

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH
INFORMACÍ

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

2-3

ČÍSLO 39 (LXVII)
ROK 1994
ISSN 0375-8427

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD
SLOVENSKÁ AKADEMIA PÔDOHOSPODÁRSKYCH VIED

The journal publishes experimental papers and reviews from all spheres of veterinary medicine

The contents of all editions and paper summaries are covered by Current Contents - Agriculture, Biology and Environmental Sciences

Editorial Board - Redakční rada

Prof. MVDr. Jan B o u d a , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Bohumír H o f í r e k , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Prof. MVDr. Karel H r u š k a , CSc., (Chairman), Veterinary Research Institute, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Gabriel K o v á č , DrSc., University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Doc. MVDr. Imrich M a r a č e k , DrSc., Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

MVDr. Ivan H e r z i g , DrSc., University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

Doc. MVDr. Ivan R o s i v a l , CSc., University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic

Prof. MVDr. Bohumil Š e v č í k , DrSc., Research Institute of Feed Supplements and Veterinary Drugs, Jílové u Prahy, Czech Republic

Editor in Chief - Vedoucí redaktorka

Ing. Zdenka Radošová

EVALUATION OF ACID-BASE DISORDERS IN DAIRY COWS USING PRINCIPAL COMPONENT ANALYSIS AND EMPIRIC EQUATIONS

I. Beseda¹, J. VáPka², J. Králiková¹, J. Sokol³, M. Valent⁴,
J. Kováčik⁴, J. Kubinec³

¹*Technical University - Ecological Faculty, Zvolen*

²*Institute of Forest Ecology, Slovak Academy of Sciences, Zvolen*

³*State Veterinary Administration of the Slovak Republic, Bratislava*

⁴*Agricultural University, Nitra*

Acid-base disorders were studied in two groups of dairy cows. According to conventional interpretation in the 1st group of dairy cows ($n = 10$) the results of the acid-base parameters indicated respiratory alkalosis and in the 2nd group ($n = 10$) metabolic acidosis. The data of the two groups were examined using principal component analysis. So called „reduced variables“ - principal components for each animal were calculated. Each experimental animal was projected in the coordinates of 3 principal components K_1 , K_2 and K_3 . The components K_1 , K_2 and K_3 comprised a 90% data variability. The importance of variables for a dividing of groups (1 and 2) was quantified. The most important were pCO_2 , $(HCO_3)^-$ and BE. It was proved according to mathematico-empiric equations that dairy cows of 1st group suffered from acute respiratory alkalosis. In the 2nd group of dairy cows the combined acid-base disorder was confirmed using the equations for metabolic acidosis and chronic respiratory acidosis. The use of PCA method and empiric equations for acid-base imbalances shows the possibilities for gaining new knowledge how to make the diagnostic process more exact.

dairy cows; combined acid-base disorders; principal component analysis; empiric equations of acid-base disorders

Acid-base disorders in cattle were studied by a great number of authors both in this country and abroad (L e b e d a , 1971; B o u d a , 1975; L a c h m a n et al., 1982; D i r k s e n , 1985 and many others). In spite of extensive research in this area until now, little attention has been paid to investigation of the diagnostics of combined acid-base disorders which really exist in farm animals. These arise when primarily two independent processes caused the changes in the acid-base state of organism (W i n t e r s et al., 1967).

With regard to the complicated diagnostics of combined acid-base disorders we want to point out the new possibilities of the acid-base variables evaluation using both the empiric equations for acid-base disorders (M a x w e l l and K l e e -

man, 1972; Dzúrik et al., 1984) and a multidimensional statistical method - the principal component analysis (Blackith and Reyment, 1971; Paule, 1978). These methods make it possible to gain the qualitatively new information from the same experimental data with the aim to make the diagnostic process more exact. They will further reveal the subclinical combined acid-base disorders which, using the conventional interpretation of results, would escape our attention.

MATERIAL AND METHODS

Two groups of dairy cows were investigated. The first group ($n = 10$) was tested during the summer period. The feed ration offered has a slightly narrowed nitrogen-energy ratio 1 : 5,25 (Slovak Standard 46 7070 gives the ratio 1 : 6,08 for this category of cows).

The second group of dairy cows ($n = 10$) was tested during the winter period. The offered feed ration has an extended nitrogen-energy ratio 1 : 7,44 (according to the Slovak Standard it is 1 : 6,25). Venous blood was analysed by the Astrup apparatus AVL 947. The acid-base data were presented in a histogram form (Beseda and Válek, 1977) and analysed using a multidimensional statistical method - principal component analysis (PCA) (Blackith and Reyment, 1971; Davies, 1971; Paule, 1978). These mathematical equations (Dzúrik et al., 1984) were used for the confirmation of acid-base imbalances:

$$(1) \Delta \text{pH} = -0.86 \cdot \Delta \text{pCO}_2 \pm 0.02 \text{ (Acute resp. alkalosis)}$$

$$(2) \Delta \text{pCO}_2 = 0.16 \cdot \Delta (\text{HCO}_3) \pm 0.2 \text{ (Metabolic acidosis)}$$

$$(3) \Delta (\text{HCO}_3) = 0.63 \cdot \Delta \text{pCO}_2 \pm 2.0 \text{ (Chronic resp. acidosis)}$$

Note: Δ = delta - difference between actual (measured) and reference value of variable.

The reference values of the variables according to Slanina and Beseda (1979) have been used. All calculations have been done on a computer (PCAT.)

RESULTS AND DISCUSSION

The acid-base parameter values of both groups are compared with reference limits and presented in the histograms (Fig. 1 and 2).

The acid-base parameters of the first group signalled the state of respiratory alkalosis (mean pH above and pCO_2 below their respective reference limits, while SB and BE with $(\text{HCO}_3)'$ were within the norm).

In the second group the results indicated metabolic acidosis (decreased mean pH and BE values, while SB and $(\text{HCO}_3)'$ values were close to the reference limits).

The reduced variable-principal components (K_1 , K_2 and K_3) were calculated using the principal component analysis. These comprised 90% data variability among the tested dairy cows. Fig. 3 illustrates the position of each dairy cow in the

coordinate system of principal components, where dairy cows with similar internal environment were projected close to each other.

Fig. 3 demonstrates that dairy cows of group 1 were projected above the plane in comparison with those of the second group which were projected below the plane. It was shown that employing the method of principal components the diagnostic process might be objectivized according to the different quality of the internal environment of animals, evaluated by parameters chosen previously.

1. Histogram of the acid-base parameters in the 1st group of dairy cows suffered from acute respiratory alkalosis

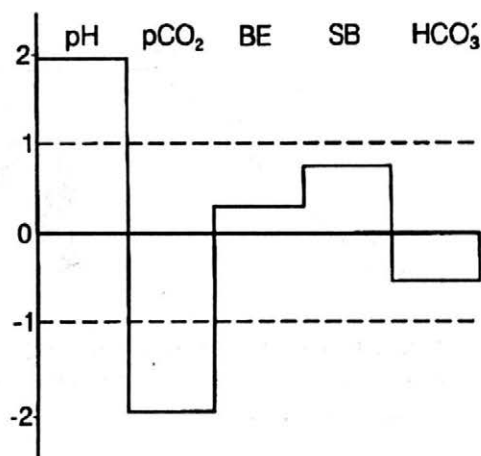
Abbreviations:

BE = base excess

SB = standard bicarbonate

pCO₂ = partial pressure of CO₂

---- reference limits



2. Histogram of the acid-base parameters in the 2nd group of dairy cows suffered from combined metabolic and chronic respiratory acidosis

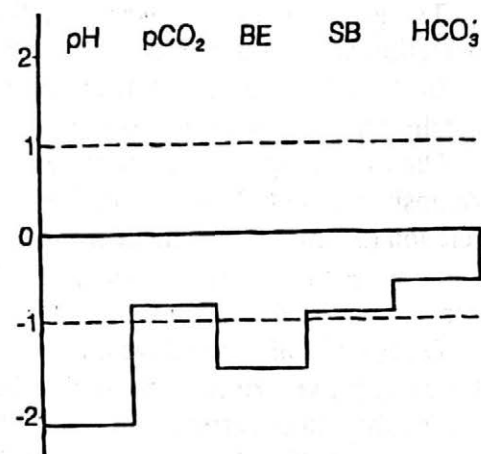
Abbreviations:

BE = base excess

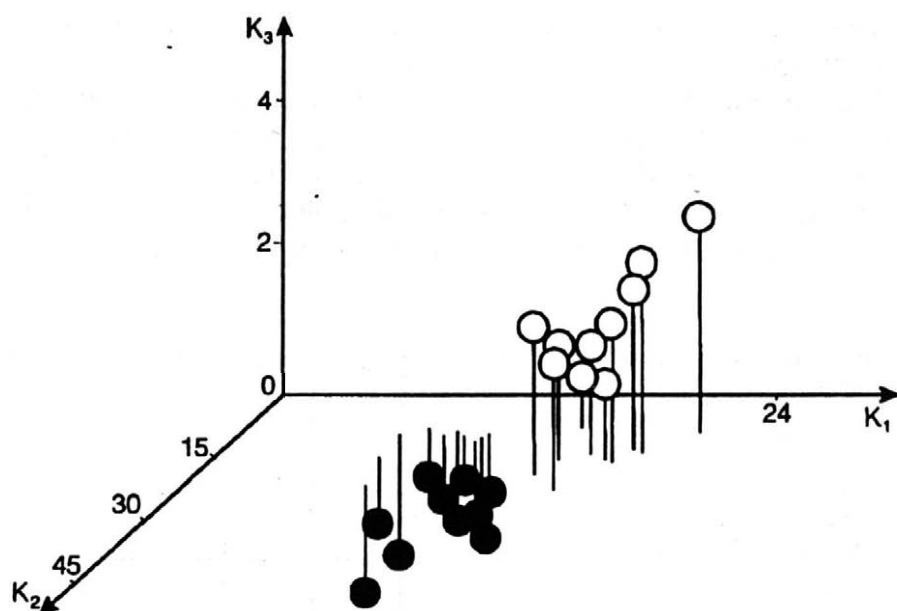
SB = standard bicarbonate

pCO₂ = partial pressure of CO₂

---- reference limits



Using this approach for the evaluation of acid-base disorders (D z ú r i k et al., 1984; M a x w e l l and K l e e m a n, 1972) data of group 1 were experimentally processed according to relation (1). The calculation has confirmed that dairy cows of this group suffered from acute respiratory alkalosis.



3. Differentiation of dairy cows suffering from acute respiratory alkalosis (group 1 ○) and combined metabolic and chronic respiratory acidosis (group 2 ●) in coordinates of the principal components (K_1 , K_2 , K_3)

The given relation (1) was valid for all dairy cows with the exception that the deviation of pH was ± 0.03 .

In dairy cows of group 1, hyperventilation was connected with microclimatic conditions in the housing space during the hot summer period.

Data of group 2 were processed in the same way. To confirm the metabolic acidosis, relation (2) was used. The chronic respiratory acidosis was confirmed by relation (3). Both of the mathematical formulations for the given disorders of dairy cows were valid and indicated that the metabolic acidosis was combined with chronic respiratory acidosis.

Dairy cows of group 2 were fed an acidogenous ration along with the a simultaneous negative effect of the microclimate of a poorly ventilated housing space during the winter period, which played a principal role. Due to these conditions the dairy cows suffered from both metabolic acidosis and chronic respiratory acidosis. Thus the combined acid-base disorder which could escape attention at a conventional interpretation of results was revealed.

The competence of using the given mathematical formulations proceeds from the references (Bartles and Wrbitzky, 1960; Lebeda and Bouda, 1969). It is however necessary to verify these formulations in further experiments with larger groups of dairy cows.

The PCA method enables to evaluate each individual both from the viewpoint of values of variables and mutual relations between them (Tab. I).

Using the latent vectors (LV, Tab. II) the method enables to simultaneously to quantify the diagnostic significance of the studied parameters (B e s e d a et al., 1982). For the first component (K_1), the most important variable was BE (LV = 0.507). For the second component (K_2), the most important variable was (HCO_3^-) (LV = 0.835), and for the third component (K_3) the most important variable was pCO_2 (LV = 0.637).

I. Correlation matrix of Astrup parameters

	pH	pCO_2	BE	SB	HCO_3^-
pH	-	-0.92	0.98	0.95	0.29
pCO_2		-	-0.76	-0.74	0.10
BE			-	0.89	0.51
SB				-	0.54

II. Latent vectors of Astrup parameters (LV)

Parameters	1	2	3
pH	0.506	-0.157	-0.064
pCO_2	-0.426	0.503	0.637
BE	0.507	0.086	0.448
SB	0.503	0.125	0.374
HCO_3^-	0.224	0.835	-0.499

The given method indicates the possibility of predicting the pathological state of organism rising in critical periods of animal life (B e s e d a et al., 1988).

Concluding, the combination of the PCA method and the new knowledge of acid-base disbalance evaluation provide for the more exact diagnostic process.

References

- BARTLES, M. - WRBITZKY, R.: Bestimmung des CO_2 Absorptions Koeffizienten zwischen 15 und 38 °C im Wasser und Plasma. Pfluger's Arch. ges. Physiol., 271, 1960: 162-168.
- BESEDA, I. - VÁLKA, J.: Hodnotenie metabolických profilových testov samočinným počítačom. Veter. Med. (Praha), 22, 1977: 705-712.

BESEDA, I. - BOĎA, K. - KUBINEC, J. - VÁLKA, J. - SOKOL, J.: Use of the computer in detailed study of the data of metabolic profiles in dairy cows. In: Proc. XIIth World Congr. Dis. Cattle the Netherlands, Vol. II, 1982: 1255-1257.

BESEDA, I. - VÁLKA, J. - DOSTÁL, M. - VAŠKU, J. - BOĎA, K. - SOKOL, J.: Use of the principal component analysis for the selection of calves suitable for implantation of TAH. In: Abstract Book XVth Congr. European Soc. for Artificial Organs, Prague, 2 - 3. 1988: 153.

BLACKITH, R. E. - REYMENT, R. A.: Multivariate Morphometrics. London, New York, Academic Press 1971: 146-200.

DAVIES, R. G.: Computer Programming in Quantitative Biology. London, New York, Academic Press 1971: 291-300.

DZÚRIK, R. - DZÚRIKOVÁ, V. - FEDELEŠOVÁ, V. - KOVÁČ, G. - REVÚSOVÁ, V. - SLUGEŇOVÁ, E.: Disorders of internal environment diagnostic and therapy. Martin, 1984: 84-121.

LEBEDA, M. - BOUDA, J.: Použitelnost Andersenova nomogramu pro venózní krev skotu. Veter. Med. (Praha), 14, 1969: 75-80.

LEBEDA, M.: Acidobázická fyziologie hosp. zvířat se základy detekce a terapie porúch. In: Zbor Ref., Pardubice, 1971, 162.

MAXWELL, M. H. - KLEEMAN, C. R.: Clinical Disorders of Fluid and Electrolyte Metabolism. 2nd ed. New York, McGraw-Hill Book Co. 1972: 254.

PAULE, L.: Principal component analysis in the study of forest trees variability. In: Zbor. ved. Prác Lesn. Fak. VŠLD Zvolen, 1978: 71-84.

SLANINA, L. - BESEDA, I.: Metabolický profil hovädzieho dobytku vo vzťahu k zdraviu a úžitkovosti. Bratislava, ÚVIO, ŠVS MPVŽ-SSR, 1979: 150.

WINTERS, R. W. - ENGEL, K. - DELL, R. - BERKSON, R.: Acid-base physiology in medicine. Westlake, London, Copenhagen, Ontario, 1967: 290.

Arrived on 1st November 1993

BESEDA, I. - KOVÁČIK, J. - KUBINEC, J. - VÁLKA, J. - KRÁLIKOVÁ, J. - SOKOL, J. - VALENT, M. (Technická univerzita, Zvolen; Ústav ekologie lesa SAV, Zvolen; Vysoká škola poľnohospodárska, Nitra; Štátna veterinárna správa, Bratislava):

Hodnotenie acidobázických porúch dojnic pomocou analýzy hlavných komponentov a empirických rovníc.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (2-3): 59-65.

Sledovali sme acidobázické poruchy v dvoch skupinách dojnic. Prvú skupinu ($n = 10$) reprezentoval súbor dojnic v letnom kŕmnom období s mierne zúženým úživným pomerom ($SNL : \bar{S} = 1 : 5,25$). Druhá skupina ($n = 10$) dojnic bola testovaná v zimnom kŕmnom období s rozšíreným úživným pomerom ($SNL : \bar{S} = 1 : 7,44$). Výsledky Acidobázických ukazovateľov v 1. skupine poukázali na stav respiračnej alkalózy (obr. 1). Acidobázické ukazovatele v druhej skupine poukázali na metabolickú acidózu (obr. 2). Namerané výsledky oboch skupín boli spracované viacrozmernou štatistickou metódou - analýzou hlavných komponentov. Tzv. „redukované premenné“ - hlavné komponenty sa vypočítali pre každú dojniciu. V súradnom systéme troch

hlavných komponentov (K_1 , K_2 a K_3) sa každá dojnica experimentu projektovala ako bod podľa stavu vnútorného prostredia z hľadiska biochemických parametrov (v našom prípade z Astrupových ukazovateľov, obr. 3). Sledované dojnice, ktoré sa projektovali blízko seba naznačujú, že ich vnútorné prostredie je veľmi podobné. Komponenty K_1 , K_2 a K_3 obsahovali 90 % variability vstupných údajov. Pomocou latentných vektorov, ktoré sú súčasťou výpočtu hlavných komponentov, sa kvantifikovala významnosť jednotlivých biochemických ukazovateľov pre diferenciáciu skupín dojníc s rôznym stavom vnútorného prostredia. Ako najvýznamnejšie sa ukázali pCO_2 , $(HCO_3)^-$ a BE (tab. II). Použitím empirických rovníc sa diagnostikovala v 1. skupine (rovnica 1) akútna respiračná alkalóza, ktorej príčinou bola hyperventilácia dojníc v maštálnom priestore počas horúceho letného obdobia. Na potvrdenie metabolickej acidózy v 2. skupine dojníc sme použili rovnicu (2). Súčasne však hladiny aktuálneho bikarbonátu $(HCO_3)^-$ a pCO_2 vyhovovali aj rovnici (3). Táto skutočnosť poukázala na to, že druhá skupina dojníc má súčasne chronickú respiračnú acidózu, ktorá pri obvyklom spôsobe interpretácie Astrupových ukazovateľov by unikla pozornosti. Príčinou kombinovanej acidobázickej poruchy - metabolickej a chronickej respiračnej acidózy bola acidogénna krmná dávka pri súčasnom negatívnom vplyve mikroklímy v nedostatočne vetranom maštálnom priestore počas zimného obdobia. Použitie analýzy hlavných komponentov a empirických rovníc pre acidobázické poruchy umožňuje získať nové poznatky a spresniť diagnostický proces.

doinice; kombinované acidobázické poruchy; analýza hlavných komponentov; empirické rovnice acidobázických porúch

Contact Address:

Doc. Ing. Imrich B e s e d a , DrSc., Technická univerzita, Fakulta ekológie, Štúrova 2,
960 53 Zvolen,
Tel.0855 20914, fax 0855 27485

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 4/1994 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Šedivá I., Olejník P., Ryšánek D.: Minimal inhibition concentrations of selected antibiotics for strains of *Staphylococcus aureus*

Rychlík I., Bartoš M., Šesták K.: Use of DNA fingerprinting for accurate typing of *Actinobacillus pleuropneumoniae*

Růžicková V.: Growth and survival of *Salmonella enteritidis* in selected egg foods

Urbanová E., Páčová Z.: Počítačové numerické identifikační systémy v diagnostice bakterií izolovaných z živočišných surovin

Schlegelová J., Ryšánek D.: Detekční limity Intestu pro vybrané čisticí a dezinfekční prostředky

PŘEHLED

Kozdera A.: Postnatální vývoj hormonálních vztahů v ose hypotalamus - hypofýza - varle u býků

DYNAMIKA TVORBY ŠPECIFICKÝCH PROTILÁTKO U OVIEC POČAS PRÍJMU PRIEMYSELNÉHO SUBSTRÁTU Z HLINIKÁRNE*

M. Bírešová¹, P. Naď¹, J. Bíreš², I. Rosival²

¹Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice

²Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

Cieľom sledovania bolo posúdiť u oviec vplyv skrmovania priemyselnej emisie zo závodu na výrobu hliníka na tvorbu špecifických protilátok na ovalbumin ELISA metódou. Do sledovania bolo zaradených 11 bahníc plemena merino vo veku 2,5 roka. Ovce v pokusnej skupine (6 ks) dostávali denne po rannom nakŕmení pažerákovou sondou priemyselný substrát zo závodu na výrobu hliníka v dávke 0,75 g/ks. Všetky ovce boli subkutánne imunizované ovalbumínom (OVA, SIGMA A 5503) v 10% alhydrogeli (Superhpos Ltd, Dánsko) v dávke 0,2 mg/10 kg živej hmotnosti. Nárast tvorby protilátok na OVA bol v priebehu sledovania signifikantne vyšší u experimentálnych oviec ako u kontrolných. Zvýšená produkcia špecifických protilátok bola u pokusných oviec už v 1. týždni po aplikácii OVA a maximálnu imunoglobulinémiu sme u tejto skupiny zaznamenali v 3. a 6. týždni po aplikácii OVA ($0,900 \pm 0,161$ resp. $1,260 \pm 0,343$). Štatisticky významné rozdiely v koncentrácii špecifických protilátok sme medzi experimentálnymi a kontrolnými bahnícami zistili v 2., 3., 4., 5. a 6. týždni sledovania ($p < 0,01$). Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že tvorba špecifických protilátok na OVA bola v priebehu aplikácie testovanej emisie intenzívnejšia u pokusných bahníc. Výsledky experimentu poukázali na vhodnosť detekcie špecifických protilátok na ovalbumin ELISA metódou ako súčasť posúdenia imunologického profilu u zvierat vystavených príjmu emisií s obsahom esenciálnych a rizikových mikroprvkov.

ovce; priemyselná emisia; špecifické protilátky; ovalbumín; ELISA

Najvyššia koncentrácia zlúčenín fluóru a hliníka v potravinovom reťazci na Slovensku je v oblasti Žiarskej kotliny (B í r e š a i., 1993). Zvýšený príjem fluoridov je u zvierat spojený s chronickou fluorózou, ktorá sa manifestuje vo forme osteosklerotických a osteoporotických procesov na kostiach a zuboch (K e s s a b i, 1984; B u n c e, 1985). Zvýšený príjem hliníka vyvoláva u zvierat degene-

* Prezentované výsledky boli dosiahnuté pri riešení grantu: Vplyv výživy zvierat na obrany schopnosť voči chorobám a niektoré regulačné mechanizmy organizmu.

račné procesy nervového tkaniva, poruchy metabolismu kostného tkaniva a parathyroidnej žľazy (C o r a i n a i., 1990).

Dosiaľ málo preštudovaný je vplyv zvýšeného príjmu F a Al na ostatné orgánové systémy zvierat. Z pohľadu príjmu obidvoch prvkov zo zdroja priemyselnej emisie zo závodu na výrobu hliníka má veľký význam ich pôsobenie na obranné mechanizmy zvierat.

Pre testovanie imunitného systému u zvierat sa využívajú rôzne metódy (K i t a o a i., 1987; G e r s h w i n, 1989; K l u c i n s k i a i., 1990; V o j t í - š e k a i., 1992). V ekologicky ohrozených oblastiach výber imunologických testov závisí od druhu sledovaného polutantu a charakteru pôsobenia na imunitný systém (L o k a B h a r a t h i a i., 1990; T a n a i., 1993). Na detekciu humorálnej imunity sú intenzívne využívané metódy enzýmovej imunoanalýzy - ELISA (M a g g i o, 1980; T i j s s e n, 1985; M a n č a l, 1986). Ako všetky imunochemické metodiky aj ELISA využíva reakciu antigénu a protilátky, kde na jeden z komponentov je kovalentne viazaný vhodný enzým. Veľká variabilita možného usporiadania testu, vysoká citlivosť detekcie a kvantifikácie biologicky aktívnych makromolekulárných látok, vyskytujúcich sa v organizme v nízkych koncentráciách, radí ELISA metódy k technikám vhodným pre experimentálnu prácu i diagnostické účely (P r o c h á z k o v á a i., 1986).

Cieľom nášho sledovania bolo v experimentálnych podmienkach posúdiť u oviec vplyv priemyselnej emisie zo závodu na výrobu hliníka na tvorbu špecifických protilátok na ovalbumín ELISA metódou - sendvičovou technikou, kde antigén viazaný na pevnú fázu reaguje s testovanou protilátkou a po premytí sa aplikuje značený antiglobulín.

MATERIÁL A METÓDY

Do sledovania bolo zaradených 11 bahníc plemena merino vo veku 2,5 roka. Ovce v pokusnej skupine (6 ks) dostávali denne po rannom nakŕmení pažerákovou sondou priemyselný substrát zo závodu na výrobu hliníka v dávke 0,75 g/kus. Zastúpenie Na, K, Ca, Mg, F, Al, Fe, Pb, Mn, Zn, Cu, As, Cd v testovanej emisii je uvedené v tab. I. Päť bahníc slúžilo ako kontrola. Kŕmna dávka u experimentálnej a kontrolnej skupiny zvierat pozostávala z lúčneho sena (1,5 kg/ks/deň), kŕmnej repy (3 kg/kus/deň) a kŕmnej zmesi BAK (0,20 kg/kus/deň). K pitnej vode mali zvieratá voľný prístup.

Všetky ovce boli s. c. imunizované ovalbumínom (OVA, SIGMA A 5503) v 10% alhydrogeli (Superphos Ltd, Dánsko) dávkou 0,2 mg/10 kg živej hmotnosti. Prvá imunizácia bola urobená pred prvým podaním emisie, druhá imunizácia na 21. deň experimentu rovnakým spôsobom a v rovnakej dávke.

Krv pre analýzu sme odoberali od všetkých zvierat z v. *jugularis* pred prvou imunizáciou, a potom v týždňových intervaloch po dobu 6 týždňov a v 8. a 10.

I. Zastúpenie prvkov v testovanej emisii (mg/kg) – Proportions of elements in tested emissions (mg/kg)

Na	10 900	F	200 000	Mn	620
K	6 020	Al	43 080	Zn	360
Ca	2 342	Fe	15 400	Cu	99,1
Mg	490	Pb	1 398	As	77,5
		Cd	47,5		

týždni trvania pokusu. Špecifické protilátky na OVA boli stanovované z krvného séra modifikovanou ELISA metódou (S t r o b e l, 1983).

