATARUCH, F. — STEINECK, T.: Hämatologische Untersuchungen beim Feldhasen (*Lepus europaeus* Pall.). Z. Jagdwiss., 30, 1984, s. 25—34.

Došlo dne 14. 5. 1991

BUKOVJAN, K. — BUKOVJANOVÁ, E. — FOJTÍK, P. — DVOŘÁK, M. — MATOUŠKOVÁ, E. (Research Institute for Forest and Game Management, Jíloviště-Strnady; Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Pohoří-Chotouň; University of Agriculture, Brno): Some biogenic elements in blood plasma of hare (*Lepus europaeus* Pall.). Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (9—10): 561—575.

Blood samples were collected through aortic punctures in hares coming from different agricultural regions. Base biogenic elements (Ca, P, Mg, Na, K, chlorides) were determined in blood plasma not showing haemolysis. The values obtained in hares born and kept in captivity are presented for the purposes of comparison. Changes in element levels are described for different pollution load of ecosystems, from physiological aspects for more advanced stages of gravidity, for a higher lactation number and for young growth. The problems of qualitative fasting of hares can also be documented by mineral contents in blood plasma. The levels of some elements were evaluated for a group of adult male and female hares, and the youngs regardless of their sex until the disappearance of Stroh's outgrowth. The results were processed statistically and are summarized in tables (Tabs. 1—12) and they are compared with available literature.

Lepus europaeus Pall.; agricultural production regions; blood plasma; biogenic elements

Adresy autorů:

MVDr. Karel Bukovjan, ing. Eva Bukovjanová, ing. Petr Fojtík, Výzkumný ústav lesního hospodářství a myslivosti, 156 04 Jíloviště-Strnady
 RNDr. Miroslav Dvořák, Výzkumný ústav pro biofaktory a veterinární léčiva, 254 49 Pohoří-Chotouň
 Ing. Eva Matoušková, Vysoká škola zemědělská, Zemědělská 1-3, 613 00 Brno

Upozornění pro přispěvatele časopisu

Veterinární medicína

V rámci modernizace výroby přechází naše redakce na vydávání časopisu pomocí DTP. Autory, kteří chtějí publikovat svoje příspěvky v časopisu Veterinární medicína a mají možnost je pořizovat na PC, proto žádáme, aby texty příspěvků posílali současně s disketou. Po zkopírování textu bude disketa vrácena zpět autorům.

Pro zpracování textu pomocí DTP je pro nás nejvhodnější textový editor T602. Pokud používáte jiný editor, prosíme o převedení do souboru v ASCII kódu. Obrázky pořizované počítačem je možno publikovat přímo, pokud jsou v souboru .TIF.

Pořizování příspěvků na PC není podmínkou pro přijetí do tisku, to znamená, že redakce bude i nadále přijímat příspěvky pořizované na psacím stroji.

Doufáme, že toto opatření se u autorů setká s příznivým ohlasem.

Redakce časopisu



**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
P O D N I K A T E L E**

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



Rukopisy odevzdány k tisku 17. 7. 1992 — Podepsáno k tisku 21. 12. 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.