Mikrotitračné doštičky (GAMA,P., Č. Budějovice) sme senzibilizovali 1 mg/ml OVA v 0,03M uhličitanovom pufrí, pH 9,6. Po päťnásobnom premytí PBS s obsahom 0,1% Tweenu sme na platničku aplikovali vyšetřované séra v Shafrenovom roztoku, pH 7,2. Po hodinovej inkubácii pri teplote 4 °C a opätovnom premytí roztokom PBS/Tween sme na pevnú fázu naviazali značený antiglobulín (Sigma, Alkaline phosphatase conjugate No A 7789) a inkubovali jednu hodinu pri teplote 4 °C. Po premytí sme do jamiek aplikovali substrát pre alkalickú fosfatázu p-nitrophenyl-phosphate (Sigma, 104-0) v 10% diethanolaminovom pufrí, pH 9,8 a inkubovali jednu hodinu pri teplote 37 °C. Enzymovú reakciu sme zastavili pridaním 3M NaOH a absorbanciu sme merali pri 405 nm na ELISA readri (MULTISKAN PLUS, LABSYSTEM). Zo základného riedenia 1 : 100 boli všetky vzorky spracované 2n riedením, až k riedeniu 1 : 12 800. Výsledky analýz sú udávané v tab. II a obr. 1 v priemerných hodnotách absorbancie ($\bar{x}$) s udaním smerodatnej odchylky ($\pm SD$). Štatistické hodnotenie výsledkov analýz medzi pokusnou a kontrolnou skupinou sme vykonávali Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V tab. II uvádzame zistené priemerné hodnoty absorbancie. Dynamika tvorby anti OVA IgG pokusných a kontrolných oviec je graficky uvedená na obr. 1.

Východiskové hodnoty imunoglobulínov boli v pokusnej a kontrolnej skupine vyrovnané ($0,012 \pm 0,029$ resp. $0,003 \pm 0,007$). Intenzita tvorby protilátok na OVA bola v priebehu sledovania výraznejšia u experimentálnych oviec ako u kontrolných. Zvýšená tvorba špecifických protilátok bola u pokusných oviec už v 1. týždni po aplikácii OVA a maximálnu koncentráciu sme v tejto skupine zaznamenali v 3. a 6. týždni po aplikácii OVA ($0,900 \pm 0,161$ resp. $1,1260 \pm 0,343$).

Štatisticky významné rozdiely v koncentrácii špecifických protilátok medzi experimentálnymi a kontrolnými zvieratami sme zistili v 2., 3., 4., 5. a 6. týždni

II. Priemerné hodnoty absorbancie pri 405 nm – Average values of absorbance at 405 nm

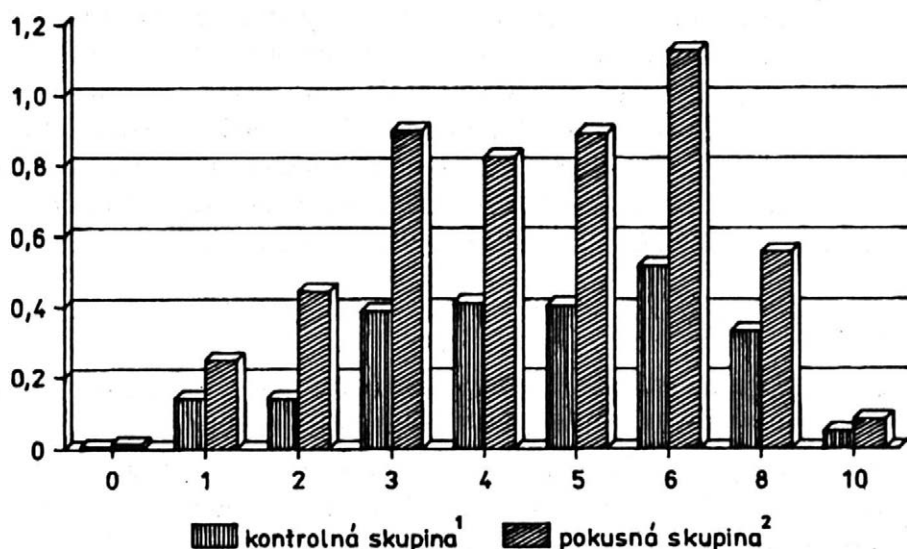
		Týždeň ¹								
		0	1	2	3	4	5	6	8	10
P	$\bar{x}$	0,012	0,248	0,445	0,900	0,825	0,891	1,126	0,558	0,078
	$\pm s$	0,029	0,151	0,123	0,161	0,185	0,224	0,343	0,262	0,028
K	$\bar{x}$	0,003	0,139	0,138	0,391	0,414	0,406	0,518	0,332	0,048
	$\pm s$	0,007	0,033	0,030	1,250	0,080	0,168	0,258	0,109	0,024

P - pokusná skupina – experimental group

K - kontrolná skupina – control group

¹week

sledovania ($p < 0,01$). Hodnoty imunoglobulínov na OVA u kontrolnej skupiny boli najvyššie v 5. a 6. týždni experimentu ($0,406 \pm 168$ resp. $0,518 \pm 0,258$), pričom v porovnaní s hladinami protilátok u pokusných oviec boli o 50 % nižšie. Najnižšie hodnoty špecifických imunoglobulínov v kontrolnej i pokusnej skupine boli v 1., 2., 8. a 10. týždni experimentu.



1. Tvorba protilátok na OVA v krvnom sére oviec; os x – týždeň; os y – absorbancia pri 405 nm —
OVA antibody production in the blood serum of sheep; x-axis – week; y-axis – absorbance at 405 nm

¹control group, ²experimental group

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že tvorba špecifických protilátok na OVA bola v priebehu aplikácie testovanej emisie intenzívnejšia u pokusných bahníc. Jej nástup sme evidovali už v 1. týždni skrmovania priemyselného substrátu.

Zníženie odolnosti a zvýšená vnímavosť zvierat k ochoreniam bola dosiaľ popisovaná ako vedľajší symptóm chronickej fluorózy alebo intoxikácie hliníkom (Dibák, 1960; Cannata a Domingo, 1989). Poznatky o mechanizme pôsobenia obidvoch prvkov na imunitný systém sú neúplné a predpokladá sa, že pri ich nadbytočnom príjme je ovplyvnená tak humorálna ako i celulárna imunita (Yokel, 1984; Shupe ai., 1987).

Použitá priemyselná emisia s najvyšším obsahom F (200 000 mg/kg) a Al (43 080 mg/kg), ktorú sme aplikovali experimentálnym bahniciam (počas 10 týždňov) negatívne neovplyvnila tvorbu špecifických protilátok na OVA. Pri komparácii s kontrolnými bahniciami bola ich tvorba u pokusných bahníc intenzívnejšia, čo sa prejavilo signifikantným nárastom koncentrácie protilátok v porovnaní s kontrolnými ovcami už v 2. týždni experimentu. Vzhľadom na to, že tvorba špecifických protilátok na OVA bola jediným hodnoteným parametrom imunity u pokusných a kontrolných zvierat v priebehu aplikácie emisie, pokladáme uvedené zistenia za predbežné, ktoré vyžadujú rozšíriť sledovanie aj o ďalšie parametre imunologického profilu.

Sledovanie produkcie špecifických imunoglobulínov pre posúdenie odolnosti zvierat vo vzťahu k príjmu mikroprvkov ELISA metódou sa využíva viacerými autormi.

Stevenson ai. (1991) študovali hladiny špecifických imunoglobulínov na OVA u hovädzieho dobytku s karenciou Cu a Se a po ich suplementácii. Autori potvrdili priamu závislosť medzi prípravkom Cu a Se a dynamikou plazmových imunoglobulínov, ale signifikantné rozdiely medzi ich koncentráciou u zvierat s deficienciou Cu a Se a s optimálnym príjmom nezaznamenali.

Jones a Stevenson (1991) sledovali úroveň špecifických imunoglobulínov ELISA metódou u myší s adekvátnym príjmom Se a vitamínu E a u skupiny zvierat s chronickou intoxikáciou Se a vitamínu E. Zvýšený príjem uvedených biologicky aktívnych látok vyvolal v porovnaní s kontrolnou skupinou redukciu tvorby špecifických IgG. Na základe uvedených zistení autori predpokladajú u zvierat s prebytkom Se a vitamínu E zníženú tvorbu špecifických protilátok v priebehu imunizácie. Výsledky uvedených pokusov potvrdili vhodnosť detekcie tvorby špecifických protilátok ako ukazovateľa humorálnej imunity ELISA metódou u zvierat s rozdielnym príjmom stopových prvkov a vitamínu E. Samotná produkcia špecifických IgG však na prívod Cu, Se a vitamínu E reagovala rozdielne, čo vyžaduje ďalšie sledovania pri iných druhoch zvierat a prípadne s ďalšími mikroprvkami.

Aj napriek uvedenému predpokladáme z výsledkov nášho experimentu vhodnosť použitej metódy ako súčasti posúdenia imunologického profilu u zvierat vystavených príjmu emisí s obsahom esenciálnych a rizikových mikroprvkov.

Acknowledgement

The authors wish to express their gratitude to Dr. L. M. Stevenson, Dr. N. Suttle and Dr. D. G. Jones from the Moredun Research Institute in Edinburgh for the help they offered in introducing this method in our Institute.

Literatúra

- BÍŘEŠ, J. - BARTKO, P. - JUHÁSOVÁ, Z. - KOVÁŘOVÁ, E. - JESENSKÁ, M. - WEISSOVÁ, T.: Distribúcia fluóru a hliníka v mäkkých tkanivách hospodárskych a voľne žijúcich zvierat v exponovanej oblasti hliníkárne. Zbor. ved. Prác Úst. exp. veter. Med. Košice, 9, 1993: 191-190.
- BUNCE, A. W. F.: Fluoride in air, grass and cattle. J. Dairy Sci., 68, 1985: 1706-1711.
- CANNATA, J. B. - DOMINGO, J. L.: Aluminium toxicity in mammals: a minireview. Veter. hum. Toxicol., 31, 1989: 577-583.
- CORRAIN, B. - BOMBI, G. G. - TAPPAROA, A. - NICOLONI, M. - ZATTA, P.: Alzheimer's disease and aluminium toxicology. Envir. Hlth Perspect., 89, 1990: 233-235.
- DIBÁK, O.: Biologická úloha fluóru v organizme. Čas. Lék. čes., 99, 1960: 30-38.
- GERSHWIN, L. J.: Clinical immunology. Clinical biochemistry of domestic animals. 4th ed. Academic Press, Inc., 1989: 166-184.
- JONES, D. G. - STEVENSON, L. N.: Influence of subclinical excesses of selenium and/or vitamin E on clinical biochemistry and antibody responses in mice. Scotland, Moredun Research Institute 1991: 1-14.
- KESSABI, M.: Metabolism at biochemie toxicologique du fluor: Une revue. Rev. Méd. vétér., 135, 1984: 497-510.
- KITAO, T. - YOSHIDA, T. - ANDERSON, D. P. - DIXON, O. W. - BLANCH, A.: Immunostimulation of antibody - producing cells and humoral antibody to fish bacterins by a biological response modifier. J. Fish Biol., 31 (Suppl. A), 1987: 87-91.
- KLUCINSKI, W. - DEGORSKI, A. - WINNICKA, A. - OSTASZEWSKI, P. - MIERNIK, J. - DEGORSKA, E.: Wpływ doświadczalnej hiperamonemii na wyniki testu spontanicznej i stymulowanej redukcji blekitu nitrotetrazoliowego (NBT) przez fagocyty krwi obwodowej owiec. Med. weter., 46, 1990: 374-376.
- LOKA BHARATHI, P. A. - SATHE, V. - CHANDRAMOHAN, D.: Effect of lead, mercury and cadmium on a sulphate-reducing bacterium. Pollution, 67, 1990: 361-374.
- MAGGIO, E. T.: Enzyme immunoassay-CRC. Florida, Press inc. Boca Raton, 1980.
- MANČAL, P.: Metody enzymové imunoanalýzy, Praha, 1987.
- PROCHÁZKOVÁ, J. - JOHN, C. a kol.: Vybrané diagnostické metody lékařské imunologie. Praha, Avicenum 1986.
- SHUPE, J. L. - LARSEN, A. E. - OLSON, A. E.: Effects of diets containing sodium fluoride on mink. J. Wildl. Diseases, 23, 1987: 606-613.
- STEVENSON, L. M. - JONES, D. G. - SUTTLE, N. F.: Priority of antibody production for copper and selenium supplies in depleted cattle. In: Proc. Trace Elements in Man and Animals. MOMČILOVIC, B. (ed.), Zagreb, Institut for Medical Research and Occupational Health University, 1991.
- STROBEL, S.: Modulation of the immune response to fed antigen in mice. Ph. D. Thesis, University of Edinburgh 1983.

STROBEL, S. - MOWAT, A. - FERGUSON, A.: Prevention of oral tolerance induction to ovalbumin and enhanced antigen presentation during graft-versus-host reaction in mice *Immunology*, 56, 1985: 57-64.

TAN, X. - TANG, C. - CASTOLDI, A. F. - MANZO, L. - COSTA, L. G.: Effects of inorganic and organic mercury on intracellular calcium levels in rat T lymphocytes. *J. toxicol. Envir. Hlth*, 38, 1993: 159-170.

TJUSSEN, P.: Practice and theory of enzyme immunoassays. In: BURDOU, R. H. - KNIPPENBERY, P.H. (eds.): *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology*. Elsevier Holland, 15, 1985.

VOJTÍŠEK, P. - KNOTEK, Z. - HOŘÍN, P. - MÁDR, P.: Detection of T-lymphocytes in the peripheral blood and lymphoid tissues of cattle using a variant of the E-rosette test and monoclonal antibodies. *J. veter. Med.*, 39, 1992: 633-640.

YOKEL, R. A.: Toxicity of aluminium exposure during lactation to the maternal and suckling rabbit. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 75, 1984: 35-43.

Došlo 5. 10. 1993

BÍŘEŠOVÁ, M. - NAĐ, P. - BÍŘEŠ, J. - ROSIVAL, I. (Research Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice; University of Veterinary Medicine, Košice):

The dynamics of specific antibody production in sheep fed an industrial substrate from an aluminium plant.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (2-3): 67-74.

Our observations aimed at determining the effects of supplementation with aluminium of plant emissions on specific ovalbumin antibody production in sheep by means of an ELISA method. Eleven Merino ewes aged 2.5 years were included in the experiment. The experimental group consisted of 6 animals. The daily intake of 0.75 g substrate per animal was administered after the morning feeding via a laryngeal tube. The amounts of essential and risk elements included in the substrate are given in Tab. I. All animals were subcutaneously immunized with ovalbumin (OVA, SIGMA A 5503) in 10% alhydrogel (Superhpos Ltd., Denmark) at a dose of 0.2 mg per 10 kg of live weight. The first immunization took place prior to the first gavage of emissions, the second one on day 21 of the experiment. Blood samples from the *v. jugularis* were collected from all animals, prior to the first immunization, in 6 weekly intervals and then in the 8th and 10th week of the experiment. A modified ELISA method (Strobel, 1983) was used to determine specific OVA antibodies in the sera. Throughout the observation period the increase of OVA antibody production appeared to be more significant in the experimental sheep. In the latter, increased specific antibody production could be detected as early as in the 1st week with maximum immunoglobulinaemia occurring in weeks 3 and 6 after OVA administration. As to specific antibody concentrations, significant differences between the experimental and the control ewes were recorded in weeks 2, 3, 4, 5 and 6 of the experiment ($p < 0.01$). In the controls, OVA immunoglobulin reached maximum levels in weeks 5 and 6 of investigation ($0.406 \pm$

168 and 0.518 ± 0.258 , respectively); after comparison with the experimental animals these values appeared to be decreased by 50%. In both groups of animals the lowest specific Ig levels were seen in weeks 1, 2, 8 and 10 of observation. The results suggest that specific OVA antibody production was increased during emission feeding and point at the fact that ELISA detection of specific OVA antibody seems to be suitable to determine the immunological profile of animals exposed to emissions containing essential and risk elements.

sheep; industrial emission; specific antibody; ovalbumin; ELISA

Contact Address:

MVDr. Mária B í r e š o v á , Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Hlinkova 1/A, 040 01 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 31852, fax 095 31853

IZOENZÝMY LAKTÁTDEHYDROGENÁZY V CICAČÍCH A KURACÍCH SÉRACH

D. Heinová, J. Blahovec

Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice

V práci popisujeme vlastnosti izoenzýmov laktátdehydrogenázy - LD (EC 1.1.1.27) kuracieho pôvodu a porovnávame ich s vývojovo odlišnými cicavčiami izoenzýmami. K separácii izoenzýmov LD boli použité najnovšie dostupné elektroforetické techniky zahrňujúce elektroforézu v homogénnom a gradientovom polyakrylamidovom géli (PAGE) a izoelektrickú fokusáciu. Pomocou gradientovej PAGE došlo k separácii izoenzýmov LD u všetkých sledovaných zvierat s výnimkou kury domácej. Kuracie izoenzýmy LD sa podarilo separovať za použitia izoelektrickej fokusácie (IEF), pomocou ktorej bolo možné rozlíšiť päť frakcií LD. Mobilita kuracích izoenzýmov LD v gradiente pH bola v porovnaní s enzýmami cicavčieho pôvodu odlišná. Izoenzýmy LD kury domácej boli na rozdiel od svojich cicavčích analógov lokalizované v katodickej časti IEF-gramu. V prípade boviných a králičích sér sa v katodickej časti IEF-gramu nachádzali LD₄ a LD₅, majoritné frakcie LD₁ až LD₃ boli prítomné v anodickej časti. Odlišnú mobilitu cicavčích a vtáčích foriem LD (galiformného pôvodu) sme kvantitatívne vyjadrili pomocou retenčných faktorov R_f . Porovnanie hodnôt R_f ukázalo, že kuracie formy LD sa od cicavčích líšia výrazným posunom svojich izoelektrických bodov (najmä LD₁) k báziickým hodnotám. Porovnanie hodnôt pomerneho zastúpenia jednotlivých foriem enzýmu ukázalo, že na rozdiel od cicavčích izoenzýmov LD (s výnimkou krysieho séra) je v kuracích sérach prevládajúcou frakciou LD₅, nasledovaná LD₄. LD₁ až LD₃ sú zastúpené v oveľa menšom množstve, pričom ich proporcia je pomerne vyrovnaná. U väčšiny cicavčích LD je tento obraz opačný, t.j. prevažná časť aktivity sérových LD je sústredená v prvých troch anodických frakciách a LD₄, LD₅ sú minoritné.

izoenzýmy laktátdehydrogenázy; cicavčie a kuracie séra; elektroforéza v gradiente polyakrylamidu; izoelektrická fokusácia

Kvalitatívna a kvantitatívna charakteristika izoenzýmov laktátdehydrogenázy (LD) (EC 1.1.1.27) tkanív a telesných tekutín mnohých biologických druhov je v literatúre dobre dokumentovaná (Plagemann a i., 1960a; Thornton a Lohni, 1979; Skorkovská, 1983; Beatty a Doxey, 1983; Maekawa Masato, 1988; Yasuda a i., 1989). Rovnako, dobre známe sú práce týkajúce sa zastúpenia týchto enzýmov v sérach zvierat a človeka za fyziologických stavov ako aj pri rôznych ochoreniach (Michálek a Marca-

ník, 1975; Maekawa Masato, 1988; Preus ai., 1989; Blahovec ai., 1992). Tieto poznatky našli svoje uplatnenie v oblasti poznania molekuloých (Kaplan a Ciotti, 1961) a katalytických vlastností izoenzýmov LD (Plagemann ai., 1960b; Wilson ai., 1963; Moss, 1979) ako aj v diagnostickej praxi humánnej (Moss, 1979; Skorkovská, 1983; Maekawa Masato, 1988) a veterinárnej medicíny (Preus ai., 1989; Blahovec ai., 1992).

Napriek rozsiahlym poznatkom o vlastnostiach izoenzýmov LD u rôznych živočíšnych druhov, chýbajú údaje o kvalitatívnych a kvantitatívnych charakteristikách sérových izoenzýmov LD vtáčieho pôvodu. Je pravdepodobné, že táto medzera v komplexnom poznaní uvedených izoenzýmov je spôsobená skutočnosťou, že predtým používaná klasická elektroforéza v homogénnych škrobových a neskoršie v polyakrylamidových géloch neumožňuje ich separáciu.

Cieľom našej práce bolo popísať vlastnosti izoenzýmov laktátdehydrogenázy kuracieho pôvodu a porovnať ich s vývojovo odlišnými cicavčími izoenzýmami. V predkladanej štúdií boli použité najnovšie dostupné elektroforetické techniky zahrňujúce elektroforézu v homogénnom a gradientovom polyakrylamidovom géli a izoelektrickú fokusáciu.

Údaje o izoenzýmoch laktátdehydrogenázy prezentované v našej práci je možné použiť ako východisko pre diagnostické aplikácie, prípadne môžu slúžiť pri identifikácii vývojových zmien týchto enzýmov.

MATERIÁL A METÓDY

SÉRA

Vyšetrené boli séra dospelých, klinicky zdravých zvierat bez rozdielu pohlavia, primeraného výživného stavu, plemien: hovädzí dobytok - slovenský hnedý strakatý; kôň - polokrvné línie; ošpaná - slovenská biela ušľachtilá; ovca - merino; králik - čínčila veľká; krysa - wistar, pes - nemecký ovčiak; kura domáca - kráľčence broilerového typu.

Séra boli vyšetrené v deň odberu krvi. Celková aktivita LD bola stanovená kolorimetrickou metódou podľa autorov Ševela a Továrek (1959).

ELEKTROFORÉZY

Separácie izoenzýmov laktátdehydrogenázy boli robené za použitia elektroforetického systému PhastSystem (Pharmacia LKB, Švédsko). Použité boli tieto separačné techniky:

1. Homogénna polyakrylamidová elektroforéza s koncentráciou polyakrylamidu v separačnej zóne gélu 7,5 % (homogénna PAGE 7,5). Separčné podmienky: 600 V, 12,5 mA, 45 min.

2. Gradientová polyakrylamidová elektroforéza s kontinuálnou 10 - 15% gradientovou separačnou zónou a 2% zosieťovaním (PAGE 10-15). Separáčné podmienky: 400 V, 10,0 mA, 45 min. Separácia izoenzýmov LD bola robená za chladu pri 4 °C a za použitia pufrovacieho systému 0,88 M L-alanín/0,25 M Tris pH 8,8. Séra boli pred aplikáciou na gél riedené vo vhodnom pomere v 50 mM Tris/HCl pufri pH 7,5.
3. Izoelektrická fokusácia (IEF) s rozsahom pH 3 - 9 v homogénnom 5% polyakrylamidovom géli so zosieťovaním 3 % a s obsahom Pharmalyte^R ako nosiča amfolytov. Podmienky separácie: 2000 V, 2,5 mA, 15 °C, 20 min.

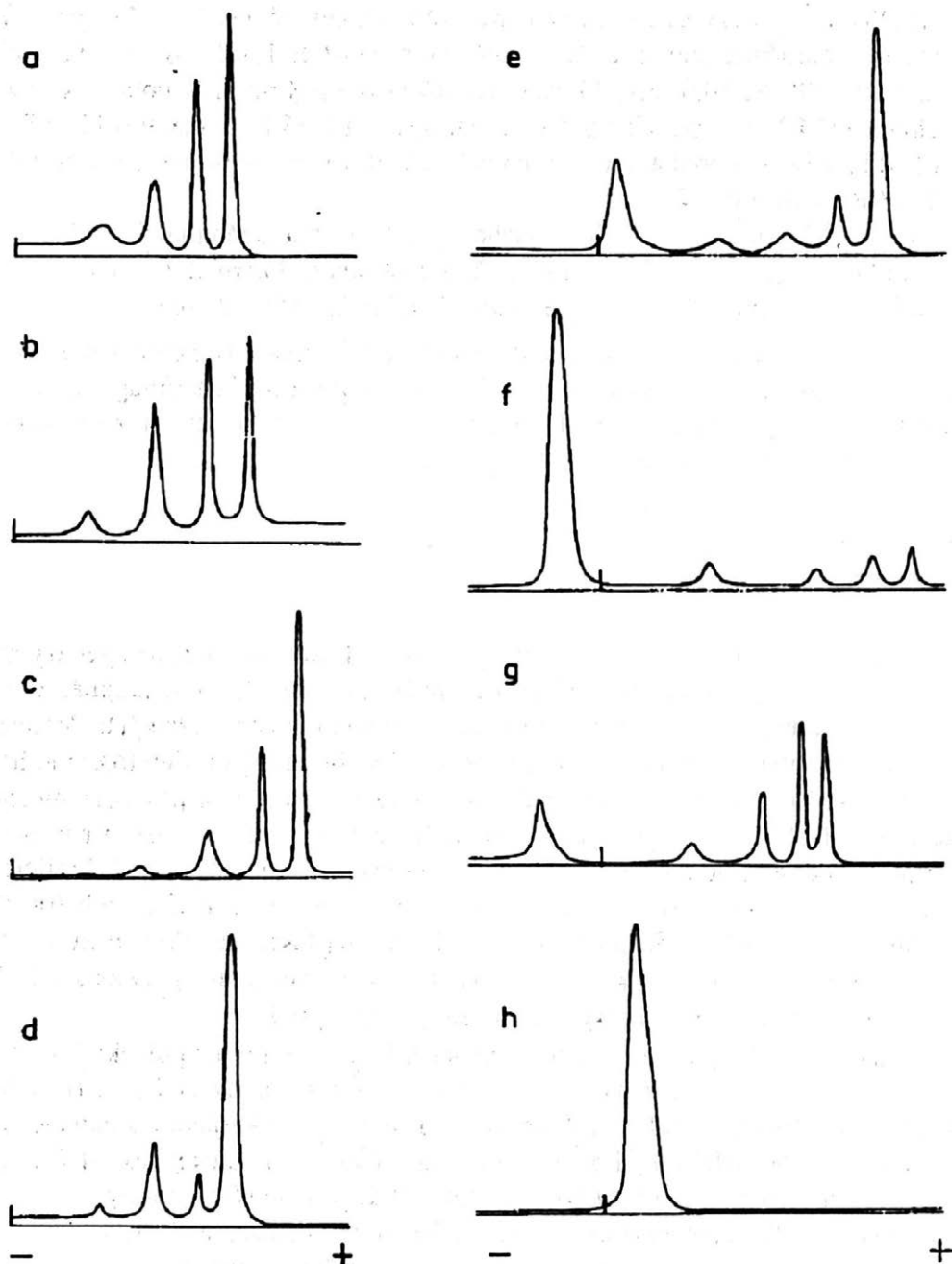
Prítomnosť izoenzýmov v géli bola detekovaná farebnou reakciou s nitroblue tetrazoliom (NBT) a vyhodnotená pri 613 nm za použitia PhastImage systému (Pharmacia LKB, Švédsko). Relatívne rozloženie LD vo frakciách jej izoenzýmov bolo vyjadrené v percentách celkovej aktivity.

VÝSLEDKY

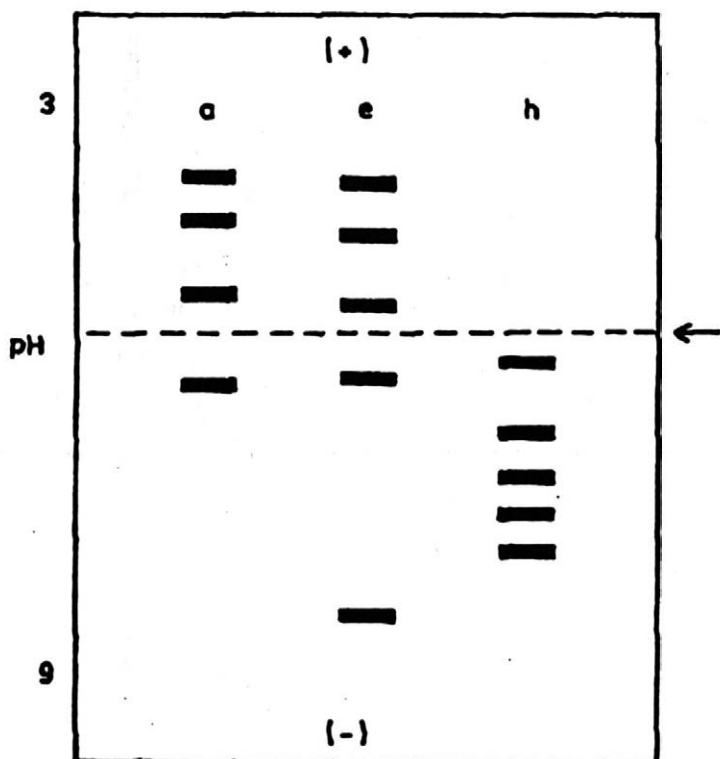
Typický denzitometrický obraz sérových izoenzýmov laktátdehydrogenázy získaný pomocou gradientovej PAGE znázorňuje obr. 1. Z obr. 1 je zrejmé, že za uvedených podmienok dochádza k separácii izoenzýmov LD u všetkých sledovaných zvierat s výnimkou kury domácej. V anodickej časti elektroforetogramu hovädzieho, konského, prasačieho, ovčieho, krysieho séra a séra psa bolo možné identifikovať štyri frakcie enzýmu, a to LD₁ až LD₄. V sére krysy a psa bola v katodickej časti gélu navyše detekovaná piata frakcia - LD₅. V prípade králičích sér bola v anodickej časti elektroforetogramu zistená prítomnosť piatich frakcií enzýmu, t.j. LD₁ až LD₅. Relatívne rozdelenie aktivity laktátdehydrogenázy v normálnych sérach zvierat vyjadrené v percentách celkovej aktivity uvádza tab. I. Prevažná časť aktivity s výnimkou krysy putuje v prvej frakcii.

Kuracie izoenzýmy LD sa v homogénnom ani v gradientovom polyakrylamidovom géli nedelili. K ich separácii s dobrým odlíšením pŕíkov došlo za použitia izoelektrickej fokusácie (obr. 2). Pomocou izoelektrickej fokusácie v gradiente pH 3 - 9 bolo možné rozlíšiť päť frakcií LD s lokalizáciou v katodickej časti IEF gélu. Typický denzitometrický obraz izoenzýmov LD kuracieho séra získaný pomocou izoelektrickej fokusácie znázorňuje obr. 3. Relatívne rozdelenie aktivity kuracích LD vyjadrené v percentách celkovej aktivity je uvedené v tab. II. Prevažná časť aktivity LD putuje v tomto prípade v dvoch frakciách s najbázickejšími izoelektrickými bodmi.

Kvantitatívne vyjadrenie mobility vtáčej formy LD a niektorých cicavcov v gradiente pH vyjadrené v hodnotách retenčných faktorov R_f je uvedené v tab. III. Ako referenčný bod slúžila mobilita LD₁ bovinného pôvodu.



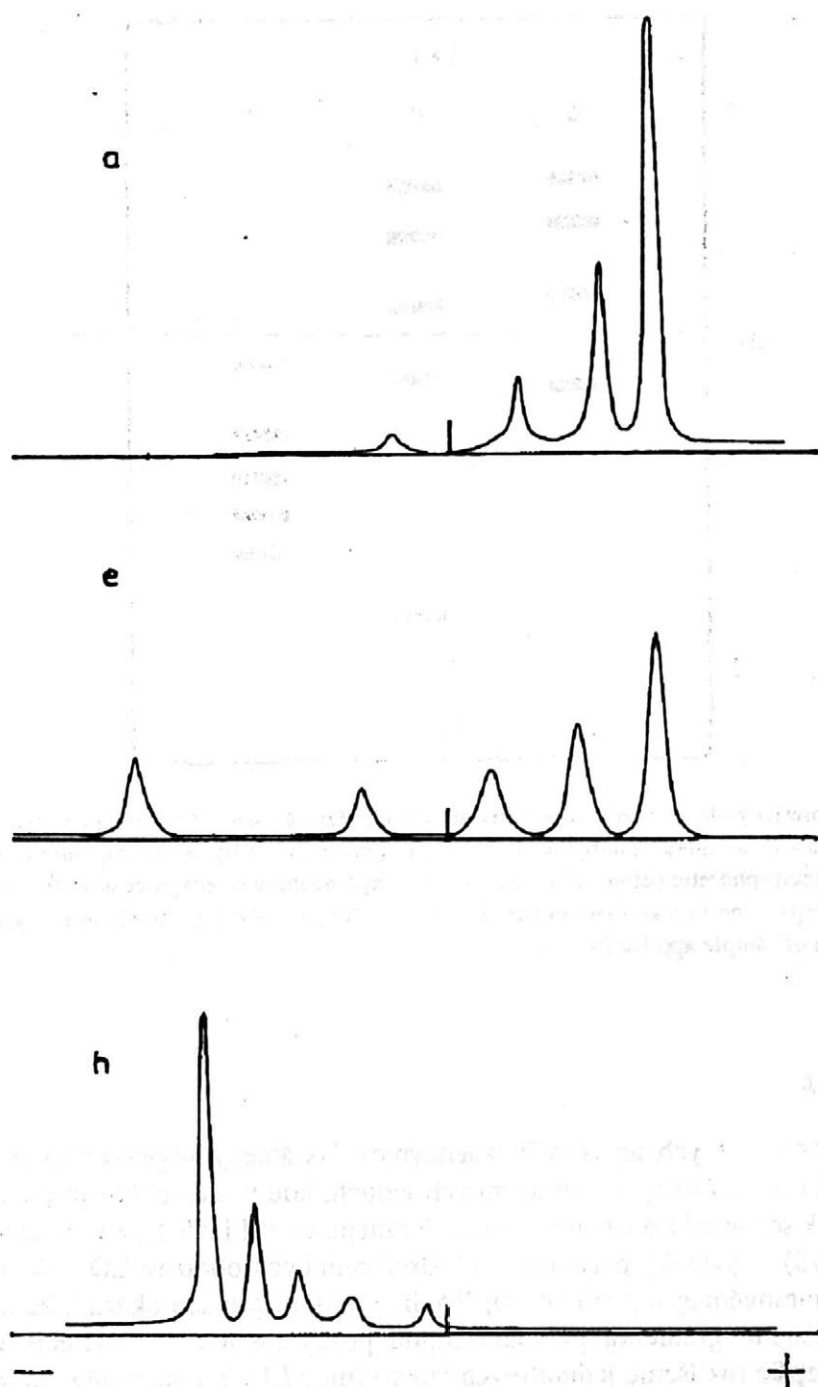
1. Typický denzitometrický obraz izoenzýmů laktátdehydrogenázy séra různých zvířat po elektroforetické separaci v gradientu polyakrylamidu (10 - 15 %); a - hovězí dobytek, b - kůň, c - ošpaná, d - ovca, e - králik, f - krysa, g - pes, h - kura domácí - A typical densitometric pattern of serum lactate dehydrogenase isoenzymes of various animals after their electrophoretic separation in a gradient of polyacrylamide (10 - 15 %); a - cattle, b - horse, c - pig, d - sheep, e - rabbit, f - rat, g - dog, h - fowl



2. Elektroforetický obraz izoenzýmov laktátdehydrogenázy sér rôznych zvierat po separácii v gradiente pH (3 - 9); a - hovädzí dobytok, e - králik, h - kura domáca; šípka označuje miesto aplikácie vzorky - Electrophoretic pattern of serum lactate dehydrogenase isoenzymes of different animals after their separation in a gradient of pH (3 - 9); a - cattle, e - rabbit, h - fowl; an arrow indicates the position of sample application

DISKUSIA

Pri kvantitatívnych analýzach izoenzýmov laktátdehydrogenázy sa spravidla používajú elektroforezy v homogénnych géloch, kde v niektorých prípadoch nedochádza k separácii s dostatočným rozlíšením prvkov (Michálek a Marcánik, 1975). Výsledky porovnania elektroforetických obrazov LD získaných za použitia homogénnej a gradientovej PAGE v našom prípade ukázali, že použitie koncentračného gradientu polyakrylamidu poskytuje lepšie zaostrenie frakcií, a tým aj lepšie rozlíšenie jednotlivých izoenzýmov LD. Z tohoto dôvodu sme pre účely tejto štúdie ďalej zvolili gradientovú PAGE. Hodnoty pomerného zastúpenia izoenzýmov LD po ich separácii v gradiente PAA (tab. I) sú v prevažnej miere v súlade s údajmi uvádzanými v literatúre (Michálek a Marcánik, 1975; Thornton a Lohni, 1979; Preusai, 1989).



3. Typický denzitometrický obraz izoenzymů laktátdehydrogenázy séra různých zvířat po separaci v gradientu pH (3 - 9); a - hovězí dobytek, e - králik, h - kura domácí - A typical densitometric pattern of serum lactate dehydrogenase isoenzymes of different animals after their separation in a gradient of pH (3 - 9); a - cattle, e - rabbit, h - fowl

I. Relatívne rozdelenie aktivity laktátdehydrogenázy v normálnych sérach cicavcov (%) (gradientová PAGE); hodnoty sú priemerom (n) stanovení – Relative distribution of lactate dehydrogenase activity in normal mammalian serum (%) (gradient PAGE); the values are averages of (n) estimations

Druh ¹	Celková aktivita ² IU	LD ₁	LD ₂	LD ₃	LD ₄	LD ₅
		%				
Hovädzí dobytok ³ ($n = 6$)	403	53	35	11	1	
Kôň ⁴ ($n = 6$)	111	33	38	27	2	
Ošpanáľ ⁵ ($n = 12$)	223	54	30	15	1	
Ovca ⁶ ($n = 12$)	286	65	10	23	2	
Králík ⁷ ($n = 6$)	104	66	13	2	1	18
Krysa ⁸ ($n = 6$)	163	5	5	1	4	85
Pes ⁹ ($n = 6$)	49	27	34	18	6	15

¹species, ²total activity, ³cattle, ⁴horse, ⁵pig, ⁶sheep, ⁷rabbit, ⁸rat, ⁹dog

II. Relatívne rozdelenie aktivity laktátdehydrogenázy v sérach kury domácej (%) (IEF 3-9); hodnoty sú priemerom (n) stanovení – Relative distribution of lactate dehydrogenase activity in normal serum of fowl (%) (IEF 3-9); the values are averages of (n) estimations

Druh ¹	Celková aktivita ² IU	LD ₁	LD ₂	LD ₃	LD ₄	LD ₅
		%				
Kura domáca ³ ($n = 6$)	470	3	6	5	23	63

¹species, ²total activity, ³fowl

III. Hodnoty retenčných faktorov R_f izoenzymov laktátdehydrogenázy po izoelektrickej fokusácii (3 - 9); hodnoty sú priemerom (n) meraní – Values of retention factors R_f of lactate dehydrogenase isoenzymes after their isoelectric focusing (3 - 9); the values are averages of (n) measurements

Druh ¹	LD ₁	R_f			
		LD ₂	LD ₃	LD ₄	LD ₅
Hovädzí dobytok ² ($n = 8$)	1,00	0,73	0,27	-0,37	
Králík ³ ($n = 4$)	0,97	0,63	0,20	-0,33	-1,80
Kura domáca ⁴ ($n = 6$)	-0,23	-0,67	-0,93	-1,17	-1,50

¹species, ²cattle, ³rabbit, ⁴fowl

Na druhej strane, pre separáciu kuracích izoenzýmov laktátdehydrogenázy nebola ani jedna z vyššie uvedených typov elektroforéz vhodná (obr. 1). Preto sme sa pokúsili za týmto účelom použiť iný spôsob delenia. Zistili sme, že vhodným typom je izoelektrická fokusácia, pomocou ktorej bolo možné rozlíšiť päť frakcií LD (obr. 2). Pri identifikácii jednotlivých frakcií LD po izoelektrickej fokusácii sme použili princíp ich vzájomnej polohy s ohľadom na anódu, t.j. frakcia najbližšie k anóde bola označená LD₁ a frakcia najbližšie ku katóde LD₅.

Porovnanie hodnôt pomerného zastúpenia jednotlivých foriem enzýmu (tab. I a II) ukázalo, že na rozdiel od cicavčích izoenzýmov LD (s výnimkou krysieho séra) je v kuracích sérach prevládajúcou frakciou LD₅, nasledovaná LD₄. LD₁ až LD₃ sú zastúpené v oveľa menšom množstve, pričom ich proporcia je pomerne vyrovnaná. U väčšiny cicavčích LD je tento obraz opačný, t. j. prevažná časť aktivity sérových LD je sústredená v prvých troch anodických frakciách a LD₄, LD₅ sú minoritné.

Z výsledkov našich pozorovaní je zrejmé, že za použitia klasickej elektroforézy v polyakrylamidových géloch nie je možné dosiahnuť separáciu vtáčích izoenzýmov laktátdehydrogenázy galiformného pôvodu. Prítomnosť difúznej frakcie v oblasti cicavčích LD₅ (obr. 1) môže viesť k chybnému záveru, že v krvnom sére kury domácej sa nachádza iba M₄ forma laktátdehydrogenázy. Ako ukázali výsledky separácie izoenzýmov LD kuracieho pôvodu technikou izoelektrickej fokusácie, v skutočnosti sa v krvnom sére kury domácej nachádza päť foriem LD (obr. 2).

Izoelektrická fokusácia navyše ukázala, že mobilita kuracích izoenzýmov LD v gradiente pH je v porovnaní s enzýmami cicavčieho pôvodu odlišná (obr. 2). Izoenzýmy LD kury domácej boli na rozdiel od svojich cicavčích analógov lokalizované v katodickej časti IEF-gramu. V prípade bovinných a králičích sér sa v katodickej časti IEF-gramu nachádzali LD₄ a LD₅, majoritné frakcie LD₁ až LD₃ boli prítomné v anodickej časti. Za účelom kvantitatívneho vyjadrenia odlišnej mobility cicavčích a kuracích foriem LD sme vypočítali hodnoty retenčných faktorov R_f jednotlivých izoenzýmov. Ako referenčný bod slúžila mobilita LD₁ bovinného pôvodu.

Hodnoty retenčných faktorov R_f stanovené pre elektroforetickú mobilitu izoenzýmov laktátdehydrogenázy bovinného, králičieho a kuracieho pôvodu v gradiente pH 3 - 9 uvádza tab. III. Na základe týchto hodnôt možno povedať, že kuracie formy LD sa od cicavčích líšia výrazným posunom svojich izoelektrických bodov (najmä LD₁) k báziickým hodnotám. Táto skutočnosť môže vysvetľovať ich neochotu deliť sa za podmienok použitých pri homogénnej a gradientovej gélovej elektroforéze. Umožňuje tiež vysloviť predpoklad, že tieto enzýmy sa vyznačujú relatívne vyšším obsahom báziických aminokyselín v molekulách svojich podjednotiek, predovšetkým podjednotky H. Je pravdepodobné, že odlišné elektroforetické vlastnosti cicavčích a vtáčích LD sú odrazom odlišného fylogenetického vývoja týchto molekúl.

Literatúra

- BEATTY, E. M. - DOXEY, D. L.: Lactate dehydrogenase and creatine kinase isoenzyme levels in the tissue and serum of normal lambs. *Res. Vet. Sci.*, 35, 1983: 325-330.
- BLAHOVEC, J. - ŠLESÁROVÁ, L. - ROSIVAL, I.: Sérové enzymy v diagnostice chorôb domácich zvierat. *Veterinářství*, 42, 1992: 174-176.
- KAPLAN, N. O. - CIOTTI, M. M.: Evolution and differentiation of dehydrogenases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 94, 1961: 701-721.
- MAEKAWA MASATO: Lactate dehydrogenase isoenzymes. Review. *J. Chromatography*, 429, 1988: 373-398.
- MICHÁLEK, A. - MARCANÍK, J.: Hodnoty aktivít izoenzymov dehydrogenázy kyseliny mliečnej v sérach hospodárskych zvierat. *Veter. Med. (Praha)*, 20, 1975: 199-205.
- MOSS, D. W.: Isoenzyme Analysis. *Analytical Sciences Monographs*, The Chemical Society, London, 1979.
- PLAGEMANN, P. G. W. - GREGORY, K. F. - WRÓBLEWSKI, F.: The electrophoretically distinct forms of mammalian LDH. *J. Biol. Chem.*, 235, 1960a: 2282-2287.
- PLAGEMANN, P. G. W. - GREGORY, K. F. - WRÓBLEWSKI, F.: The electrophoretically distinct forms of mammalian lactic dehydrogenase. II. Properties and interrelationships of rabbit and human lactic dehydrogenase isoenzymes. *J. Biol. Chem.*, 235, 1960b: 2288-2293.
- PREUS, M. - KARSTEN, B. - BHARGAVA, A. S.: Serum isoenzyme pattern of creatine kinase and lactate dehydrogenase in various animal species. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 27, 1989: 787-790.
- SKORKOVSKÁ, I.: Isoenzymy laktát dehydrogenázy v neurologické diagnostice. Thomayerova sbírka z interních oborů. *Zdravotnícké nakladatelství Praha, Avicenum* 1983: 115-201.
- ŠEVELA, M. - TOVÁREK, J.: Metoda stanovení laktikodehydrogenázy v tělních tekutinách. *Čas. Lék. Českoslov.*, 98, 1959: 844.
- THORNTON, J. R. - LOHNI, M. D.: Tissue and plasma activity of lactic dehydrogenase and creatine kinase in the horse. *Equine Vet. J.*, 11, 1979: 235-238.
- WILSON, A. C. - CAHN, R. D. - KAPLAN, N. O.: Functions of the two forms of LDH in breast muscle of birds. *Nature*, 197, 1963: 330-334.
- YASUDA, J. - TATEYAMA, K. - SYUTO, B. - TOO, K.: Lactate dehydrogenase and creatine phosphokinase isoenzymes in tissues of laboratory animals. *Jap. J. Vet. Sci.*, 38, 1989: 19-29.

Došlo 17. 11. 1993

HEINOVÁ, D. - BLAHOVEC, J. (University of Veterinary Medicine, Košice):

Lactate dehydrogenase isoenzymes in mammalian and fowl sera.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (2-3): 75-84.

In the article we describe characteristics of lactate dehydrogenase (LD) (EC 1.1.1.27) isoenzymes of fowl origin. We compare them with characteristics of evolutionary different mammalian forms of the enzyme. Separations of LD isoenzymes have been done using the most progressive electrophoretic techniques available at present. They included electrophoresis in homogeneous and gradient polyacrylamide gels (PAGE) as

well as isoelectric focusing (IEF). A typical densitometric pattern of serum LD isoenzymes obtained by gradient PAGE is illustrated in Fig. 1. It is obvious that LD isoenzymes of all investigated animals have been well separated under applied experimental conditions, with an exception of fowl serum. We succeeded in separating fowl LD isoenzymes using isoelectric focusing. It was possible to distinguish five fractions of lactate dehydrogenase (Fig. 2) by this technique. As shown in Fig. 2, mobility of avian isoenzymes in the gradient of pH differs from that of their mammalian analogues. Fowl LD isoenzymes were localized in cathodic part of IEF-gram. In the case of mammalian isoenzymes (cattle and rabbit), we found LD₄ and LD₅ forms of the enzyme in this part. The major fractions, i. e. LD₁ to LD₃ were present in anodic part of IEF-gram. We quantitatively expressed this different mobility of mammalian and avian forms of LD using retention factors R_f (Tab. III). A migration distance of cattle LD₁ served as a reference point. It could be seen from a comparison of R_f values that avian forms of LD (of galiform origin) differed from mammalian ones by an outstanding shift of their isoelectric points, especially that of LD₁, toward basic values. The total LD activity (IU) and the relative distribution of the LD isoenzyme activities (%) in normal serum of various animals are listed in Tabs I and II. A comparison of these values showed that, in contrast to mammalian serum (with the exception of the rat one), LD₅ was the predominant fraction in fowl serum, followed by LD₄. LD₁ to LD₃ occurred in low amounts with fairly similar proportions. On the other hand, most of mammalian serum revealed a reverse pattern of LD isoenzymes, i. e. predominant portion of serum activity had been concentrated in the first three anodic fractions and LD₄ and LD₅ had been found to be minor ones.

lactate dehydrogenase isoenzymes; mammalian and fowl serum; electrophoresis in gradient of polyacrylamide; isoelectric focusing

Contact Address:

MVDr. Dagmar Heřínová, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 32111-15, fax 095 767675

VPLYV HEPATOPROTEKTÍVNEJ LÁTKY - SILYMARÍNU NA HISTÓNY V PEČENI OŽIARENÝCH POTKANOV

M. Kožurková, H. Haková, E. Mišúrová

Prírodovedecká fakulta UPJŠ, Košice

Sledovali sme zmeny koncentrácie, celkového obsahu histónov a relatívneho zastúpenia jednotlivých histónových frakcií, v pečeni potkanov po podaní hepatoprotektívnej látky silymarínu (70 mg/kg) a celotelovom gama ožiarení dávkou 3 Gy. Zistili sme, že po podaní samotného silymarínu koncentrácia a obsah histónov v pečeni prechodne vzrástla na 30. hodinu. Samotné ožiarenie spôsobilo výrazný pokles koncentrácie aj celkového obsahu histónov. Podanie silymarínu jednu hodinu pred ožiarením zabránilo poklesu na 30. hodinu, avšak po siedmich dňoch boli zmeny histónov hlbšie ako po samotnom ožiarení. Relatívne zastúpenie histónových frakcií H1 alebo H2A + H2B bolo znížené na 30. hodinu u pokusných zvierat všetkých troch skupín v prospech frakcie H3. Po podaní silymarínu a ožiarení táto zmena pretrvávala do 7. dňa a v rámci frakcie H1 vzrástlo zastúpenie subfrakcie H1⁰.

potkan; silymarín; pečeň; gama-žiarenie; históny

Štúdiu zloženia a vlastností histónov je venovaná pozornosť pre ich zásadný význam pri uchovaní a kontrole štruktúry chromozómov počas bunkového cyklu i účasti pri regulácii transkripcie (Kornberg a Klug, 1981; Fensfeld, 1992). Zatiaľ je však málo informácií o poškodení histónov ionizujúcim žiarením (Šuliová a i., 1982, 1983; Kožurková a i., 1991, 1992) hoci je možné, že ich zmeny sú jednou z príčin porušenia štruktúry chromozómov vedúceho k poškodeniu a prípadne aj smrti bunky.

Radiačné poškodenie možno zmierniť rôznymi chemickými látkami, ktoré sú obvykle účinné pri ich predradiačnej aplikácii (Wenke a i., 1984; Kuna, 1985). Niektoré rádioprotektívne látky (napr. cysteamín, adeturon) pozitívne ovplyvňujú aj rozvoj latentného poškodenia pečene (Kropáčová a i., 1980; Kropáčová a Mišúrová, 1985).

Podanie rádioprotektívnej látky však nie je bez rizika. Ochranná dávka väčšiny z nich vyvoláva nežiadúce vedľajšie účinky. V našej práci sme sa snažili zistiť možnosť zmiernenia radiačného poškodenia pečene použitím jedného z bežne dostupných hepatoprotektívnych liečiv - silymarínu.

Silymarín má pozitívne účinky na poškodenú pečeň - stabilizuje membrány, stimuluje úroveň syntézy ribozomálnej RNA (Braz, 1976) a znižuje možnosť toxického poškodenia pečene niektorými chemoterapeutikami (Bartoň a i., 1985).

V nadväznosti na predchádzajúce štúdiá, kde bol zistený určitý priaznivý účinok tejto látky na zmeny histónov, DNA a RNA, mitotickej aktivity, chromozómové aberácie v pečeni a iných orgánoch krátku dobu po ožiarení (K o Ź u r k o v á a i., 1992; H a k o v á a M i š ť u r o v á, 1992; K r o p á č o v á a M i š ť u r o v á, 1992), sme v tejto práci vyšetrovali účinok silymarínu pri iných podmienkach žiarenia a v neskoršom postradiačnom období.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy sme robili na potkanoch kmeňa Wistar (chov SPF) s telesnou hmotnosťou 240 - 280 g. Zvieratá boli kŕmené štandardnou laboratórnou potravou LD a napájané pitnou vodou *ad libitum*. Silymarín (Flavobion Spofa) bol podávaný perorálne sondou v dávke 70 mg/kg telesnej hmotnosti. Potkany boli ožiarené celotelovou dávkou 3 Gy gama-žiarenia (^{60}Co) pri dávkovom príkone 0,459 Gy/min.

Zvieratá boli rozdelené do 7 skupín po 5 - 6 zvierat. Prvej a druhej skupine sme podali samotný silymarín a vyšetrovali ju na 30 hodinu (S_{30h}) resp. 7. deň (S_{7d}). Tretiu a štvrtú skupinu sme ožiarili celotelovou dávkou 3 Gy a vyšetrovali sme ju na 30. hodinu (O_{30h}) resp. 7. deň (O_{7d}). Piatej a šiestej skupine sme jednu hodinu pred ožiarení podali silymarín a vyšetrovali sme na 30. hodinu (SO_{30h}) resp. 7. deň (SO_{7d}).

Spolu s pokusnými boli vyšetrované aj zvieratá chované pri štandardných podmienkach vo zverinci (K).

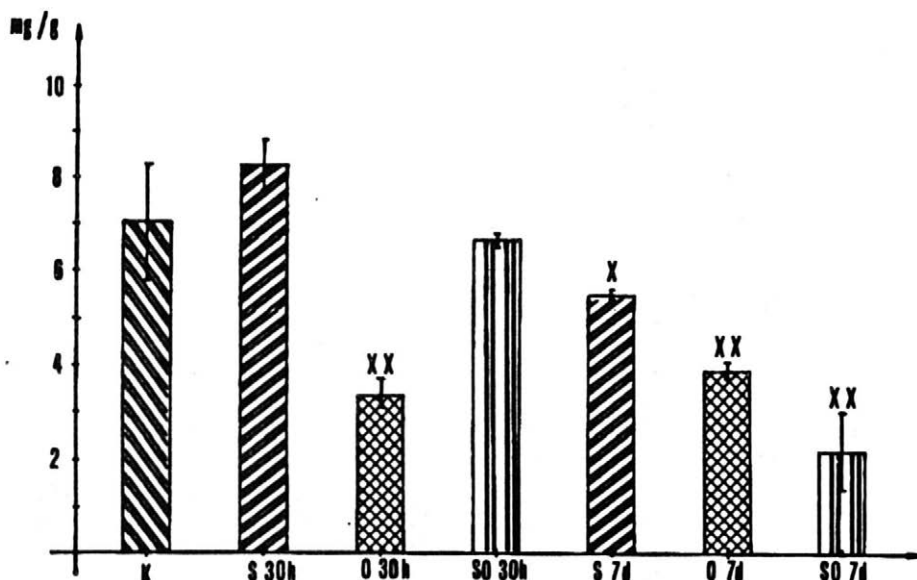
Izoláciu jadier a extrakciu histónov sme urobili metódou G r u n i c k e a i., (1988). Celkovú koncentráciu extrahovateľných histónov sme stanovili metódou L o w r y h o a i., (1951) pri použití bovinného séra albumínu ako štandardu. Separáciu histónov sme robili v 15% akrylamidovom géli metódou P a n y i m a a C h a l k l e y a (1969) na aparátúre GE II Pharmacia. Relatívne zastúpenie histónových frakcií sme stanovili vyhodnocovaním gélov na denzitometri SHIMADZU CS - 930.

Získané výsledky sme štatisticky vyhodnotili Peritzovým *F*-testom (H a r p e r, 1984).

VÝSLEDKY

Samotný silymarín výrazne zvýšil koncentráciu a najmä celkový obsah extrahovateľných histónov v pečeni potkanov vyšetrovaných na 30. hodinu. Po 7 dňoch hodnoty klesli pod úroveň kontrolných hodnôt (obr. 1, 2).

Celotelové ožiarenie dávkou 3 Gy gama-žiarenia spôsobilo hlboký pokles koncentrácie a celkového obsahu histónov na 30. hodinu, ktorý pretrvával aj na 7. deň.



1. Koncentrácia extrahovateľných histónov v pečeni potkanov na 30. hodinu a 7. deň po ožiarení a podaní silymarínu – The concentration of extractable histones in the liver of rats in hour 30 and on day 7 after irradiation and silymarin administration

Podaný silymarín v dávke 70 mg/kg, vyšetovanie na 30. hodinu (S_{30h}) a 7. deň (S_{7d}) – Administered silymarin at a dose of 70 mg/kg, examination in hour 30 (S_{30h}) and on day 7 (S_{7d})

Celotelové ožiarenie dávkou 3 Gy, vyšetovanie na 30. hodinu (O_{30h}) a 7. deň (O_{7d}) – Whole body irradiation at a dose of 3 Gy, examination in hour 30 (O_{30h}) and on day 7 (O_{7d})

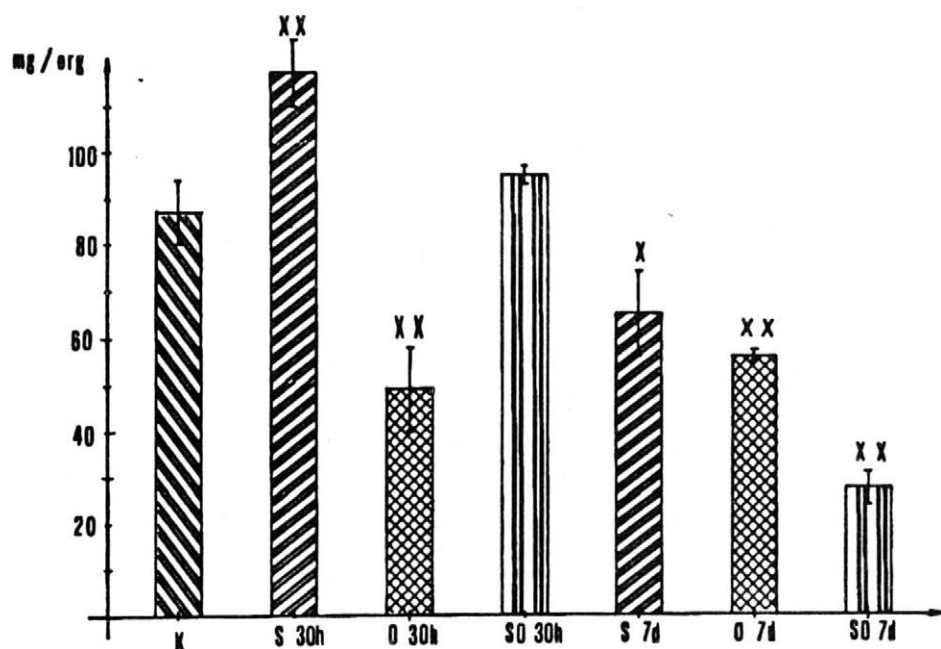
Hodinu pred ožiarení podaný silymarín, vyšetovanie na 30. hodinu (SO_{30h}) a 7. deň (SO_{7d}) – Silymarin administered 1 hour before irradiation, examination in hour 30 (SO_{30h}) and on day 7 (SO_{7d})

Štatistická významnosť v porovnaní s kontrolnou skupinou (K) – Statistical significance in comparison with control group (K)

x = $P < 0,05$, xx = $P < 0,001$

Silymarín podaný jednu hodinu pred ožiarení zabránil kvantitatívnym zmenám histónov na 30. hodinu po ožiarení avšak na 7. deň bol pokles ešte hlbší ako po samotnom ožiarení.

Ako ukazuje tab. I na 30. hodinu sme v extrahovanom históne pokusných zvierat všetkých troch skupín zistili signifikantné zníženie relatívneho zastúpenia histónových frakcií H2A + H2B a po samotnom ožiarení aj pokles frakcie H1. Zníženie proporcie histónov bohatých na lyzín bolo spojené so zvýšením relatívneho zastúpenia histónu H3. U potkanov, ktorým bol jednu hodinu pred ožiarení podaný silymarín tieto zmeny pretrvávali do 7. dňa a boli spojené s nárastom subfrakcie H1⁰ v rámci histónovej frakcie H1 (tab. II).



2. Obsah extrahovateľných histónov v pečeni potkanov na 30. hodinu a 7. deň po ožiarení a podaní silymarínu – The content of extractable histones in the liver of rats in hour 30 and on day 7 after irradiation and silymarin administration

Podaný silymarín v dávke 70 mg/kg, vyšetovanie na 30. hodinu (S_{30h}) a 7. deň (S_{7d}) – Administered silymarin at a dose of 70 mg/kg, examination in hour 30 (S_{30h}) and on day 7 (S_{7d})

Celotelové ožiarenie dávkou 3 Gy, vyšetovanie na 30. hodinu (O_{30h}) a 7. deň (O_{7d}) – Whole body irradiation at a dose of 3 Gy, examination in hour 30 (O_{30h}) and on day 7 (O_{7d})

Hodinu pred ožiarením podaný silymarín, vyšetovanie na 30. hodinu (SO_{30h}) a 7. deň (SO_{7d}) – Silymarin administered 1 hour before irradiation, examination in hour 30 (SO_{30h}) and on day 7 (SO_{7d})

Štatistická významnosť v porovnaní s kontrolnou skupinou (K) – Statistical significance in comparison with control group (K)

x = $P < 0,05$, xx = $P < 0,001$

DISKUSIA

Zníženie koncentrácie a celkového obsahu histónov po ožiarení bolo zistené aj pri iných pokusoch (Süliová a Mišúrová, 1982, 1983; Kožurková a i., 1991) v rôznych orgánoch odlišujúcich sa svojou proliferatívnou aktivitou vrátane intaktnej a regenerujúcej pečene. Keďže hepatocyty sa v intaktnej pečeni dospelých zvierat delia iba zriedka (u potkanov je približne 0,01 % buniek v mitóze) a intermitotická smrť pečenevých buniek pri použitých dávkach žiarenia nenastáva, usudzujeme, že zníženie výťažku histónov nie je dôsledkom straty poškodených

I. Relatívne zastúpenie histónových frakcií (%) v pečeni potkanov na 30.hodinu a 7. deň po ožiarení (3 Gy) a podaní silymarínu (70 mg/kg). Celkový extrahovaný histón = 100 % – Relative portions of histone fractions (%) in the liver of rats in hour 30 and on day 7 after irradiation (3 Gy) and after silymarin administration (70 mg/kg). Total extracted histone = 100 %

Skupina ¹ Frakcia ²	K	S _{30h}	O _{30h}	SO _{30h}
H1	16,80 ± 0,82	15,60 ± 2,11	12,67 ± 1,35*	19,23 ± 3,85
H2A + H2B	50,10 ± 1,28	44,83 ± 1,62**	43,90 ± 0,54**	46,07 ± 1,91*
H3	20,90 ± 1,20	30,83 ± 0,85**	28,13 ± 3,54**	23,67 ± 5,43
H4	12,53 ± 0,77	10,53 ± 1,41	12,45 ± 1,74	11,03 ± 3,65
Skupina ¹ Frakcia ²	K	S _{7d}	O _{7d}	SO _{7d}
H1	16,80 ± 0,82	18,80 ± 0,62	13,86 ± 1,73	18,23 ± 2,15
H2A + H2B	50,10 ± 1,28	49,86 ± 1,42	49,00 ± 1,24	41,60 ± 1,39**
H3	20,83 ± 1,21	21,38 ± 0,81	24,74 ± 1,73	28,70 ± 3,05**
H4	12,30 ± 0,77	10,72 ± 2,49	12,40 ± 2,30	11,47 ± 0,30

Podaný silymarín v dávke 70 mg/kg, vyšetovanie na 30. hodinu (S_{30h}) a 7. deň (S_{7d}) – Administered silymarin at a dose of 70 mg/kg, examination in hour 30 (S_{30h}) and on day 7 (S_{7d})

Celotelové ožiarenie dávkou 3 Gy, vyšetovanie na 30. hodinu (O_{30h}) a 7. deň (O_{7d}) – Whole body irradiation at a dose of 3 Gy, examination in hour 30 (O_{30h}) and on day 7 (O_{7d})

Hodinu pred ožiarení podaný silymarín, vyšetovanie na 30.hodinu (SO_{30h}) a 7. deň (SO_{7d}) – Silymarin administered 1 hour before irradiation, examination in hour 30 (SO_{30h}) and on day 7 (SO_{7d})

Štatistická významnosť v porovnaní s kontrolnou skupinou (K) – Statistical significance in comparison with control group (K)

* = $P < 0,05$, ** = $P < 0,001$

¹group, ²fraction

buniek, ale je spôsobené hlavne nižšou extrahovateľnosťou histónov po ožiarení v dôsledku vzniku krížnych väzieb. Táto predstava vychádza aj zo známej skutočnosti o relatívne stálom pomere histónu a DNA v chromatine i zo zistenia menšieho úbytku DNA ako histónov v pečeni ožiarených zvierat (S ü l i o v á a M i š ú r o v á, 1983; K o ž u r k o v á a i., 1992).

Zníženie extrahovateľnosti histónov po ožiarení naznačuje aj zmeny v zastúpení jednotlivých histónových frakcií, ktoré sa syntetizujú paralelne a v chromatine sa

II. Zastúpenie subfrakcie H1⁰ vo frakcii histónu H1 (%) v pečeni potkanov na 30. hodinu a 7. deň po ožiarení (3 Gy) a podaní silymarínu (70 mg/kg). Frakcia histónu H1 = 100 % – The portion of subfraction H1⁰ in the fraction of histone H1 (%) in the liver of sewer-rats in hour 30 and on day 7 after irradiation (3 Gy) and after silymarin administration (70 mg/kg). Fraction of histone H1 = 100 %

Skupina ¹ Frakcia ²	K	S _{30h}	O _{30h}	SO _{30h}
H1 ⁰	23,37 ± 0,52	24,50 ± 1,20	24,00 ± 0,10	30,00 ± 0,20
Skupina ¹ Frakcia ²	K	S _{7d}	O _{7d}	SO _{7d}
H1 ⁰	23,37 ± 0,52	23,67 ± 5,30	22,82 ± 2,14	33,61 ± 1,22

Podaný silymarín v dávke 70 mg/kg, vyšetovanie na 30. hodinu (S_{30h}) a 7. deň (S_{7d}) – Administered silymarin at a dose of 70 mg/kg, examination in hour 30 (S_{30h}) and on day 7 (S_{7d})

Celotelové ožiarenie dávkou 3 Gy, vyšetovanie na 30. hodinu (O_{30h}) a 7. deň (O_{7d}) – Whole body irradiation at a dose of 3 Gy, examination in hour 30 (O_{30h}) and on day 7 (O_{7d})

Hodinu pred ožiarení podaný silymarín, vyšetovanie na 30. hodinu (SO_{30h}) a 7. deň (SO_{7d}) – Silymarin administered 1 hour before irradiation, examination in hour 30 (SO_{30h}) and on day 7 (SO_{7d})

Štatistická významnosť v porovnaní s kontrolnou skupinou (K) – Statistical significance in comparison with control group (K)

* = P < 0,05, ** = P < 0,001

¹group, ²fraction

bežne vyskytujú v ekvimolárnych pomeroch. Pokles koncentrácie a celkového obsahu extrahovateľných histónov po ožiarení i podaní silymarínu bol spojený s úbytkom histónu H1 alebo H2A + H2B pri súčasnom vzraste relatívneho zastúpenia histónu H3. Prednostný úbytok histónov bohatých na lyzín je pomerne rozšírený jav, pretože bol zistený aj v iných orgánoch (slezina, kostná dreň, týmus) a pri iných podmienkach ožarovania (Š ů l i o v á a M i š ú r o v á, 1982, 1983) a sprevádzal aj stárnutie zvierat (K o ž u r k o v á a i., 1993, 1994).

Podanie silymarínu jednu hodinu pred ožiarení malo pozitívny účinok, ktorý sa prejavil vo všetkých sledovaných ukazovateľoch na 30. hodinu po ožiarení. Rádioprotektívny účinok silymarínu bol však iba dočasný a do 7. dňa po ožiarení boli zmeny histónov rovnaké alebo ešte hlbšie ako po samotnom ožiarení. Je možné, že dlhodobý účinok sa dosiahne opakovaným podávaním silymarínu v terapeutickú schému pokusu.

Literatúra

- BARTOŇ, P. - KREJČÍ, V. - BLAŽEK, M.: Možnost ovlivnění hepatotoxicity některých chemoterapeutik silymarinem. Čas. Lék. čes., 124, 1985: 162-192.
- BRAATZ, R.: Symposium on the pharmacodynamics of silymarin. BRAATZ, R. - SCHNEIDER, C. C. (eds): München, Urban & Schwarzenberg, 1976: 44.
- FENSENFELD, G.: Chromatin as essential part of the transcriptional mechanism. Nature, 435, 1992: 219-224.
- GRUNICKE, H. H. - YAMADA, Y. - NATSUMEDA, Y. - HELLIGER, W. - PUSCHENDORF, B. - WEBER, G.: Histone acetyltransferase activity in rat hepatomas. J. Canc. Clin. Oncol., 115, 1989: 435-438.
- HAKOVÁ, H. - MIŠUROVÁ, E.: The effect of silimarin and gamma radiation on nucleic acids in some rat organs. J. Pharm. Pharmacol., 45, 1993: 910-912.
- HARPER, J. F.: Peritz F test: basic program of a robust multiple comparison test for statistical analysis of all differences among group means. Comp. Biol. Med., 14, 1984: 437-437.
- KORNBERG, R. D. - KLUG, A.: The nucleosomes. Sci. Amer., 244, 1981: 52-64.
- KOŽURKOVÁ, M. - MIŠUROVÁ, E. - KROPÁČOVÁ, K. - REXA, R.: The effect of single, continuous and combined gamma radiation on histones in intact and regenerating liver in rats. Curr. Trends Cosmic Biol. and Med., 2, 1991: 151-158.
- KOŽURKOVÁ, M. - KROPÁČOVÁ, K. - MIŠUROVÁ, E. - REXA, R.: The effect of hepatoprotective preparations thioctacid and flavobion on histones in intact and regenerating liver in irradiated rats. Bijul. Exp. Biol. Med., 2, 1992: 191-193.
- KOŽURKOVÁ, M. - MIŠUROVÁ, E. - KROPÁČOVÁ, K.: Aging and radiation induced alterations of histones in liver. Neoplasma, 2, 1994: 89-94.
- KOŽURKOVÁ, M. - MIŠUROVÁ, E. - KROPÁČOVÁ, K.: Aging and radiation induced alterations of histones in regenerating liver. Mech. Aging Dev., 72, 1993: 37-48.
- KROPÁČOVÁ, K. - MIŠUROVÁ, E. - PRASLIČKA, M.: Influence of cysteamine and RTG irradiation on mitotic activity and chromosomal abnormalities in regenerating liver of rats. Radiobiol. Radiother., 1, 1980: 55-67.
- KROPÁČOVÁ, K. - MIŠUROVÁ, E.: Modifikácia žiarením indukovaného latentného poškodenia pečene potkanov adeturonom. Voj. Zdrav. Listy, 3, 1985: 117-122.
- KROPÁČOVÁ, K. - MIŠUROVÁ, E.: Modification of radiation - induced latent injury of rat liver by thioctacid and flavobion. Bijul. Exp. Biol. Med., 5, 1992: 547-548.
- KUNA, P.: Chemická rádioprotekce, Praha, Avicenum 1985.
- LOWRY, O. H. - ROSEBROUGH, N. J. - FARR, A. L. - RANDALL, R. J.: Protein measurement with the follin reagent. J. Biol. Chem., 193, 1951: 265-275.
- PANYIM, S. - CHLKLEY, R.: A new histone found in mammalian tissues with little cell division. Biochem. Biophys. Res. Commun., 37, 1969: 1042-1047.
- SŮLIOVÁ, J. - MIŠUROVÁ, E.: Effect of X-irradiation on histones and DNA in rat thymus. Radiobiol. Radiother., 23, 1982: 667-674.
- SŮLIOVÁ, J. - MIŠUROVÁ, E.: Effect of X-irradiation on histones and DNA in nuclei of rat bone marrow and liver. Radiobiol., 23, 1983: 513-516.
- WENKE, M. - MRÁZ, M. - HYNIE, S.: Farmakologie pro lékaře II. Praha, Avicenum 1984.

Došlo 24. 9. 1992

KOŽURKOVÁ, M. - HAKOVÁ, H. - MIŠÚROVÁ, E. (Faculty of Science of P. J. Šafárik University, Košice):

The effect of silymarin - a hepatoprotective substance on histones in the liver of irradiated rats.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (2-3): 85-92.

Changes of concentration, total content of histones and relative portions of histone fractions were investigated in the liver of rats after administration of the hepatoprotective substance silymarin (70 mg/kg) and after gamma-irradiation of the whole body at a dose of 3 Gy, which were examined in 30 hours and in 7 days. Administration of silymarin alone considerably increased the concentration, particularly total content of extractable histones in the liver of rats examined in hour 30 (Fig. 1). They decreased below the level of control values after 7 days. The whole body irradiation at a dose 3 Gy of gamma-radiation caused a steep fall of the concentration and total content of histones in hour 30, which persisted also on day 7. Silymarin administered 1 hour before irradiation prevented quantitative changes of histones in hour 30, after irradiation the fall was still steeper than after irradiation without silymarin administration. As Tab. I shows, a significant decrease in the relative portion of histone fractions H2A + H2B was found in the extracted histone of the experimental animals of all 3 groups in hour 30, as well as a decrease in the fraction H1 after irradiation without silymarin administration. A decrease in the lysin-rich histone portion was related to an increase in the relative portion of histone H3. In the rats which were administered silymarin 1 hour before irradiation these changes were found to persist until day 7, and they were related to an increase in the subfraction H1^o within the histone fraction H1 (Tab. II).

Hence the results document that silymarin administration 1 hour before irradiation had a positive effect which was observed in all the investigated parameters in hour 30 after irradiation. But the radioprotective effect of silymarin was only temporary while until day 7 after irradiation histone variations were identical or still larger than after irradiation without silymarin administration.

rat; silymarin; liver; gamma-radiation; histones

Contact Address:

RNDr. Mária Kožurková, CSc., Přírodovědecká fakulta UPJŠ, Moyzesova 11,
041 67 Košice, Slovak Republic
Tel. 095 6222610, fax 095 6222124

GIARDIÓZA PSŮ V CHOVNÉ STANICI

R. Hořejš¹, B. Koudela²

¹Veterinární laboratoř MV ČR, České Budějovice

²Parazitologický ústav AV ČR, České Budějovice

V chovné stanici psů jsme po dobu 18 měsíců koprologicky sledovali výskyt giardií. Vyšetřili jsme celkem 494 vzorků trusu odebraných od psů různých kategorií a giardie jsme zjistili ve 36,2 % vzorků. Nejvyšší výskyt giardií jsme zjistili u štěňat do věku jednoho roku (53,25 % vzorků), u chovných fen jsme giardie diagnostikovali v 7 % vzorků a u krycích psů pouze v jednom případě při souběžné infekci se škrkavkou *Toxocara canis* (3,4 %). Semikvantitativním hodnocením jsme prokázali silnou intenzitu vylučování cyst giardií nejčastěji u štěňat do věku 12 týdnů (27,8 % vzorků s nálezem giardií). U starších štěňat převažovala slabá intenzita vylučování. Při hodnocení klinického stavu zvířat jsme neprokázali přímou souvislost mezi výskytem průjmového onemocnění a záchytem cyst giardií v trusu. Po úspěšném terapeutickém ošetření štěňat ornidazolem nebo metronidazolem se giardie opět objevovaly ve vzorcích trusu léčených štěňat za šest až devět týdnů po ukončení terapie. Při koprologickém vyšetření jsme diagnostikovali souběžné infekce giardií s kokcií *Isospora canis* a souběžné infekce giardií se škrkavkou *T. canis*. Semikvantitativním hodnocením jsme nezjistili vliv těchto souběžných infekcí na intenzitu vylučování cyst giardií. Při parazitologickém vyšetření vzorků stolice personálu chovné stanice nebyly giardie zjištěny. V práci se diskutují možné zdroje infekce giardiemi pro psy v chovné stanici a giardióza jako zoonotické onemocnění.

pes; věkové kategorie; giardie; *Isospora canis*; *Toxocara canis*

Bičfkovec *Giardia intestinalis* je považován za významného původce průjmových onemocnění lidí (Meyer, 1990). Kromě člověka se giardie vyskytují u mnoha hostitelů včetně psů. Problematice výskytu giardií u psů se věnovala řada autorů. Kirkpatrick a Farrell (1982) shrnuli výsledky šesti sledování výskytu giardií u psů ve Spojených státech. Z celkového počtu 3523 vyšetřených byly giardie diagnostikovány u 395 psů, tj. u 12 %. Výsledky parazitologických vyšetření psů z poslední doby uváděné různými autory v zahraničí ukazují velké rozdíly ve výskytu giardií u psů. Celková prevalence se pohybuje od 1 do 68 % (Wolf a Eckert, 1979; Hewlett aj., 1982; Hoskins aj., 1982; Swan a Thompson, 1986; Baker aj., 1987; Stehr-Green aj., 1987; Lewis, 1988; Hahn aj., 1988; Tonks aj., 1991). V České republice se giardióze psů věnovali Svobodová aj. (1987), Vokoun (1988)

a S v o b o d o v á aj. (1990), kteří popisují výskyt giardií v průměru u 5,65 % vyšetřených, individuálně chovaných psů. Stejní autoři také uvádějí větší výskyt u psů mladších jednoho roku. V o k o u n (1988) také upozorňuje na možnost většího výskytu giardií v hromadných chovech psů, především pak v chovných stanicích, kde se giardie mohou uplatňovat jako původci průjemových onemocnění štěňat. Obsahem našeho sdělení jsou výsledky dlouhodobého sledování výskytu giardií a giardiózy v chovné stanici psů.

MATERIÁL A METODY

Chovná stanice psů je zařízením Ministerstva vnitra, jejíž objekty se nacházejí v kopcovitém terénu na okraji zástavby města Domažlic. Chovaným plemenem psů je německý ovčák. V chovné stanici je používán tzv. uzavřený obrat s kontinuálním odchovem.

Chovné feny a krycí psi jsou umístěni individuálně v kotcích s asfaltovou podlahou. Štěňata jsou odchována od porodu do věku šesti až osmi týdnů společně s kojící fenou, potom jsou držena individuálně v kotcích. Chovnou stanici opouští zpravidla ve věku jednoho roku.

Krmná dávka sestává z vařeného masa, příkrmu, zeleniny a doplňků minerálů a vitamínů. Štěňatům se v období odstavu podává krmná dávka skládající se z převážně z mléčných produktů. Ve sledovaném období bylo po dobu šesti měsíců částečně používáno i komerční granulované krmivo vyráběné německou firmou Bosch. K napájení je používána pitná voda z veřejného vodovodu. Kotce jsou denně mechanicky čištěny. Chemická asanace za použití desinfekčních prostředků na bázi chlóru byla pravidelně prováděna až od počátku roku 1993. Sporadicky se používal k asanaci kotců i vyvíječ horké páry („wapka“).

V chovné stanici je uplatňován tento dehelmintizační a vakcinační program: Štěňata jsou poprvé plošně odčervována ve věku tří týdnů mebendazolem (Mebenvet), opakovaně jsou štěňata odčervena ve věku sedmi týdnů (Mebenvet) a další odčervení se provádí až na podkladě výsledků koprologického vyšetření.

Ve věku šesti až sedmi týdnů jsou štěňata vakcinována proti parvoviroze (Vakcina proti parvoviroze, Bioveta Ivanovice na Hané) a infekční laryngotracheitidě (Canvac A, Bioveta Terežín), revakcinace proti parvoviroze se provádí ve věku osmi až devíti týdnů. Ve věku 12 týdnů jsou štěňata revakcinována proti infekční laryngotracheitidě, parvoviroze, psince a infekční hepatitidě (Canvac F, A, H, P, Bioveta Terežín). Chovné feny a krycí psi jsou jednou ročně vakcinováni proti infekční laryngotracheitidě, parvoviroze, psince a infekční hepatitidě (Canvac F, A, H, P, Bioveta Terežín). Od počátku roku 1993 jsou v chovné stanici používány vakcíny francouzské firmy Rhône-Merieux.

V chovné stanici byly giardie poprvé diagnostikovány v roce 1990 a opakovaně pak při parazitologických vyšetřeních v roce 1991. Cíleně jsme výskyt giardií

sledovali od ledna 1992 do června 1993. Ve sledovaném období jsme opakovaně vyšetřili individuální vzorky trusu chovných fen a krycích psů v intervalech šest až devět týdnů. Štěňata jsme poprvé koprologicky vyšetřovali v období odstavu a vyšetření jsme opakovali v intervalech šest až devět týdnů až do věku jednoho roku. Počty vyšetřených psů v jednotlivých kategoriích uvádí tab. I.

Při odběru vzorků trusu jsme sledovali klinický stav vyšetřovaných psů se zvláštním zřetelem na změny charakteru a konzistence trusu, popř. na výskyt průjemového onemocnění. Pro vyšetření jsme používali vzorky čerstvého trusu (do 48 hodin po defekaci) o velikosti vlašského ořechu. Vzorky trusu jsme vyšetřovali flotační metodou s Brezovým roztokem (měrná hmotnost 1300). Ke zvýraznění cyst giardií jsme po flotaci ke vzorkům na sklíčku přidávali kapku Lugolova roztoku. Vzorky jsme prohlíželi ve světelném mikroskopu při zvětšení 200x. Pro semikvantitativní posouzení intenzity vylučování cyst giardií jsme použili tato kritéria:

- + = slabá intenzita vylučování, nález méně než 6 cyst v zorném poli při zvětšení 200x,
- ++ = střední intenzita vylučování, nález 6 až 20 cyst v zorném poli při zvětšení 200x,
- +++ = silná intenzita vylučování, nález více než 20 cyst v zorném poli při zvětšení 200x.

K léčbě giardiózy psů s výskytem cyst v trusu jsme používali ornidazol ve specialitě Avrazor (Léčiva, Praha) v dávce 25mg/kg denně po dobu tří dnů nebo metronidazol ve specialitě Entizol (Polfa, Polsko) v dávce 40 - 50 mg/kg denně po dobu tří až pěti dnů. Týden po skončení léčby byli psi opakovaně koprologicky vyšetřeni.

V listopadu 1992 byli všichni pracovníci chovné stanice parazitologicky vyšetřeni. Vzorky stolice pracovníků chovné stanice byly vyšetřeny metodou MIFC.

VÝSLEDKY

Ve sledovaném období jsme v chovné stanici vyšetřili celkem 494 vzorků trusu odebraných od psů různých věkových kategorií. Výskyt giardií u chovných fen, krycích psů a štěňat shrnuje tab. I. Z tabulky je zřejmé, že největší výskyt giardií byl u štěňat do věku jednoho roku (53,25 % vyšetřených vzorků).

U chovných fen jsme zjistili giardie u 7 % vyšetřených vzorků. Analýzou výskytu giardií u této kategorie jsme nezjistili závislost výskytu giardií k březosti nebo laktaci fen. Intenzita vylučování cyst giardií u chovných fen byla nízká a zpravidla jsme ve vzorcích trusu nacházeli pouze ojedinělé cysty. U krycích psů jsme zaznamenali giardie pouze v jednom případě při souběžné infekci škrkavkami *T. canis*.

Tab. II ukazuje výskyt giardií u štěňat a souvislosti mezi věkem a intenzitou vylučování cyst giardií. Z tab. II vyplývá, že největší výskyt giardií je u štěňat po

I. Výskyt giardií u psů jednotlivých kategorií – The prevalence of *Giardia* infection in dogs of the particular categories

Kategorie psů ¹	Krycí psi ²	Chovné feny ³	Štěňata ⁴
Počet zvířat ⁵	5	28	101
Počet vyšetřených vzorků ⁶	29	157	308
Počet pozitivních vzorků ⁷	1	11	164
Procento pozitivních vzorků ⁸	3,4	7,0	53,2

¹dog category, ²covering dogs, ³breeding bitches, ⁴pups, ⁵number of animals, ⁶number of examined samples, ⁷number of positive samples, ⁸percentage of positive samples

II. Výskyt a intenzita vylučování cyst u štěňat jednotlivých věkových kategorií – The prevalence and shedding of *Giardia* cysts in the pups of the particular age categories

Věková kategorie ¹	I. 6 - 12 týdnů ²	II. 13 - 26 týdnů ³	III. 27 - 53 týdnů ⁴	IV. 54 týdnů a více ⁵
Počet vyšetřených štěňat ⁶	72	89	120	27
Počet pozitivních ⁷	39	48	69	8
Procento pozitivních ⁸	54,2	53,9	57,5	29,6
Počet vzorků na + / % z pozitivních v kategorii ⁹	10 / 13,9	30 / 33,7	48 / 40,0	5 / 18,5
Počet vzorků na ++ / % z pozitivních v kategorii ¹⁰	9 / 12,5	10 / 11,2	16 / 13,3	2 / 7,4
Počet vzorků na +++ / % z pozitivních v kategorii ¹¹	20 / 27,8	8 / 9,0	5 / 4,2	1 / 3,7

¹age category, ²6 - 12 weeks, ³13 - 26 weeks, ⁴27 - 53 weeks, ⁵54 weeks and more, ⁶number of examined pups, ⁷number of positive ones, ⁸per cent of positive ones, ⁹number of samples in + / % out of positive ones in the category, ¹⁰number of samples in ++ / % out of positive ones in the category, ¹¹number of samples in +++ / % out of positive ones in the category

odstavu do věku 12 týdnů. Podíl záchytů pozitivních vzorků s velkou intenzitou vylučování se zmenšoval úměrně s věkem štěňat. Zatímco u odstavených štěňat do věku 12 týdnů jsme intenzivní vylučování zaznamenali u 27,8 % vyšetřených vzorků, u štěňat nad jeden rok věku jsme intenzivní vylučování cyst giardií zjistili pouze u 3,7 % vyšetřených vzorků. Počínaje kategorií štěňat starších než 13 týdnů jsme zaznamenali v pozitivních vzorcích trusu převážně slabou intenzitu vylučování cyst giardií.

III. Výskyt souběžných infekcí kokcidie *I. canis* a škrkavky *T. canis* s giardiemi u štěňat jednotlivých věkových kategorií – The prevalence of concurrent *Giardia* infections with coccidium *I. canis* and helminth *T. canis* in pups of the particular age categories

Věková kategorie ¹	I. 6 - 12 týdnů ²	II. 13 - 26 týdnů ³	III. 27 - 53 týdnů ⁴	IV. 54 týdnů a více ⁵
<i>I. canis</i> / % z vyšetřených v kategorii ⁶	15 / 20,8	17 / 19,1	6 / 5	3 / 11,1
<i>I. canis</i> a giardie / % z pozitivních na giardie v kategorii ⁷	7 / 17,9	6 / 12,5	4 / 5,8	0 / 0
<i>T. canis</i> / % z vyšetřených v kategorii ⁸	5 / 6,9	19 / 21,3	47 / 39,2	10 / 37,0
<i>T. canis</i> a giardie / % z pozitivních na giardie v kategorii ⁹	4 / 10,2	13 / 27,0	31 / 44,9	5 / 62,5

¹ age category, ² 6 - 12 weeks, ³ 13 - 26 weeks, ⁴ 27 - 53 weeks, ⁵ 54 weeks and more, ⁶ *I. canis* / % out of the examined ones in the category, ⁷ *I. canis* and *Giardia* / % out of the *Giardia* positive ones in the category, ⁸ *I. canis* / % out of the examined ones in the category, ⁹ *I. canis* and *Giardia* / % out of the *Giardia* positive ones in the category

Při koprologickém vyšetření jsme často zjišťovali souběžné infekce giardií s kokcií *I. canis* a škrkavkou *T. canis*. Z tab. III vyplývá, že infekce kokcií *I. canis* jsou časté především u štěňat po odstahu do věku půl roku (u 20,8 % vyšetřených vzorků od štěňat ve věku 6 až 12 týdnů a u 19,1 % u štěňat ve věku 12 týdnů až půl roku). U štěňat po odstahu byl také nejčastější výskyt souběžných infekcí kokcií *I. canis* a giardií (17,9 % vzorků s giardiemi).

V případě *T. canis* jsme zjistili největší počet infekcí škrkavkami u štěňat starých 27 až 53 týdnů. V této kategorii jsme diagnostikovali škrkavky u 39,2 % vyšetřených vzorků. U štěňat této věkové kategorie byl také častý výskyt souběžných infekcí kokcií *T. canis* a giardií (44,9 % vzorků s giardiemi). Semikvantitativním hodnocením jsme nezjistili vliv souběžných parazitárních infekcí na intenzitu vylučování cyst giardií.

Při kontrole úspěšnosti terapie jsme nezjistili cysty giardií v trusu léčených zvířat. Ve většině případů jsme však při dalším vyšetření (6 až 9 týdnů po ukončení léčby) zaznamenali opakované reinfekce giardiemi.

Při odběru vzorků trusu jsme sledovali výskyt průjmových onemocnění. Neprokázali jsme však přímou závislost mezi výskytem průjmu a zachytem cyst giardií v trusu. V některých případech výskytu průjmu za současného zachytu cyst giardií došlo po terapii k úpravě klinického stavu. Ve sledovaném období byla v chovné stanici zjištěna parvoviroza a opakovaně i dietetické problémy.

Parazitologickým vyšetřením stolice personálu chovné stanice nebyl prokázán výskyt giardií ani jiných střevních parazitů člověka.

DISKUSE

V České republice se giardióze psů věnovali S v o b o d o v á aj. (1987), V o k o u n (1988) a S v o b o d o v á aj. (1990), kteří popisují výskyt giardií v průměru u 5,65 % vyšetřených, individuálně chovaných psů. V naší práci jsme sledovali po dobu 18 měsíců výskyt giardií u psů v chovné stanici, kde jsme zjistili při vyšetření celkem 494 vzorků cysty giardií ve 176 vzorcích (35,6 %). S v o b o d o v á aj. (1987) sledovali také výskyt giardií u skupinově chovaných služebních psů a diagnostikovali giardie u 47 z 440 vyšetřovaných psů (10,68 %). B a r r aj. (1992) zjistili u skupinově chovaných beagů giardie u 42 % psů ve věku dva až pět roků. Výsledky našeho sledování nejsou srovnatelné s výsledky sledování výskytu giardií v hromadných chovech psů (S v o b o d o v á aj., 1987; B a r r aj., 1992). Tito autoři sledovali většinu psů pouze jednorázově, v naší práci jsme vyšetřovali psy opakovaně.

V naší práci jsme největší výskyt giardií zjistili u štěňat po odstavu. Pouze S v o b o d o v á aj. (1987) na základě svých výsledků předpokládají větší výskyt u mladých zvířat. Jejich tvrzení podpořil i V o k o u n (1988) a upozorňuje na analogii s rozšířením giardií v dětských kolektivech. V naší práci jsme nepozorovali sezónnost výskytu giardií u psů. Při odběru vzorků trusu jsme sledovali klinický stav vyšetřovaných psů se zvláštním zřetelem na změny charakteru a konzistence trusu, popř. na výskyt průjemového onemocnění. Neprokládali jsme však přímou souvislost mezi výskytem giardií a průjemovým onemocněním. Tato skutečnost byla ovlivněna i jinými faktory v chovné stanici (dietetické problémy, parvoviroza), které ovlivňují výskyt průjemového onemocnění. Na základě našich zkušeností se přikláníme k názoru, který byl prezentován na konferenci o giardiích v Austrálii (T h o m p s o n aj., 1993b), že akutní giardióza jako klinické onemocnění je multifaktoriální proces, který ovlivňuje celá řada faktorů. Potvrzují i to naše výsledky, kdy jsme zjistili masivní vylučování cyst giardií u štěňat bez klinických příznaků, ale také slabé vylučování cyst u štěňat s průjemovým onemocněním.

V našem souboru vyšetřovaných psů jsme opakovaně zjistili cysty giardií v trusu psů, které jsme přeléčili. Obdobnou situaci popisují Z a j a c aj. (1992) u 12 experimentálních psů po opakovaném přeléčení quinacrinem a metronidazolem. Z a j a c aj. (1992) předpokládají, že aplikace léčiv pouze omezuje vylučování a že psi mohou vylučovat cysty giardií až 17 měsíců.

Při parazitologickém vyšetření jsme zjistili souběžné infekce kokcií *I. canis* a škrkavkou *T. canis*. Častý výskyt souběžných infekcí ukazuje na možné souvislosti a potenciální synergistický účinek více enteropatogenů při klinickém onemocnění.

P e n z h o r n aj. (1992) sledovali výskyt kokcidíí u psů v chovné stanici německých ovčáků v jižní Africe a zjistili je u 26 % chovných fen a v 51 % vrhů štěňat, především v období odstavu. Také při našem sledování jsme zjistili největší výskyt kokcidíí u štěňat v období odstavu.

Prevalence výskytu škrkavek v trusu štěňat se pohybovala od 52 % v počátcích našeho sledování až do 8 % na konci sledovaného období. Toto zlepšení je výsledkem důkladného dodržování dehelminizačního programu a zlepšené asanace kotců.

Vliv zlepšené asanace a zlepšené zoohygienické péče se výrazněji neprojevily na výskytu giardií v trusu štěňat. Přesto se však domníváme, že zdrojem infekce pro nově narozená štěňata je prostředí kontaminované cystami od zvířat s chronickým vylučováním cyst. Kontaminaci zdroje vody k napájení jsme vyloučili vzhledem k tomu, že je používána pitná voda z městského vodovodu.

Při parazitologickém vyšetření personálu chovné stanice jsme neprokázali infekci giardiemi u lidí. Otázka možného přenosu giardií ze zvířat není doposud uspokojivě vyřešena. Poslední výsledky australských autorů T h o m p s o n aj. (1993a) však na tuto možnost ukazují. Tito autoři srovnávali molekulárně biologickými metodami (PCR) humánní izoláty giardií s izoláty giardií ze psů ze stejné oblasti a zjistili vysoký stupeň genetické příbuznosti. Na základě svých výsledků australská autoři považují giardie ze psů za původce zoonotického onemocnění.

P o d ě k o v á n í

Autoři děkují RNDr. Olegu D i t r i c h o v i, CSc. z Parazitologického ústavu AV ČR v Českých Budějovicích za vyšetření vzorků stolice personálu chovné stanice.

L i t e r a t u r a

- BAKER, D. H. - STROMBERK, D. R. - GERSHWIN, L. J.: Laboratory diagnosis of *Giardia duodenalis* infection in dogs. J. Amer. veter. Med. Assoc., 190, 1987: 53-56.
- BARR, S. C. - BOWMAN, D. D. - HOLLIS, N. E.: Evaluation of two test procedures for diagnosis of giardiasis in dogs. Amer. J. veter. Res., 53, 1992: 2028-2031.
- HAHN, N. E. - GLASER, C. A. - HIRD, C. W. - HIRSH, D. C.: Prevalence of *Giardia* in feces of pups. J. Amer. veter. Med. Assoc., 192, 1988: 1428-1429.
- HEWLETT, E. L. - ANDREWS, J. S. - RUFFIER, J. - SCHAEFER, F. W.: Experimental infection of mongrel dogs with *Giardia lamblia* cysts and cultured trophozoites. J. infect. Diseases., 152, 1982: 1166-1171.
- HOSKINS, J. D. - MALONE, J. B. - SMITH, P. H. - UHL, S. A.: Prevalence of parasitism diagnosed by fecal examination in Louisiana dogs. Amer. J. veter. Res., 43, 1982: 1106-1109.
- JUNGSMANN, R. - HIEPE, T. - SCHEFFLER, C.: Zur parasitären Intestinalfauna bei Hund und Katze mit einem speziellen Beitrag zur *Giardia*-Infektion. Mh. Veter.-Med., 41, 1986: 309-311.

- KIRKPATRIK, C. E. - FARRELL, J. P.: *Giardiasis*. Compend. Cont. Ed. Pract. Veter., 4, 1982: 367-377.
- LEWIS, P. D.: Prevalence of *Giardia* sp. in dogs from Alberta. In: WALLIS, P. M. - HAMMOND, B. R. (eds): *Advances in Giardia in Research*. Univ. of Calgary Press, 1988: 61-64.
- MEYER, E. A.: Introduction. In: MEYER, E. A. (ed.): *Giardiasis*. Amsterdam, Elsevier Science Publishers B. V. 1990: 1-11.
- PENZHORN, B. L. - DE CRAMER, K. G. M. - BOOTH, L. M.: Coccidial infection in German shepherd dog pups in a breeding unit. J. S. Afr. veter. Med. Assoc., 63, 1992: 27-29.
- SEILER, M. - ECKERT, J. - WOLF, K.: *Giardia* und anderen Darmparasiten bei Hund und Katze in der Schweiz. Schweiz. Arch. Tierheilkde, 125, 1983: 137-148.
- STEHR-GREEN, J. K. - MURRAY, G. - SCHANTZ, P. M. - WAHLQUIST, S. P.: Intestinal parasites in pet store puppies in Atlanta. Amer. J. Publ. Hlth, 11, 1987: 345-346.
- SVOBODOVÁ, V. - SVOBODA, M. - NEVOLE, M.: *Giardióza u psů*. Veterinářství, 37, 1987: 506-507.
- SVOBODOVÁ, V. - POSPÍŠILOVÁ, D. - SVOBODA, M.: *Giardióza psů a koček - nebezpečí pro člověka?* Veterinářství, 40, 1990: 457-458.
- SWAN, J. M. - THOMPSON, R. C. A.: The prevalence of *Giardia* in dogs and cats in Perth, Western Australia. Austral. veter. J., 63, 1986: 110-112.
- THOMPSON, R. C. A. - MELONI, B. P. - MORGAN, L. M. - HOPKINS, R. M.: The molecular epidemiology of giardiasis: evidence of zoonotic transmission. Abstract No. 501, Abstracts. In: IX. International Congress of Protozoology, Berlin 1993a.
- THOMPSON, R. C. A. - REYNOLDSON, J. A. - LYMBERY, A. J.: *Giardia* - from molecules to disease and beyond. Parasit. Today, 9, 1993b: 313-315.
- TONKS, M. C. - BROWN, T. J. - IONAS, G.: *Giardia* infection in cat and dogs in New Zealand. N. Z. veter. J., 39, 1991: 33.
- VOKOUN, P. *Ke giardióze psů a koček*. Veterinářství, 38, 1988: 505-507.
- WOLF, K. - ECKERT, J.: *Giardia*-Befall bei Hund und Katze und dessen mögliche Bedeutung für den Menschen. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 92, 1979: 479-484.
- ZAJAC, A. M. - LEIB, M. S. - BUKRHOLDER, W. J.: *Giardia* infection in a group of experimental dogs. J. small anim. Pract., 33, 1992: 257-260.

Došlo 8. 11. 1993

HOŘEJŠ, R. - KOUDELA, B. (Laboratory of Veterinary Medicine of the Ministry of Home Affairs of the CR, České Budějovice; Institute of Parasitology of the Academy of Sciences of the CR, České Budějovice):

Giardiasis of dogs in a breeding unit.

Vet. Med. - Czech, 39, 1994 (2-3): 93-101.

Giardia intestinalis is a pathogenic protozoan which infects humans and a wide range of animals including dogs. *Giardia* infections in dogs have been reported by several authors. Prevalence of *Giardia* varies widely depending on the detection method, geographic localization, and population studied. The objective of the study reported here was to determine the prevalence of giardiasis in German Shepherd Dogs

in a breeding unit. In our trial conducted over 18 months, 28 bitches, 5 adult males and 101 puppies (between 1.5 and 12 months old) were subjected to individual fecal examination for *Giardia* cysts, coccidial oocysts and helminth ova. Total 494 individual fecal samples were examined by the magnesium sulphate flotation technique (1.30 sp. gr) and *Giardia* cysts were detected in 36.2% of fecal samples. *Giardia* cysts were observed in 1 of 29 (3.4%) fecal samples from adult males, 11 of 157 (7.0%) fecal samples from bitches and 164 of 308 (53.2%) puppies' fecal specimens. No association between bouts of diarrhea and peaks of *Giardia* cysts shedding could be demonstrated. The source of infection for the pups was not ascertained, as no temporal association between shedding of *Giardia* cyst by bitches and their litters could be demonstrated. The majority of pups had passed peak of *Giardia* cyst shedding between week 6 of age 12 week of age. When *Giardia* infection was detected, the dogs were treated with either omdazole (Avrazor, Léčiva) at 25 mg/kg or metronidazole (Entizol, Polfa) 50 mg/kg for three to five days. Within seven days of completing a course of treatment fecal examinations were carried out on each dog to determine whether treatment had been effective. All treated animals were found to be *Giardia*-positive at least once following treatment over the period of the study. Simultaneous shedding of *Giardia* cysts, *Isospora canis* oocysts and *Toxocara canis* ova was confirmed. The concurrent infections with coccidium *Isospora canis* and helminth *Toxocara canis* did not show the effect on the *Giardia* cysts shedding. The coprological examination of the persons working in a breeding unit did not reveal any *Giardia* cysts. In the present paper, a potential source of *Giardia* infection for the dogs in a breeding unit, as well as giardiasis as a zoonosis are being discussed.

dog; age categories; giardiasis; *Isospora canis*; *Toxocara canis*

Contact Address:

MVDr. Radek H o ř e j š , Veterinární laboratoř MV ČR, Dolní 2, 371 39 České Budějovice, Czech Republic

INZERCE

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

Bližší informace získáte na adrese:

Redakce časopisu VETERINÁRNÍ MEDICÍNA
k rukám ing. Z. Radošové
Ústav zemědělských a potravinářských informací
Slezská 7
120 56 P r a h a 2

VPLYV BEZVÁHOVÉHO STAVU NA EMBRYONÁLNY VÝVOJ PRIEČNE-PRUHOVANEJ SVALOVINY U JAPONSKÝCH PREPELÍC

J. Kočišová

Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Košice

V podmienkach bezváhového stavu prebiehal vývoj kostrovej svaloviny rovnako ako u laboratórnej kontroly. Neboli výraznejšie rozdiely medzi kontrolnou a experimentálnou skupinou. Myofibrily sa nachádzali v štádiu myofibrilogenézy. Zväčša boli neusporiadané. Nachádzali sme veľké množstvo ribozómov a polyribosómov. Mitochondrie sa intenzívne delili a obsahovali malé počty mitochondriálnych kríst. Často sme nachádzali osmiofilné telieska a granuly. Sarkoplazmatické retikulum a Golgiho komplex bol dobre vyvinutý.

japonská prepelica; kostrová a srdcová svalovina; embryogenéza; bezváhový stav; svetelná a elektrónová mikroskopia

Pôsobenie hypokinézie, hypergravitácie a hypodynamie na priečne-pruhovanú svalovinu japonských prepelíc v sérii experimentov ukázalo (B e l á k a i., 1977a, b), že tieto vplyvy nespôsobujú irreverzibilné zmeny v priečne-pruhovanej svalovine experimentálnych zvierat. Tieto zistenia potvrdzujú predpoklad, že v podmienkach bezváhového stavu môže úspešne prebiehať embryonálny vývoj japonských prepelíc.

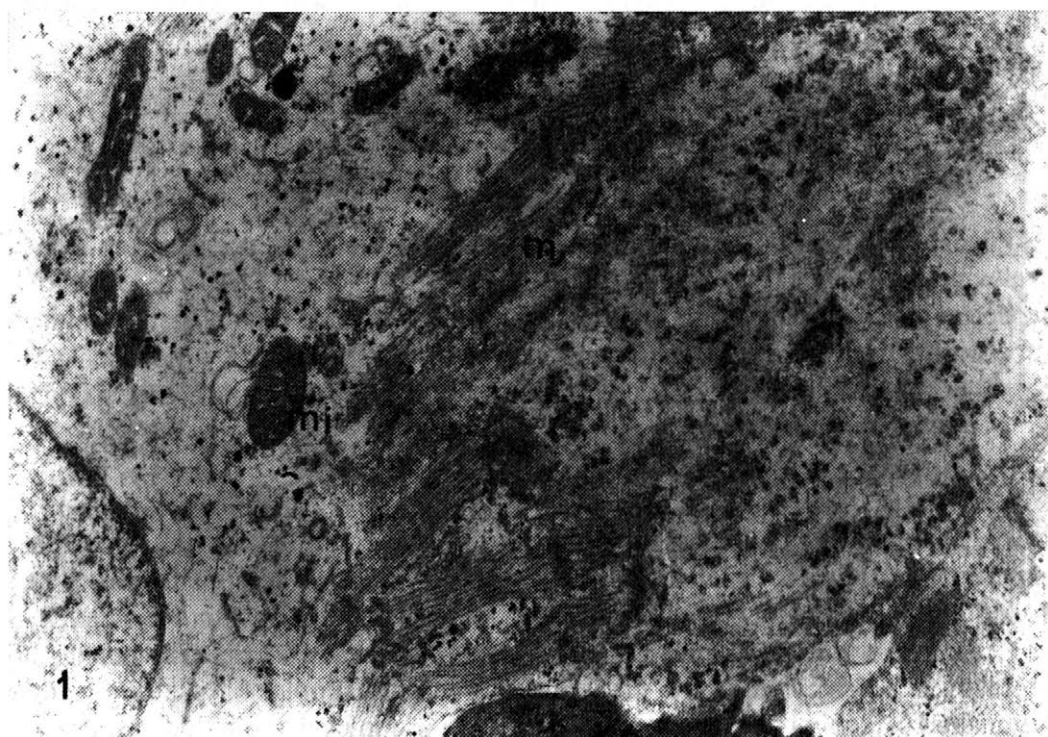
MATERIÁL A METÓDY

Prvý experiment prebiehal v biologickej družici, simultánne s ním prebiehal experiment na Zemi. Oplodnené vajščka boli vkladané do miniinkubátora a na 7. deň imitovaného letu biologickej družice sa začala inkubácia, ktorá sa ukončila na 12. deň embryonálneho vývoja, v deň pristátia biologickej družice. Pre technickú obtiažnosť odberu materiálu pre elektrónovomikroskopické vyšetrenie embryonálneho tkaniva sme preto použili priečne-pruhovanú svalovinu z prsného (*m. pectoralis thoracicus*) a stehnového svalu (*m. gastrocnemius*) a srdcový sval (myokard) japonskej prepelice 12-dňových embryí v synchronnom pokuse. V priebehu niekoľkých rokov bol experiment s embryogenézou zopakovaný v inkubátore II. generácie s ľudskou posádkou, kde došlo k vyliahnutiu embryí. Tento materiál bol vyšetrovaný na úrovni svetelnej mikroskopie, po fixácii metódami svetelnomikroskopickými. Tkanivo priečne-pruhovanej svaloviny bolo fixované etanolom,

špeciálnou metódou prevedené cez formalín, zaliaté do parafínu a rezy následne farbené hematoxylín-eozínom. Získané výsledky boli zrovnávané s kontrolnou skupinou zvierat. Materiál pre elektrónovomikroskopické štúdium bol fixovaný 1% glutaraldehydom, postfixovaný OsO₄, dehydratovaný etanolovou radou a zaliaty v Durkupane. Ultratenké rezy boli kontrastované podľa W a t s o n a (1958) a R e y n o l d s a (1963), pozorované v elektrónovom mikroskope Tesla 613 a JEM 1200 EX.

VÝSLEDKY

Ultraštruktúra priečne-pruhovanej svaloviny prsného svalu (*m. pectoralis thoracicus*) 12-dňového embrya japonskej prepelice zo synchronného pokusu mala charakteristické znaky vyvíjajúceho sa tkaniva. Sarkoplazma obsahovala množstvo ribozómov a polyribozómov (obr. 1). Myofibrily boli usporiadané v snopoch, bez



1. Ultraštruktúra priečne-pruhovanej svaloviny *m. pectoralis thoracicus* u 12-dňového embrya. Sarkoplazmu vyplňujú mitochondrie (mi), početné ribozómy (r) a novovytvorené zväzky myofibril (m); zväčšenie 25 550x – The ultrastructure of striated muscles of *m. pectoralis thoracicus* in a 12-day embryo. Sarcoplasm is formed by mitochondria (mi), numerous ribosomes (r) and newly-formed bundles of myofibrils (m); magnification 25,550 times

zreteľného ohraničenia sarkomérov. Mitochondrie mali nepravidelný tvar, boli poprehýbané s malým počtom kríst.

Známky vyvíjajúceho svalu sme pozorovali aj u stehnového svalu (*m. gastrocnemius*). Myofibrily boli usporiadané v snopcoch (obr. 2), vytvárali zreteľnejšie sarkoméry so slabo vyznačenými Z-líniami. Vyvíjajúce sa mitochondrie sa nachádzali často v štádiu delenia s pomerne malým počtom kríst. Sarkoplazma obsahovala množstvo ribozómov, polyribozómov a osmiofilných granúl.

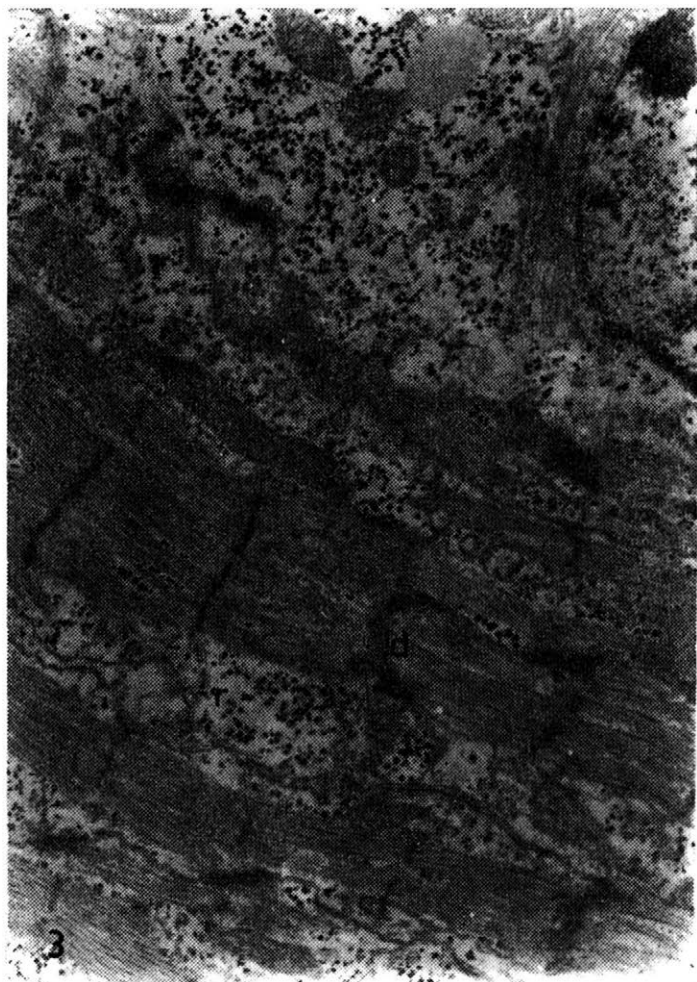
Srdcový sval (myokard) 12-dňového embrya japonskej prepelice v synchrónnom pokuse sa vyznačoval novovytvorenými myofilamentami, ktoré boli usporiadané v skupinách bez výrazných sarkomérov. V niektorých prípadoch boli sarkoméry



2. Ultraštruktúra priečne-pruhovanej svaloviny *m. gastrocnemius* u 12-dňového embrya. Sarkoméry (*) sú už sformované s nevýraznými I a A pásmi, pozorujeme početné ribozómy (r); zväčšenie 23 170x – The ultrastructure of striated muscles of *m. gastrocnemius* in a 12-day embryo. Sarcomeres (*) are already formed with inconspicuous I and A bands, there are numerous ribosomes; magnification 23,170 times

ohraničené slabo vyznačenými Z-líniami (obr. 3), ale výraznými interkalárnymi diskami, najprv s rovným, neskôr so schodovitým priebehom. Mitochondrie sa intenzívne mitoticky delili (obr. 4).

Histologický obraz priečne-pruhovanej svaloviny vyliahnutých prepelíc v podmienkach bezváhového stavu na kozmickej stanici Mir potvrdil naše predchádzajúce výsledky. Tkanivo priečne-pruhovanej svaloviny *m. gastrocnemius* (obr. 5) bolo v porovnaní s laboratórnou kontrolou rovnako vyvinuté. Na pozdĺžnom reze sme pozorovali pravidelné priečne pruhovanie a na priečnom reze boli myofibrily skoncentrované do zväzkov a vytvárali polygonálne plochy - Cohnheimove políčka (obr. 6). Ako mnohojadrová cytoplazmatická štruktúra mali svalové vlákna početné jadrá, uložené vždy na periférii vlákna, bezprostredne pod sarkolemou.



3. Elektrónogram myokardu 12-dňového embrya. V intermyofibrilárnych priestoroch je množstvo voľných ribozómov (r), pozorujeme sformované sarkoméry a interkalárne disky (id); zväčšenie 25 550x – Electronogram of the myocardium of a 12-day embryo. In the intermyofibrillar interstices there are many free ribosomes (r), we can discriminate formed sarcomeres and intercalary disks (id); magnification 25,550 times

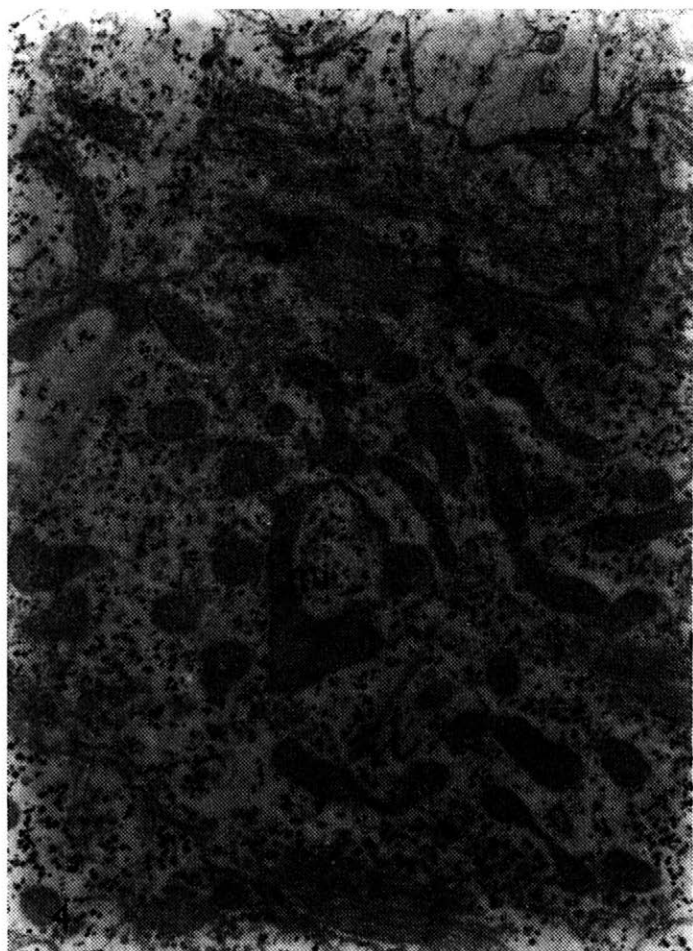
DISKUSIA

Myofibrily sa nachádzali v štádiu diferenciácie, sarkoplazma obsahovala množstvo ribozómov a polyribozómov. Myofibrily boli usporiadané neorganizovane v malých skupinách, až neskôr sa formovali do primárnych sarkomérov. Tieto sa spočiatku nediferencujú na izotropný a anizotropný zväzok. Často sme nachádzali nakopené množstvo denznej granulárnej hmoty, na ktoré naväzovali novoutvorené filameny.

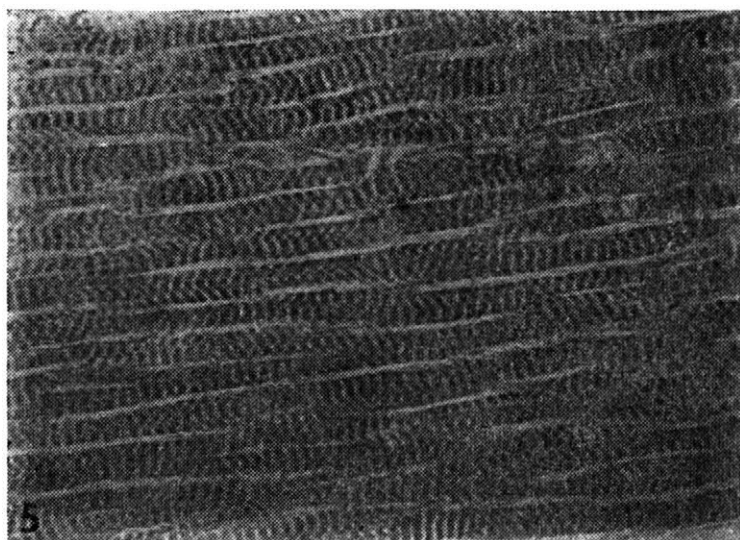
Mitochondrie sa intenzívne delili pučaním alebo priamym delením, boli väčšinou nezrelé a obsahovali malý počet mitochondriálnych kríst. Počet kríst sa postupne znižoval.

Sarkoplazmatické retikulum a Golgiho komplex bol dobre vyvinutý. Jadrá boli s 1 - 2 jadierkami.

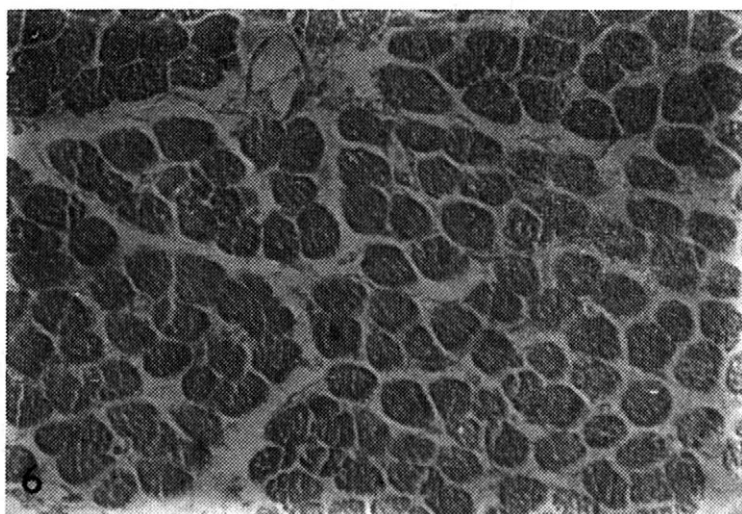
Pozdĺžny rast svalov sa môže uskutočňovať dvoma spôsobmi. Jednotlivé sarkoméry sa môžu predlžovať, alebo sa môže zväčšovať počet sarkomér tvoriacich



4. Elektrónogram myokardu u 12-dňového embrya. Mitochondrie (mi) rôznej formy v štádiu delenia; zväčšenie 25 550x – Electronogram of the myocardium in a 12-day embryo. Mitochondria (mi) of different forms at the stage of splitting; magnification 25,550 times



5. Pozdĺžny rez priečne-pruhovanej svaloviny *m. gastrocnemius* novovyliahnutej japonskej prepelice v podmienkach bezváhového stavu; zväčšenie: ok. 6,3, obj. 10 – Striated muscles of *m. gastrocnemius* in vertical section in hatched Japanese quail in the conditions of gravitationless state; magnification: eyepiece 6.3, lens 10



6. Priečny rez *m. gastrocnemius* novovyliahnutej japonskej prepelice v podmienkach bezváhového stavu; zväčšenie: ok. 6,3, obj. 10 – *M. gastrocnemius* in cross-section in newly hatched Japanese quail in the conditions of gravitationless state; magnification: eyepiece 6.3, lens 10

jednotlivé myofibrily. Postnatálne predĺženie sarkomér predstavuje približne 25 % z celkového predĺženia myofibril (G o l d s p i n k , 1968). Za hlavného činiteľa pôsobiaceho na predĺženie myofibril sa považuje zvýšenie počtu sarkomér v jednotlivých myofibrilách. W i l l i a m s a G o l d s p i n k (1971) zistili prevažné zvýšenie počtu sarkomér pred dosiahnutím veku troch týždňov v *m. soleus* u myši. Cesty pripojovania nových sarkomér k myofibrilám sú zatiaľ predmetom diskusií. Niektorí autori (S c h m a l b r u c k , 1968) pripúšťajú možnosť pripojovania sarkomér po celej dĺžke existujúcich myofibril. Autoradiografiou bolo dokázané, že nové sarkoméry sú pripájané na koncoch myofibril a sú kratšie ako sarkoméry v strede (G r i f f i n a i., 1971). Taktiež naše elektrónovomikroskopické výsledky ukázali, že v koncových častiach rastúcich svalových vlákien sa nachádzali početné ribozómy a voľné myofilamenty, ktoré ešte nie sú bezprostredne organizované do myofibril. L e g a t o (1970) v srdcovom svale považuje Z-disky za centrá tvorby nových sarkomér. Z-disk sa rozširuje až vyplní celú sarkoméru.

Zvyšovanie počtu myofibril v rastúcich kostrových svaloch sa uskutočňuje dvoma spôsobmi (S t r o m e r a i., 1974). Novo syntetizované aktínové a myozínové filamenty sa môžu spájať so Z-diskovými proteínmi do nových sarkomér a nové myofibrily môžu byť vytvorené spojením viac sarkomér. Tento spôsob formovania nových myofibril je charakteristický pre embryonálne svaly a pozorovali sme ho aj v našom experimente. Druhý spôsob predstavuje možnosť pozdĺžneho štiepenia existujúcich myofibril na dve dcérske myofibrily. Cesty pripojovania novosyntetizovaných aktínových a myozínových filamentov k myofibrilám sú otvorenou otázkou proliferácie myofibril.

Ďalším charakteristickým znakom vo vyvíjajúcich sa svaloch bola prítomnosť veľkého množstva ribozómov a polyribozómov. Tieto sú pozorované častejšie v embryonálnych svaloch ako vo vyvinutom tkanive. Ich zastúpenie sa vekom znižuje (G o l d s p i n k , 1971, 1972).

Literatúra

- BELÁK, M. - KOČIŠOVÁ, J. - BOĎA, K.: Studium der Ultrastruktur von Mitochondrien in der quergestreften Muskulatur der Vögel unter Berücksichtigung der experimentell hervorgerufenen Hypokinese. Arch. exp. Vet.-Med., 31, 1977a: 537-546.
- BELÁK, M. - KOČIŠOVÁ, J. - BOĎA, K.: Elektronemikroskopische Untersuchung der Mitochondrien in der quergestreiften Muskulatur der Vögel bei experimentell herforgerufener hypergravitation. Arch. exp. Vet.-Med., 31, 1977b: 749-755.
- GOLDSPINK, G.: Sarkomere length during postnatal growth of mammalian muscle fibres. J. Cell Sci., 3, 1968: 539-543.
- GOLDSPINK, G.: Changes in striated muscle fibres during contraction and growth with particular reference to myofibril splitting. J. Cell Sci., 9, 1971: 123-128.
- GOLDSPINK, G.: In: BOURNE, G. H. (ed.): The Structure and Function of Muscle. New York, Academic Press 1972.

- GRIFFIN, G. E. - WILLIAMS, D. E. - GOLDSPINK, G.: Region of longitudinal growth in striated muscle fibres. *Nature New Biol.*, 232, 1971: 25-32.
 LEGATO, M.: Sarcomerogenesis in human myocardium. *J. Mol. Cell. Card.*, 1, 1970: 425-429.
 REYNOLDS, E. S.: The use of lead citrate at high pH as electron opaque stain in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, 17, 1963: 208-212.
 SCHMALBRUCK, H. Z.: *Z. mikrosk.-anat. Forsch.*, 79, 1968: 493.
 STROMER, M. H. - GOLL, D. E. - YOUNG, R. B. - ROBSON, R. M. - PARRISH, F. C.: Ultrastructural features of skeletal muscle differentiation and development. *J. Anat. Sci.*, 38, 1974: 1111-1113.
 WATSON, M. L.: Staining of tissue sections for electron microscopy with heavy metals. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 4, 1958: 475-478.
 WILLIAMS, - GOLDSPINK, G.: Longitudinal growth of striated muscle fibres. *J. Cell Biol.*, 9, 1971: 171-176.

Došlo 14. 10. 1993

KOČIŠOVÁ, J. (Institute of Animal Physiology of the Slovak Academy of Sciences, Košice):
The effect of gravitationless state on embryonal development of striated muscles in Japanese quail.

Vet. Med. - Czech., 39, 1994 (2): 103-110.

In the conditions of gravitationless state, the development of skeletal muscles and myocardium was identical in experimental, synchronous and laboratory control. There were not larger differences between the investigated groups of animals. Myofibrils were in the stage of myofibrillogenesis. They were mostly disarrayed, but they already formed sarcomeres, without marked boundaries between I and A zones. Sarcoplasm contained large amounts of ribosomes and polyribosomes. Mitochondria were intensively splitting, and they contained small numbers of mitochondrial particles. Osmophilic bodies and granules were detected frequently. Sarcoplasmic reticulum and Golgi apparatus were well developed. Our findings are in agreement with the results published in papers dealing with the embryonal development of striated muscles.

Japanese quail; skeletal muscles and myocardium; embryogenesis; gravitationless state; light and electron microscopy

Contact Address:

MVDr. Jolana K o č i š o v á, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV,
 Palackého 12, 040 01 Košice, Slovak Republic
 Tel. 095 6228151, fax 095 6224491

DNA FINGERPRINTING IN *FALCONIDAE*

I. Rychlík¹, O. Kubíček¹, V. Holčák¹, J. Bárta², I. Pavlík¹

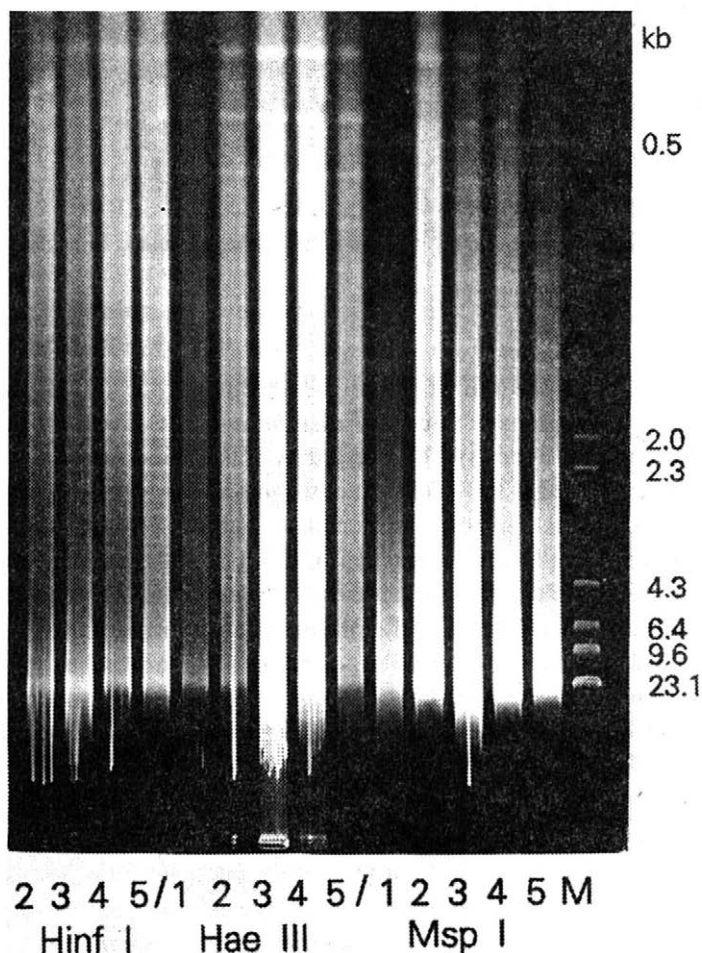
¹Veterinary Research Institute, Brno

²Breeding Station for Birds of Prey, Milotice

This paper describes the use of the oligonucleotide probe (GTG)₅ to reveal high polymorphic DNA regions in falcons (*Falco peregrinus*, *F. rusticolus*, *F. cherrug* and their interspecies hybrids). Ten microliters of the blood samples were immobilized, lysed and digested in low-melting point agarose. Oligonucleotide probe (GTG)₅ gave rise to the great number of different fragments. Some of them were genus specific, another female specific and approx. 5 - 10 % of the fragments were individual specific. Restriction endonucleases with 4 bp recognition sequences were preferred (Hinf I, Hae III and Msp I). After the use of such enzymes the DNA fingerprints were individual specific and allowed us to confirm known relations among individual birds. The results indicate, that DNA fingerprinting with oligonucleotide (GTG)₅ as a probe could be a powerful method for differentiating among closely related falcon birds.

DNA fingerprinting; parentage analysis; *Falconidae*; blood

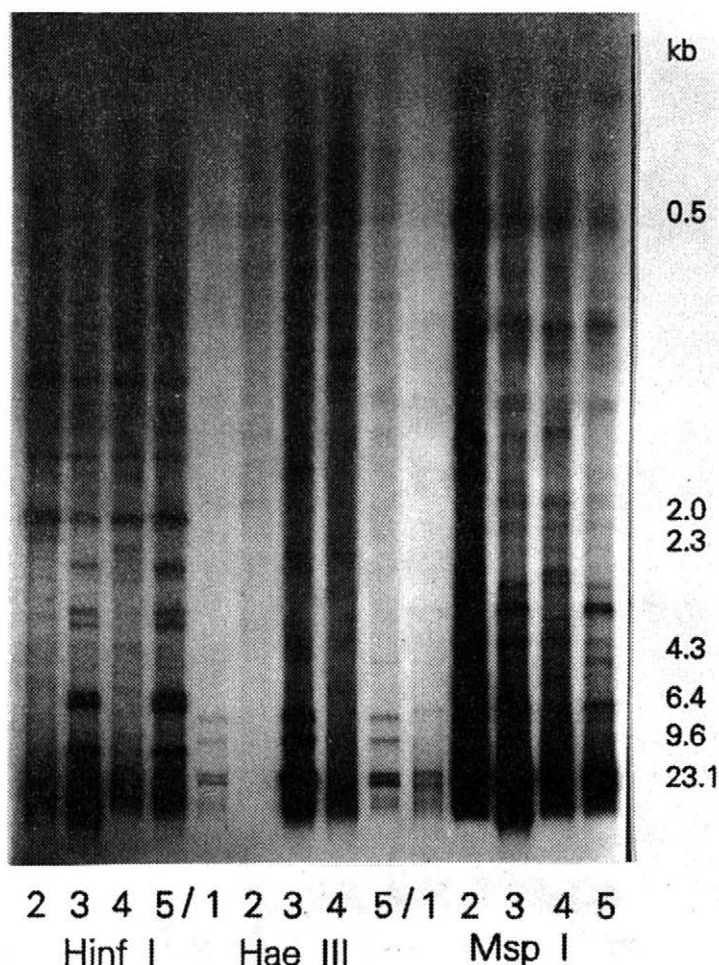
DNA fingerprinting is a very efficient molecular biology method for identifying individuals based on DNA analysis (Jeffreys et al., 1985a). Although the method was originally developed for application in human genetics, at present it is very often used for the differentiation of other living organisms (Gilbert et al., 1991; Marinelli et al., 1992; Pazdera et al., 1993). The technique is used in parentage analysis, population studies or in criminological practice (Gill et al., 1985; McCabe, 1992; Nishimi, 1992). The method is based on the discovery of short, hypervariable and repetitive sequences, which are in various numbers of copies localized in different places of the genome in eucaryotic organisms (Eppelen, 1992). The repetitive sequences may contain a certain, short, basic pattern, which is repeated several times (Jeffreys et al., 1985b). This basic motif can be artificially synthesized and subsequently used in the relationship studies using DNA fingerprinting (Zischler et al., 1989). We have used a similar approach in our study when a short oligonucleotide probe (GTG)₅ was used for fingerprinting in *Falconidae*.



1. DNA of *F. peregrinus* after digestion with restriction endonuclease Hinf I, Hae III and Msp I. 1 = unrelated female S4, 2 = male S5, father of the male S7, 3 = female S6, mother of the male S7, 4 = male S7, 5 = unrelated female S8

MATERIAL AND METHODS

Nineteen birds of prey of the family *Falconidae* and their interspecies hybrids were used in this study. Approximately 50 µl of blood were taken from *v. ulnaris* in 13 birds. In the remaining 6 cases blood was taken from dead birds during *post mortem* examinations (the birds were stored at -20 °C up to 8 months). Ten microliters of the blood were washed twice with sterile PBS and finally resuspended in 100 µl of 1% low-melting agarose. After solidification the agarose blocks were incubated for 48 hours at 50 °C in lysis solution (250 mM EDTA, 1% lauryl

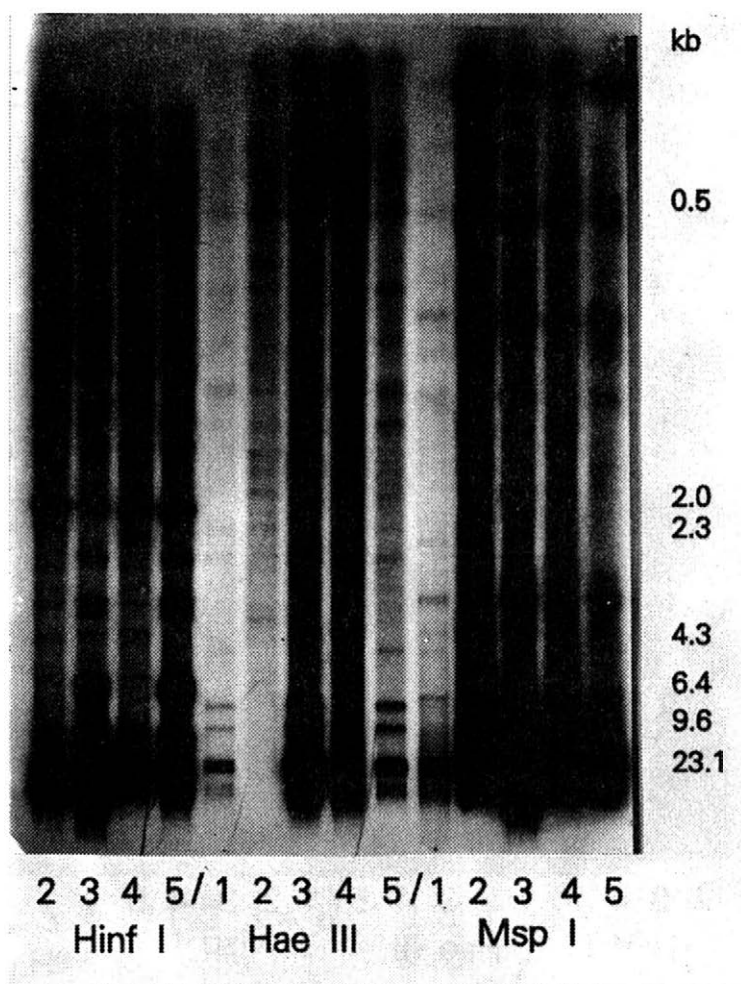


2A. DNA fingerprints after hybridization with the probe (GTG)₅ and 1 day exposure. Detailed description see Fig. 1

sarcosinate and 1 mg/ml proteinase K). Digestion with restriction endonucleases Hinf I, Hae III and Msp I, electrophoresis, vacuum blot, hybridization and radiolabelling of the oligonucleotide probe with ³²P dCTP were performed as described previously (S a m b r o o k et al., 1989; R y c h l í k et al., 1993).

RESULTS AND DISCUSSION

DNA fingerprinting is a suitable method used for relationship determination or identification of individual organisms (J e f f r e y s et al., 1985c). As was shown previously, a simple basic motifs e.g. (GTG)_n are often components of the repetitive sequences in eucaryotic organisms and therefore can be used for the detection of



2B. DNA fingerprints after hybridization with the probe (GTG)₅ and 3 days exposure. Detailed description see Fig. 1

individual DNA fingerprints (Zischler et al., 1989). Possible use of the oligonucleotide probe (GTG)₅ for such a detection was demonstrated in the group of 19 birds of the family *Falconidae*. Regarding the fact that avian blood contains about 3×10^6 nucleic red blood cells per mm^3 , 10 μl of the blood is sufficient for the whole examination. Numerous repetitive sequences were observed even after digestion with restriction endonuclease and subsequent electrophoresis (Fig. 1). After hybridization with (GTG)₅ different number of the fragments in individual birds appeared (Fig. 2A and 2B). Most of the fragments were present in all the birds, some of them were female specific and about 5 - 10 % were individual specific. Based on the chromosomal sex determination in the *Abraxas* type in birds (ZZ - male, ZW -

female) we suppose that the female specific fragments were localized on the sex chromosome W and therefore were not present in male birds.

GTG pattern can be repeated in individual restriction fragments in various numbers of copies. Then the different intensity of the hybridization of the probe with complementary sequences occurs, resulting in different signal intensity after exposition on the X-ray film. Therefore the membranes were exposed at least twice in different times (Fig. 2A and 2B).

Even the DNA from the blood of dead animals was isolated and we failed only in one case. Blood of this animal was severely autolysed due to the death caused by bacterial sepsis in summer.

We confirmed the known relationship between individual birds in some cases. However, for a precise determination of relationship in uncertain cases, a larger group of birds of prey has to be tested using (GTG)₅ as a probe.

References

- EPPLEN, J. T.: Diagnostic application of repetitive DNA sequences. *Clin. Chim. Acta*, 209, 1992: S11-S13.
- GILBERT, D. A. - PACKER, C. - PUSEY, A. E. - STEPHENS, J. C. - O' BRIEN, S. J.: Analytical DNA fingerprinting in lions: parentage, genetic diversity, and kinship. *J. Hered.*, 82, 1991: 378-386.
- GILL, P. - JEFFREYS, A. J. - WERRET, D. J.: Forensic application of DNA „fingerprints“. *Nature*, 318, 1985: 577-579.
- JEFFREYS, A. J. - WILSON, V. - THEIN, S. L.: Hypervariable „minisatellite“ regions in human DNA. *Nature*, 314, 1985a: 67-73.
- JEFFREYS, A. J. - WILSON, V. - THEIN, S. L.: Individual-specific „fingerprints“ of human DNA. *Nature*, 316, 1985b: 76-79.
- JEFFREYS, A. J. - BROOKFIELD, J. F. Y. - SEMEONOFF, R.: Positive identification of an immigration test-case using human DNA fingerprints. *Nature*, 317, 1985c: 818-819.
- MARINELLI, L. - MESSIER, F. - PLANTE, Y.: Use of DNA fingerprinting to determine parentage in muskrats (*Ondatra zibethicus*). *J. Hered.*, 83, 1992: 356-360.
- MCCABE, E. R. B.: Applications of DNA fingerprinting in pediatric practice. *J. Pediatrics*, 120, 1992: 499-509.
- NISHIMI, R. Y.: Forensic DNA analysis: scientific, legal, and social issues. *Cancer Investigation*, 10, 1992: 553-563.
- PAZDERA, J. - HRUBAN, V. - PICHRTOVÁ, J. - MÜLLER, Z. - JÍLEK, F.: DNA fingerprinting u konf. Vet. Med. - Czech, 38, 1993: 223-228.
- RYCHLÍK, I. - ŠIŠÁK, F. - LÁNY, P.: Differentiation of *Salmonella enteritidis* and *S. typhimurium* using plasmid profile analysis and restriction endonuclease analysis of chromosomal DNA. *Vet. Med. - Czech*, 38, 1993: 433-439.
- SAMBROOK, J. - FRITSCH, E. F. - MANIATIS, T.: Molecular cloning; a laboratory manual. 2nd ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

ZISCHLER, H. - NANDA, I. - SCHAFER, R. - SCHMID, M. - EPPLEN, J. T.: Digoxigenated oligonucleotide probes specific for simple repeats in DNA fingerprinting and hybridization *in situ*. Hum. Genet., 82, 1989: 227-233.

Received for publication on 6th Dec. 1993

RYCHLÍK, I. - KUBÍČEK, O. - HOLČÁK, V. - BÁRTA, J. - PAVLÍK, I. (Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno; Odchovna dravých ptáků, Milotice):

DNA fingerprinting u sokolovitých dravců.

Vet. Med. - Czech., 39, 1992 (2-3): 111-116.

Cílem této práce bylo aplikovat metodu DNA fingerprintingu u sokolovitých dravců. Za využití oligonukleotidové sondy (GTG)₅ bylo vyšetřeno 19 dravců. DNA byla izolována z 10 µl krve z krevních buněk imobilizovaných v nízko tuhnoucí agaróze. Po štěpení restrikčními endonukleázami (Hinf I, Hae III a Msp I), hybridizaci a expozici na RTG film sonda (GTG)₅ vykazovala dostatečný polymorfismus restrikčních fragmentů. Většina fragmentů byla druhově specifická, menší část vykazovala specifitu pro samčí pohlaví a asi 5 - 10 % restrikčních fragmentů bylo individuálně specifických. Dosažené výsledky potvrzují, že oligonukleotidová sonda (GTG)₅ je vhodná pro DNA fingerprinting u sokolovitých dravců. Dosažené výsledky je možné využít při opakované identifikaci jednotlivých ptáků a bude možné je využít i při sledování příbuzenských vztahů mezi dravými ptáky.

DNA fingerprinting; příbuzenské vztahy; sokolovití dravci; krev

Contact Address:

RNDr. Ivan R y c h l í k , Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70,
621 32 Brno, Czech Republic
Tel. 05 41321241, fax 05 41211229

PRASNICE A SELATA - NUTRIČNÍ INTERAKCE

A. Holub

Narození je pro selata nesmírně rizikovým a zdoluhavým procesem. Již samo putování rodidly matky je pro ně obrovskou zátěží, která je umocňována nutností některé funkční systémy nejen přebudovat, ale další dramaticky rychle uvádět do specifické aktivity. Navíc musejí podstatně zintenzivňovat svůj metabolismus.

Dosud kontinuální přívod živin placentou a pupečním provazcem skončil a tělové disponibilní rezervy energie mají nepřiměřeně malé. Jejich nejpohotovější část představuje kolem 16 g glykogenu (Holub aj., 1961), které mohou poskytnout na 274 kJ. Lipidů, typického energetického depa, mají ve tkáních jen kolem 11,5 g (Ježková a Holub, 1967a, b), tedy 453 kJ, ale ty jsou ke krytí energetických potřeb mobilizovatelné jen zčásti, protože plní i nezastupitelné úlohy funkční a strukturální. Kvantitativně nejvýznamnějšími makronutrienty jsou proteiny. K energetickým účelům jsou však katabolizovány v rozsahu zcela nepatrném (McCance a Widdowson, 1959; Holub a Ponížilová, 1968). Hlavním energetickým zdrojem prasečích neonátů, z 83 - 84 % (McCance a Widdowson, 1959), zůstávají sacharidy. Ty však stačí jen na několik málo hodin života (Holub, 1968a, 1982; Farmer aj., 1992; Randall, 1992). A tak jsou selata záhy po narození vystavena riziku záhubného hladovění.

KVANTIFIKACE PŘENOSU ŽIVIN A ENERGIE Z PRASNIC DO SELAT

Není proto divu, že se v nové, porodem a narozením vzniklé biologické jednotce, tvořené prasnicí a jejím vrhem, počíná rozvíjet sled dějů cílených k nutrici selat. Je to proces neobyčejně intenzivní. V jeho průběhu dávají plemence potomstvu na 390 kg mléka (Navrátil, 1958) až 450 (Lodge, 1959), tj. průměrně 7 až 8 kg/den, na jedno sele průměrně 650 - 900 g/den (Holub, 1962, 1968a, 1988). Laktace však probíhá nerovnoměrně. Náhle a prudce nastupuje během porodu, vrcholí ve druhém, třetím až čtvrtém týdnu a pak se postupně, protrahovaně snižuje tak, že po osmém týdnu zaniká.

Z údajů dříve publikovaných (Holub, 1962, 1968a, 1988) lze vyčíslit, že prasnice skýtají selatům mlékem neobyčejně velké množství energie; v prvním laktčním týdnu je to 25 - 40, v druhém 40 - 60 a v osmém ještě 18 - 28 MJ/den. V důsledku toho svůj klidový metabolismus dosahující na metabolickou hmotnost $340 \text{ kJ/kg}^{0,75}/\text{den}$ (Noblet aj., 1993) zvyšují v prvním týdnu kojení o 386 - 631, v druhém o 602 - 924 a ještě v osmém o $325 - 430 \text{ kJ/kg}^{0,75}/\text{den}$. Jejich aktuální relativní metabolismus dosa-

huje v laktaci tedy minimálně dvojnásobku a na jejím vrcholu až čtyřnásobku metabolismu klidového, tedy až ke stropu dlouhodobě (týdny) udržitelné a snesitelné intenzity metabolismu (P e t e r s o n aj., 1990). V období maximální produkce mléka stoupá průměrný klidový výkon prasníc ($3,94 \text{ W/kg}^{0,75}$) až o $8,59 \text{ W/kg}^{0,75}$. Je tudíž, takto měřeno, větší než u vysoko výkonných dojníc (H o l u b , 1968b). Toto ohromné zvýšení výdeje energie nejsou prasnice schopné krýt konzumem krmiv (N o b l e t aj., 1990) a tak mění v mléko i tkáň vlastních těl. Během laktace ztrácejí, jak vyplývá ze staršího údaje (N a v r á t i l , 1958), průměrně kolem 39 kg, tedy asi 15 % živé hmotnosti. Novější data tuto skutečnost potvrzují a dokládají její velkou proměnlivost (K i n g aj., 1982; R e e s e aj., 1982; M u l l a n a W i l l i a m s , 1990; S t e r n i n g aj., 1990; R o j k i t t i k h u n aj., 1993).

Na sele připadá v prvním postnatálním týdnu průměrně 548, v druhém 868 a v osmém 433 g/den mléka (N a v r á t i l , 1958, 1959), tedy 2,84 - 3,82 (v týdnu prvním), 4,43 - 5,59 (ve druhém) a 2,03 - 2,60 MJ/den (v osmém) energie (H o l u b , 1962, 1968a). Na jednotku živé hmotnosti je to nejvíce v týdnu prvním, 1,42 - 1,76 MJ/kg/den. Potom její příjem postupně klesá, do osmého týdne téměř jen na 10 % maxima. Obdobně je tomu i u hmotnosti metabolické; v týdnu prvním a druhém dosahuje ingesce 1,70 - 2,11 případně 1,79 - 2,26 MJ/kg^{0,75}/den; poté se také snižuje, na zhruba 16 % v týdnu osmém.

Kojeneckou výživu selat charakterizuje fakt, že je jim většina nutriční energie nabízena v lipidech. Mléko prasníc je tedy vysokotukovou dietou (H o l u b , 1962, 1968a). Tato situace se mění teprve příkrmem, v němž vesměs převažují sacharidy (H o l u b , 1962, 1968a). Jedním z důsledků energeticky bohaté nutrice selat je, že rychle rostou. Svou novorozenou hmotnost zdvojnásobují již za 7 - 10 dnů.

Mateřské mléko jim však neskýtá jen energii. V prvních hodinách po narození je též náležitě imunitně vybavuje (F r a s e r a R u s h e n , 1992; W i l l i a m s , 1993) a nepochybně je jim zdrojem dalších biologicky aktivních látek, jejichž existence počíná být postupně i prokazována u jiných species (K o l d o v s k ý , 1989; K o l d o v s k ý aj., 1989; R a o aj., 1990; P e a k e r a N e v i l l e , 1991).

ZAČÁTEK NUTRIČNÍCH INTERAKCÍ MEZI PRASNICEMI A SELATY

Spojení prasnice a vrhu selat má behaviorální charakter. V nově zrozeném biologickém systému se počíná formovat rychlá sekvence chronologicky organizovaných, navzájem závislých změn chování, sestávajících z prvků geneticky programovaných i z jevů adaptačních, postupně vytvářených.

Selata mají na tomto procesu získávání a distribuce výlučného nutričního zdroje, mateřského mléka, významný podíl.

Po apnoe, trvající 5 - 10 s, po několika lehkých zakašláních a po polypnoe trvající asi 20 s, začínají standardně dýchat. Za 1 - 2 min po vybavení z plodových obalů jsou schopna chodit (H u r n i k , 1985). V prvních hodinách není jejich motorika plně koordinována. Je však zřejmě usměrňována negativní geotaxí; po nakloněné rovině směřují vzhůru (M o r r i s aj., 1985; R o h d e P a r f e t a G o n y o u , 1990) a jen sklon větší než 10° tento pohyb znesnadňuje (G o n y o u , 1982).

K vlastnímu zdroji výživy počíná být jejich hybná aktivita směřována velmi brzy. Doba mezi narozením a prvním sáním, apetitivním chováním, je však velmi variabilní (Hemsworth aj., 1976a, b; Bate a Hacker, 1982; Bate aj., 1985; Morris aj., 1985; Herbst aj., 1986; Petersen aj., 1990). Většinou připadá na lokalizaci mléčné žlázy (Rhode Parfet a Gonyou, 1988). U selat, která přišla na svět později, je kratší. Zdá se, že jim cestu k vemenu usnadňují sourozenci dříve narození. V jeho hledání zřejmě hrají roli i stimuly čichové (Horrell a Eaton, 1984; Morrow-Tesch a McGlone, 1990a, b; Petersen aj., 1990; Horrell a Hodgson, 1992a, b; Algers, 1993), termické - povrch mléčné žlázy je teplejší než jiné části těla - a posléze i taktilní. Zpočátku se selata pohybují při zadní části těla prasnice, zvláště kolem vulvy (Jones, 1966; Rhode Parfet a Gonyou, 1988). Matky se však o ně do ukončení porodu, pokud nevypudí i placenty, příliš nezajímají, neolizují je (Gundlach, 1968; Randall, 1972a, b; Fraser, 1984; Graves, 1984; Jensen, 1986; Stangel a Jensen, 1991). Někdy je i odmítají, zvukově varují, hrozí jim, odstrkávají je i koušou a v krajních případech se chovají kronicky, zabíjejí je. Nutno připomenout, že prasata bývají řazena mezi unguláty, jichž matky své potomky odkládají a skrývají (Lent, 1974; Shillito Walser, 1977; Stangel a Jensen, 1991).

Jakmile neonáti vemeno objeví, snaží se posouvat k jeho pectorální části. Jedinci narození dříve většinou preferují struky nejprřednější; bývají mléčnější a snad se v nich i snáze vybavuje ejekce. Projevují se však i tendence k okupaci struků zadních (Ewbank, 1976; Hartsock a Graves, 1976; Jensen, 1986; Petersen aj., 1990). Po dosažení vemene se selata pokoušejí sát. Začíná se rozvíjet specifická cyklická výživa.

CYKlickÉ KOJENÍ

V průběhu několika, zpravidla tří dnů - u vrhů méně početných a rychleji rostoucích dříve (Ewbank, 1976) - nejpozději do týdne se v sání a kojení ustaluje pevný řád. Z dosud ne plně stabilizované výživy se vytváří organizované synchronizované sání (Fraser, 1973; Whittemore a Fraser, 1974; Lewis a Hurnik, 1985; Castrén aj., 1989b; Bøe, 1991), nutriční stereotyp, dělený na několik fází (Fraser, 1980; Hurnik, 1985; Algers, 1993). První je dosti variabilní. Zprvu asi v hodinových intervalech, v závislosti na množství disponibilního mléka, se u občas chrochtajících prasníc seskupují kvičící selata, strkají rypáčky do vemene a pokoušejí se z dostupných struků sát. Poté se podél mléčné žlázy uspořádávají. Každé sele - bez ohledu na polohu a postavení prasníc, které při kojení zpravidla leží na boku pravém i levém a příležitostně i stojí - se trvale fixuje na jediný struk a po zklidnění jej vertikálními pohyby rypáčku rytmicky masíruje. Na to, a to již dosti uniformně, asi jednou za sekundu saje. Struk při tom, i jazykem, viditelně obmyká. Toto relativně pomalé sání občas přerušuje několika sukčními pohyby frekventnějšími. Hlavu při tom drží zpravidla nehybně a ušní boltce má vztyčeny. V další fázi, začínající pro celý vrh současně, sají všichni sourozenci uniformními pohyby čelistí, asi třikrát rychleji než

v údobí předcházejícím, a často při tom mírně pokyvují hlavami. Právě v této krátké periodě, trvá jen 8 - 40 s (Fraser, 1980; Ellendorf aj., 1982), mléko doslova tankují. Boltce ušní mívají přitaženy k hlavě, od vemene se lehce oddalují a natahují je. Poté se často chápou i struků jiných nebo do nich strkají rypáčky a opět, ale ve volnějším rytmu, konají sací pohyby. Jejich chování pak přestává být uniformní.

Nejvyšší četnosti dosahuje cyklické sání ve druhém týdnu života. Denně se opakuje víc než dvacetkrát, i třicetkrát. Potom jeho frekvence velmi variabilně klesá a v pátém až desátém týdnu zaniká (Boe, 1993). V polopřirodních podmínkách k tomu dochází kolem devátého, šestnáctého, ale i dvacátého týdne (Newberry a Wood Gush, 1985; Jensen a Recén, 1989; Boe, 1991).

Sání bývá častěji iniciováno selaty, ve dvou třetinách případů. Jindy je tomu opačně, dvoutřetinový podíl připadá na prasnice (Hurník, 1985). Při společném ustájení v porodnách bývá v jedné třetině případů kojení vyvoláváno jinými plemenicemi, kojí se kolektivně, takže podíl vlastních matek se úměrně tomu snižuje (Boe, 1991). Jednotlivé cykly kojení končí prasnice v druhém týdnu z 50 %, v desátém, ale také již v pátém, z 90 % (Newberry a Wood Gush, 1985; Boe, 1993).

MECHANISMUS SÁNÍ

Až na drobné specifické rysy, vyplývající z jejich druhových charakteristik příjmu potravy (Herring a Scapino, 1973; Herring, 1985), transportují selata mléko do gastrointestinálního traktu podobně jako jiná savčí mláďata. Po obemknutí tlačí jazykem struk proti tvrdému i měkkému patru a pootevřením mandibuly vytvářejí v přední části dutiny ústní malý prostor. Následujícím poklesem čelisti jej expandují, až do něho z vemene vniká mléko. Střední část jazyka při tom klesá a jeho kořen se posunuje nazad tak, že jazyk a patro vytvářejí dva neprůchodné uzávěry. Přední se však záhy otevírá a do takto uvolněného prostoru se nasáté mléko přelévá. Na to se střední část jazyka zvedá k patru a jeho kořen se vysunuje vpřed. Tím se vytváří volný prostor pod měkkým patrem a mléko, nacházející se orálně, je do něho přemisťováno. Poté se čelist opět pootevřívá, kořen jazyka se zvedá, posunuje se kupředu, mléko vtéká do hltanu, vybavuje polykání a je přenášeno do jícnu. Tyto cykly se opakují čtyřikrát až pětkrát za sekundu (Germán aj., 1992). Polknutí však následují zpravidla až po druhém či třetím sukčním aktu. Uvedená aktivita je velmi stereotypní. Proměnami prochází jen její frekvence - s přibývajícím věkem selat se zmenšuje a objem ingestovaného mléka s věkem naopak roste (Germán aj., 1992).

SPOUŠTĚNÍ MLÉKA

Mléko však nelze získat bez aktivní účasti prasnic, bez jeho ejekce. O motorické aktivitě vemene prasnic není mnoho zpráv. Při dokončování porodu, na začátku kojení, mají prasnice v krvi ještě relativně vysokou koncentraci oxytocinu a jsou schopné spustit kolostrum poměrně snadno (Hurník, 1985; Boe, 1991). Ale i v tomto údobí, v samém počátku kojení, má tento proces intermitentní charakter. Během několika desítek hodin se pak stává zcela diskrétním, epizodickým.

Ve srovnání s jinými unguláty je ejekce mléka u prasnic vyvolatelná nesnadno. Objevuje se teprve po mocné, kolektivní, déle trvající stimulaci vemene celým vrhem a trvá jen krátce (Fraser, 1980; Ellendorf aj., 1982). Při tom může být nečekanými nebo neobvyklými podněty snadno inhibována (Fraser, 1977). Nemůže nastat kdykoliv; má refrakterní fázi (Lewis a Hurnik, 1985; Castrén aj., 1989a).

Druhově velmi vzácná je i vokalizace prasnic před kojením a v jeho průběhu (Gundlach, 1968; Whittemore a Fraser, 1974; Ellendorf aj., 1982; Shillito Walser, 1986; Jensen, 1988; Castrén aj., 1989b; Algers aj., 1990; Cronin a van Amerongen, 1991; Cronin a Smith, 1992a, b; Algers, 1993). Významu zvukové signalizace v systému matka a její potomstvo nasvědčuje i skutečnost, že laktující prasnice - jak vyplývá z experimentů s modely selat - odpovídá víc na selektivní stimuly sluchové než na taktilní a vizuální (Hutson aj., 1991).

ODSTAV SELAT

V důsledku snižování frekvence kojení se zkracuje doba pobytu selat v bezprostřední blízkosti prasnic, z více než 12 h v druhém týdnu na necelou 1 h v pátém, případně na méně než 3 h v desátém. Současně se mění i diurnální rozdělení sacích cyklů; v noci jich ubývá více (Bøe, 1991, 1993).

Od druhého týdne totiž začínají být selata odstavována. Vstupují do dlouhodobé, kritické a konfliktní životní fáze. Usilují, aby do nich matka i nadále maximálně investovala, a to po dobu co nejdelší, a ona se vrhu, který živí doslova svým tělem, brání. A tak jsou selata nucena přecházet nejen na jiné zdroje výživy, ale vůbec měnit své fyziologické (Holub, 1968a, 1988, 1991) i morfologické charakteristiky, přejít do další životní etapy, v níž jsou na matce existenčně stále méně a méně závislá (Martin, 1984, 1985; Counsilman a Lim, 1985).

PORUCHY NEONATÁLNÍ VÝŽIVY SELAT

Složitý proces vzájemných interakcí při přesunu mléka z vemene prasnice do trávicího traktu selat orální cestou se mění. Někdy nemá kýžený efekt, není úspěšný a bývá i poruchový. Ne všichni příslušníci vrhu se při každém kojení nasatí (Castrén aj., 1989a; Algers, 1993). Zvláště závažné konsekvence mívají nutriční karence bezprostředně po narození. Někteří jedinci ztrácejí mnoho času již při hledání struků; kouty odchovných zařízení jsou pro ně přímo pastmi (Gonyou, 1982; Rohde Parfet a Gonyou, 1990). Ale i po prvním kontaktu s vemenem získává kolostrium do jedné hodiny ani ne polovina a do pěti hodin asi jen dvě třetiny vrhu. Nerozhoduje o tom ani pořadí při narození, ani jejich živá hmotnost (Whittemore a Fraser, 1974; Fraser, 1974, 1977; Watson a Bertram, 1980; Ellendorf aj., 1982; Castrén aj., 1989a).

Krucialním nutričním činitelem je totiž jejich fyzická zdatnost, zdravotní stav. Selata jsou po strastech rození traumatizována a handicapována. Perinatálnímu stresu začí-
na-

jícímu přerušením placentární dodávky kyslíku čelí podobně jako jiní neonáti specifickou, nikoli neurogení záplavou katecholaminů, především noradrenalinu (Lagercrantz a Slotkin, 1986; Slotkin a Seidler, 1988). Zvyšuje jim úroveň bdělosti a ostráživosti, motorické aktivity, což je důležité i při formování jejich vztahů mezi matkou a sourozenci.

HYNUTÍ SELAT

Velmi často však tyto mechanismy nestačí, selhávají, a tak 5 - 7 % neonátů nezačíná ani dýchat, úskalí rození nepřekonává (Bille aj., 1974; Ponda Hought, 1983). Přežívající jedinci však bývají fatálně postiženi také. Trpí anoxií, metabolickou a respirační acidózou, poruchami činnosti centrálního nervového systému a chování. Jsou letargičtí, jeví znaky neonatálního maladaptativního syndrómu. A tak hlavně v prvních třech až sedmi dnech po narození hynou. Jejich hynutí pokračuje, byť ve ztenčené míře, až do konce odstavu a celkem dosahuje 20 - 30 % i více (Hosman, 1967; Holub, 1968, 1990; Edwards, 1972; Leman aj., 1972; Stephens, 1972; Bäckström, 1973; Curtis, 1974; Englad, 1974, 1986; Nielsen aj., 1974; Takács, 1980; Svendsen a Bille, 1981; Svendsen aj., 1986a, b; Madsen a Greve, 1990; Vaillancourt aj., 1991).

Z patologickoanatomických nálezů publikovaných již před třiceti až čtyřiceti lety vyplývá, že příčinou úhynu těchto selat je ve 23 % případů hlad, v 19 % hlad a vrozená slabost a 5 % hladových selat je při pokusech o sání zalehnuto nebo zašlápnuto, tzn. že 47 % připadá na poruchy přenosu mléka z prasníc do selat, na nedostatečnou výživu (Fraser, 1966a, b; Holub, 1968a). Skutečný podíl fatálních důsledků souvisejících s nutricí je však pravděpodobně ještě větší, protože asi třetina úhynů spolehlivě diagnostikována nebývá (Sharpe, 1966). S těmito údaji korespondují i nálezy z domácího materiálu: téměř tři čtvrtiny mortality selat jsou podmíněny kvantitativními či kvalitativními nedostatky v jejich výživě. Často bývá spojena se svalovou slabostí o níž se lze domnívat, že s nutričními poruchami souvisí (Mraz, 1963). Tato fakta jsou znovu a znovu potvrzována, a to i velmi progresivními postupy. A tak se dnes za hlavní příčinu zvláště velmi časných postnatálních úhynů selat pokládá hypoxie, poruchy fetálního vývoje a růstu a stresové syndromy. Selata slabá, nefyziologicky hybná hynou v naprosto převážné většině jako hladová. V mnoha směrech mají stejný sekční histologický obraz jako jedinci uhynuvší již *intra partum*. Navíc jeví znaky zcela specifické, z nichž je zřejmé, že mají více problémů, než vyplývá z detekovaných patologických změn. I selata životná, smrtelně zraněná prasnici náhodně, mívají orgánové charakteristiky vedoucí k podezření, že mnohá z nich nejsou tak normální, jak by se dalo vyvozovat z jejich chování a běžných klinických projevů (Björklund aj., 1987a, b; Algers, 1992).

Ve zvlášť velkém nebezpečí jsou selata, která byla vystavena existenčnímu intrapartálnímu riziku déle, rodí se později, ve vyšším pořadí, a to především při protrahovaných porodech (Curtis, 1974). Vždyť poslední příslušníci vrhu přicházejí na svět průměrně za téměř pět hodin (Morgenthau a Bolduan, 1980; Klocek

aj., 1990), ale i osm hodin po prvních (Algers, 1992). Strasti jejich vstupu do extrauterinního bytí však začínají mnohem dřív, s nástupem stahů děložních. Proto ve vrhu poslední neonáti nejen častěji hynou (Friend aj., 1962; Friend a Cunningham, 1966; Jones, 1966; Randall, 1972a, b), ale jsou též častěji postižováni neonatálním maladaptacním syndromem.

Po stabilizaci nutričních cyklů bývají těžší příslušníci vrhu v sání úspěšnější (Castrén aj., 1991). V této souvislosti však nelze opomenout, že menší selata, hlavně zakrslíci, vykazují častěji i znaky nezralosti (Pomero, 1960; Adams; Dickerson aj., 1971; Widdowson, 1971). Některé orgány mají absolutně, ale i relativně menší, např. skelet, jež bývá i méně vyzrálý. Naproti tomu srdce, slezinu a žaludek mívají poměrně větší. Totéž platí i o jejich mozku, který však bývá méně diferencován. Tito jedinci nejen méně často přežívají, ale i pomaleji rostou. Jejich zrání je nevyrovnané a nekomplexní, nesnadno čelí nadměrným zátěžím. To vše zvyšuje uvnitř vrhu rozdíly v konzumaci mléka, jejichž důsledkem je další nerovnost, např. rozdílnost v rychlosti růstu selat.

RANÝ A ČASNÝ ODSTAV SELAT

Selata lze odchovávat zcela odlišně, je možné je raně či časně odstavovat. Děje se tak z ekonomických důvodů, např. v zájmu využití reprodukčního potenciálu prasnic. Jedním z krajních případů takového postupu je jejich odstavení druhého dne po narození, po konzumaci kolostra (Holub, 1964a, b, 1977, 1988, 1990, 1991; Fraser, 1978). Jsou izolována od matek i sourozenců a individuálně živena tekutou dietou, vlastnostmi podobnou mléku prasnic. Tím se jejich svět, životní prostředí, podnětové pole, do 48 h po narození úplně mění. Formující se složitý a křehký biologický systém (prasnice a vrh) je rozvrácen a rozmetán. Selata jsou ze společné nutrice ve vrhu s výraznými kompetitivními prvky převedena na výživu solitární, nemusejí, ba ani nemohou společným úsilím vyvolávat u prasnic ejekci. Stereotypně je jim stanoven denní počet sání (např. na deset) a tento režim je jim neměnně prodlužován na dobu více týdnů. Po tuto dobu mohou rozhodovat jen o stylu sání a o velikosti sané porce. Selektce potravy, koexistence sání a příjmu pevného, suchého příkrmu a pití vody i volba frekvence konzumace je jim znemožněna. Z ritualizovaného chování ve vrhu u prasnice zůstávají jen trosky (Algers, 1984). Např. před uchopením savičky se často rypáčky rytmicky opírají o stěny klecí a někdy si krátce sají jazyky (Holub, 1989, 1991). Přesto jsou schopná krýt své nutriční potřeby tak, že v některých fázích svého vývoje vykazují rychlejší růst než pod prasnicemi (Holub, 1964a, b, 1988, 1990, 1991). Konzum diety je však modulován takovými činiteli jako je věk selat, v němž jsou odstavována (Holub, 1971, 1988, 1991), denzitou diety (Holub, 1964, 1988) a frekvencí její nabídky (Holub, 1964, 1988; Holub a Doležel, v tisku).

Možno je izolovaně, individuálně odchovávat i tak, že je jim tekutá dieta cyklicky, v obdobných intervalech jako z lahví se savičkami, nabízena z korýtek. Pak ji nesají, nýbrž pijí, tedy konzumují za účasti dosti odlišných orálních ingesčních mechanismů. I potom ji však přijímají v souladu s jejich intenzivním metabolismem, v němž převa-

žují děje anaboličké (H o l u b , 1988). Již brzy po narození tedy projevují značnou ingescí plasticitu, větší než některé jiné savčí druhy (G o r d o n a H e r r i n g , 1986).

Takovéto zásahy nezůstávají bez následků. Některé se objevují bezprostředně a záhy mizí. Jiné přetrvávají i v následujících životních etapách a další se objevují teprve pozdě, třeba až v dospělosti, tedy po latentní periodě různě dlouhého trvání (H o r á k o v á aj., 1971).

ZÁVĚR

Základní nutriční mechanismy se v savčí ontogeneze objevují záhy. Saní a polykací pohyby lze vyvolat již u fetů (V o l o c h o v , 1959) a naplnění žaludku inhibuje konzum potravy již u novorozenců bez předchozích alimentárních zkušeností (S a t i n o f f a S t a n l e y , 1963; S t e p h e n s , 1975). Další vývoj těchto zčásti již před narozením existujících rysů obživného chování tvoří podle S c o t t a (1958) základ neonatální vývojové periody. Je poměrně krátká, přechodná, vyznačuje se rychlými přeměnami chování a je spojena s nástupem nových behaviorálních prvků. Po ní následuje perioda socializační, pro niž je typický výskyt vzájemných interakcí mezi mláďaty a matkou (S c o t t a M a r s t o n , 1950; W i l l i a m s a S c o t t , 1953; S c o t t , 1958). V průběhu tohoto vývoje se apetitivní odpovědi postupně zpřesňují, diferencují, stávají se adresnějšími a cílenějšími, a to za účasti matky i bez ní. Postnatální přísun živin se tak v zájmu úprav metabolismu, jenž prochází rovněž intenzivním individuálním vývojem, stále zdokonaluje (A d o l p h , 1968; H a l l , 1979, 1990).

Je tomu tak i u selat. Jejich postnatální funkční vývoj lze za použití kvantitativních a kvalitativních kritérií souvisejících s výživou dělit do několika etap. Je charakterizován nejen zcela zjevnými periodami kritickými, ale i méně zřejmými, spíše kontinuálními funkčními posuny a proměnami (D e n n e b e r g , 1962). První z těchto stadií bylo označeno jako kojenecké a trvá od narození do šestého až desátého dne (H o l u b , 1968a, 1988, 1990, 1991). Vývoj selat se však také vyznačuje značnou plasticitou. To jim umožňuje, aby i v sociální deprivaci, izolována jak od matky tak od sourozenců, po hlubokých zásazích do jejich velmi intenzivního, energeticky napjatého nutričního režimu, náležitě upravovala homeostázu a zůstala v anabolismu, a to dokonce vyšším než při konvenčním odchovu u matek ve vrhu.

Problematika nutričního chování selat je vědecky i aplikačně velmi zajímavá a závažná. I když začala v poslední době, hlavně v některých zemích, přitahovat více pozornosti, vyžaduje ještě více studia, od spolehlivého definování a redefinování jevů a základních pojmů a termínů až po jejich komplexní výklad. Selata tudíž představují pozoruhodný gnozeologický behaviorální problém a mohla by se stát nadějným etologickým modelem.

Literatura

- ADAMS, P. H.: Intra-uterine growth retardation in the pig. II. Development of the skeleton. *Biol. Neonate*, 19, 1971: 329.
- ADOLPH, E. F.: Origins of physiological regulations. New York, London 1968. 147 s.
- ALGERS, B.: Early weaning and cage rearing of piglets: Influence on behaviour. *Zbl. Vet.-Med.*, R. A, 31, 1984: 14-24.
- ALGERS, B.: Natural behaviour - A natural concept. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.*, 105, 1992: 372-373.
- ALGERS, B.: Nursing in pigs: Communicating needs and distribution resources. *J. Anim. Sci.*, 71, 1993: 2826-2831.
- ALGERS, B. - ROJANASTHIEN, S. - UVNÄS-MOBERG, K.: The relationship between teat stimulation, oxytocin release and grunting rate in sows during nursing. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 26, 1990: 267-276.
- BÄCKSRÖM, L.: Environment and animal health in piglet production. A field study on incidences and correlations. *Acta Vet. Scand. Suppl.*, 41, 1973: 1-240.
- BATE, L. A. - HACKER, R. R.: Estrogen and piglets viability. II. Effect of estrogen on piglets viability. *J. Anim. Sci.*, 54, 1982: 1017-1022.
- BATE, L. A. - KREUKNIE, M. B. - HACKER, R. R.: The relationship between serum testosterone levels, sex and teat-seeking ability of newborn piglets. *Can. J. Anim. Sci.*, 65, 1985: 627-630.
- BILLE, N. - NIELSEN, N. C. - LARSEN, J. L. - SVENDSEN, J.: Prewaning mortality in pigs. II. The perinatal period. *Nord. Vet. Med.*, 26, 1974: 294-313.
- BJÖRKLUND, N-E. - SVENDSEN, J. - SVENDSEN, L. S.: Histomorphological studies of the perinatal pig. The unaffected pig. *Acta Vet. Scand.*, 28, 1987: 93-104.
- BJÖRKLUND, N-E. - SVENDSEN, J. - SVENDSEN, L. S.: Histomorphological studies of the perinatal pig. Comparison of five mortality groups with unaffected pigs. *Acta Vet. Scand.*, 28, 1987: 105-116.
- BØE, K.: The process of weaning in pigs: when the sow decides. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 30, 1991: 47-59.
- BØE, K.: Maternal behaviour of lactating sows in a loose-housing system. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 35, 1993: 327-338.
- CASTRÉN, H. - ALGERS, B. - JENSEN, P.: Occurrence of unsuccessful sucklings in newborn piglets in a semi-natural environment. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 23, 1989a: 61-73.
- CASTRÉN, H. - ALGERS, B. - JENSEN, P. - SALONIEMI, H.: Suckling behaviour and milk consumption in newborn piglets as response to sow grunting. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 24, 1989b: 227-238.
- CASTRÉN, H. - ALGERS, B. - SALONIEMI, H.: Weight gain pattern in piglets during the first 24 h and after farrowing. *Livestock. Prod. Sci.*, 28, 1991: 321-330.
- COUNSILMAN, J. J. - LIM, L. M.: The definition of weaning. *Anim. Behav.*, 33, 1985: 1023-1024.
- CRONIN, G. M. - AMERONGEN, G. van: The effect of modifying the farrowing environment on sow behaviour and survival and growth of piglets. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 30, 1991: 287-298.
- CRONIN, G. M. - SMITH, J. A.: Suckling behaviour of sows in farrowing crates and straw-bedded pens. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 33, 1992a: 175-189.

- CRONIN, G. M. - SMITH, J. A.: The effect of accommodation type and straw bedding around parturition and during lactation on the behaviour of primiparous sows and survival and growth of piglets to weaning. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, **33**, 1992b: 191-208.
- CURTIS, S. E.: Responses of the piglet to perinatal stressors. *J. Anim. Sci.*, **38**, 1974: 1931-1936.
- DENNEBERG, V. H.: The effects of early experience. In: *The behaviour of domestic animals*. London, 1962: 109-138.
- DICKERSON, J. W. T. - MERET, A. - WIDDOWSON, E. M.: Intrauterine growth retardation in the pig. III. The chemical structure of the brain. *Biol. Neonate*, **19**, 1971: 354.
- EDWARDS, B. L.: Causes of death in new-born pigs. *Vet. Bull.*, **42**, 1972: 249-258.
- ELLENDORF, F. - FORSLING, M. L. - POULAIN, D. A.: The milk ejection reflex in the pig. *J. Physiol.*, **333**, 1982: 577-594.
- ENGLAND, D. C.: Husbandry components in prenatal and perinatal development in swine. *J. Anim. Sci.*, **38**, 1974: 1045-1049.
- ENGLAND, D. S.: Improving sow efficiency by management to enhance opportunity for nutritional intake by neonatal piglets. *J. Anim. Sci.*, **63**, 1986: 1297-1306.
- EWBANK, R.: Social hierarchy in suckling and fattening pigs: A review. *Livestock Prod. Sci.*, **3**, 1976: 363-372.
- FARMER, C. - PETITCLERC, D. - PELLETIER, G. - GANDREAU, P. - BRAZEAU, P.: Carcass composition and resistance to fasting in neonatal piglets of sows immunized against somatostatin and/or receiving growth hormone-releasing factor injected during gestation. *Biol. Neonate*, **61**, 1992: 110-117.
- FRASER, A. F.: Studies of piglets husbandry in Jamaica: I. The relationship of litter size to survival till weaning. *Brit. Vet. J.*, **122**, 1966a: 288-295.
- FRASER, A. F.: Studies of piglets husbandry in Jamaica: II. Principal causes of loss between birth and weaning. *Brit. Vet. J.*, **122**, 1966b: 325-332.
- FRASER, D.: The nursing and suckling behaviour of pigs. I. Importance of stimulation of the anterior teats. *Brit. Vet. J.*, **129**, 1973: 324-335.
- FRASER, D.: The nursing and suckling behaviour of pigs. III. Behaviour when milk ejection is elicited by manual stimulation of the udder. *Brit. Vet. J.*, **131**, 1975: 416-425.
- FRASER, D.: Some behavioural aspects of milk ejection failure by sows. *Brit. Vet. J.*, **133**, 1977: 126-133.
- FRASER, D.: Observation on the behavioural development of suckling and early-weaned piglets during the first six weeks after birth. *Anim. Behav.*, **26**, 1978: 22-30.
- FRASER, D.: A review of the behavioural mechanism of milk ejection of the domestic pig. *Appl. Anim. Ethol.*, **6**, 1980: 247-255.
- FRASER, D.: The role of behaviour in swine production: A review of research. *Appl. Anim. Ethol.*, **11**, 1984: 317-339.
- FRASER, D. - RUSHEN, J.: Colostrum intake by newborn piglets. *Can. J. Anim. Sci.*, **72**, 1992: 1-13.
- FRIEND, D. W. - CUNNINGHAM, H. M.: Piglet birthweight and the order of farrowing. *Can. J. Comp. Med.*, **30**, 1966: 17-19.
- FRIEND, D. W. - CUNNINGHAM, H. M. - NICHOLSON, J. W. G.: The duration of farrowing in relation to the reproductive performance of Yorkshire sows. *Can. J. Comp. Med.*, **26**, 1962: 127-130.

- GERMAN, R. Z. - CROMPTON, A. W. - LEVITCH, L. C. - THEXTON, A. J.: The mechanism of suckling in 2 species of infant mammal - Minatur pigs and long-tailed macaques. *J. Exp. Zool.*, 261, 1992: 322-330.
- GONYOU, H. W.: Movement of piglets before reaching the udder. *J. Anim. Sci.*, 55, Suppl. 1, 1982: 82.
- GORDON, K. R. - HERRING, S. W.: Activity patterns within the genioglossus during suckling in domestic dogs and pigs: interspecific plasticity. *Brain Behav. Evol.*, 30, 1986: 249-262.
- GRAVES, H. B.: Behavior and ecology of wild feral swine (*Sus scrofa*). *J. Anim. Sci.*, 58, 1984: 482-492.
- GUNDLACH, H.: Brutfürsorge, Brutpflege, Verhaltensontogenese und Tagesperiodik beim Europäischen Wildschwein (*Sus scrofa*, L.). *Z. Tierpsychol.*, 25, 1968: 955-995.
- HALL, W. G.: The ontogeny of feeding in rats. I. Ingestive and behavioral responses to oral infusions. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 93, 1979: 977-1000.
- HALL, W. G.: The ontogeny of ingestive behavior. In: *Handbook of behavioral neurobiology. Volume 10. Neurobiology of food and fluid intake*. New York, London, 1990: 77-123.
- HARTSOCK, T. G. - GRAVES, H. B.: Neonatal behaviour and nutrition-related mortality in domestic swine. *J. Anim. Sci.*, 42, 1976: 235-241.
- HEMSWORTH, P. H. - WINFIELD, C. B. - MULLANEY, P. D.: Within-litter variation in the performance of piglets to three weeks of age. *Anim. Prod.*, 22, 1976a: 351-357.
- HEMSWORTH, P. H. - WINFIELD, C. B. - MULLANEY, P. D.: A study of the development of the teat order in piglets. *Appl. Anim. Ethol.*, 2, 1976b: 225-233.
- HERBST, H. G. - KOHLS, M. - KOHLS, W. - ILLMAN, G. - PLÖTNER, K.: Genese des Mutter-Wurf-Nest-Systems. *Mh. Vet-Med.*, 41, 1986: 634-636.
- HERRING, S. W.: The ontogeny of mammalian mastication. *Amer. Zool.*, 25, 1985: 339-349.
- HERRING, S. W. - SCAPINO, R. P.: Physiology of feeding in miniature pigs. *J. Morphol.*, 141, 1973: 427-460.
- HOLUB, A.: Kvantitativní poměry ve výživě selat v době sání. *Veter. Med. (Praha)*, 7, 1962: 711-724.
- HOLUB, A.: Váňové přírůstky selat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvním měsíci života. *Živoč. Výr.*, 9, 1964a: 539-544.
- HOLUB, A.: Development of piglets weaned second day after birth. In: *Physiologie nutritionelle et sevrage des porcelets*. Paris 1964b: 85-93.
- HOLUB, A.: Odstav dvoudenních selat. *Veter. Med. (Praha)*, 12, 1967: 201-206.
- HOLUB, A.: Funkční periodizace časného postnatálního vývoje u selat. [Doktorská dizertace.] Brno 1968a: 125 s. - Vysoká škola zemědělská.
- HOLUB, A.: Změny váňových přírůstků selat a laktace prasnic v uplynulých desetiletích. *Veter. Med. (Praha)*, 13, 1968b: 511-519.
- HOLUB, A.: Kalorický konzum a změny živé váhy selat po odstavu ve druhém, šestém, desátém a čtrnáctém dnu života. *Veter. Med. (Praha)*, 16, 1971a: 697-702.
- HOLUB, A.: Problem of neonatal pig survival. *Acta Vet. Brno, Suppl.* 2, 1971b: 13-17.
- HOLUB, A.: Functional development and food intake of piglets. *Acta Vet. (Brno)*, 1982, Suppl. 5, 1982: 5-12.
- HOLUB, A.: Postnatale Änderungen im Nahrungsaufnahmeverhalten von Ferkeln. *Mh. Vet. Med.*, 43, 1988: 857-860.

- HOLUB, A.: Effect of rearing practices on the water consumption by piglets in the first eight weeks after birth. *Acta Vet. (Brno)*, 59, 1990: 129-137.
- HOLUB, A.: Feeding behaviour of early weaned bottle-fed piglets. In: *Proceedings of the 7th international congress on animal hygiene. Vol. III. Leipzig, 1991a: 1080-1083.*
- HOLUB, A.: Konzum vody selaty časně odstavovanými v různém věku na tekutou dietu. *Vet. Med. (Praha)*, 36, 1991b: 415-422.
- HOLUB, A. - DOLEŽEL, F.: Vliv denní frekvence sání na spotřebu tekuté diety u raně odstavených selat. v tisku
- HOLUB, A. - PADALÍKOVÁ, D. - FILKA, J.: Glykogen v játrech, srdci a kosterním svalu u selat v raném postnatálním období. *Vet. Med. (Praha)*, 6, 1961: 201-208.
- HOLUB, A. - PONÍŽILOVÁ, E.: Retence dusíku u časně odstavených selat. In: *Bílkoviny, jejich produkce a využití v zemědělství. Praha, 1968: 333-338.*
- HORÁKOVÁ, L. - HOLUB, A. - ZEŽULA, J.: Lasting effect of weaning at two to three days after birth in pigs. *Acta Vet. (Brno), Suppl. 2, 1971: 29-33.*
- HORRELL, R. I. - EATON, M.: Recognition of maternal environment in piglets: Effect of age and some discrete complex stimuli. *Quart. J. Exp. Psychol.*, 36, 1984: 119.
- HORRELL, I. - HODGSON, J.: The basis of sow-piglet identification. 1. The identification by sows of their own piglets and the presence of intendus. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 33, 1992a: 319-328.
- HORRELL, I. - HODGSON, J.: The basis of sow-piglet identification. 2. Cues used by piglets to identify their dam and home pen. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 33, 1992b: 329-344.
- HOSMAN, L.: Ztráty při odchovu selat. *Stud. Inform. Živoč. Vyr. - ÚVTIZ*, 3, Praha 1967: 1-92.
- HURNIK, J. F.: A review of periparturient behavior in swine. *Can. J. Anim. Sci.*, 65, 1985: 777-788.
- HUTSON, G. D. - WILKINSON, J. L. - LUXFORD, B. G.: The response of lactating sows to tactile, visual and auditory stimuli associated with a model piglet. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 32, 1991: 129-137.
- JENSEN, P.: Observations on the maternal behaviour of free-ranging domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 16, 1986: 131-142.
- JENSEN, P.: Maternal behaviour and mother-young interactions during lactation in free-ranging domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 20, 1988: 297-308.
- JENSEN, P. - RECÉN, B.: When to wean - observations from the free ranging domestic pigs. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 23, 1989: 49-60.
- JEŽKOVÁ, D. - HOLUB, A.: Die chemische Zusammensetzung des Körpers und die Dimensionen des Verdauungsapparates der Ferkel im ersten Lebensmonat. *Fortpfl. Besam. Aufz. Haustiere*, 3, 1967a: 232-237.
- JEŽKOVÁ, D. - HOLUB, A.: Changes in the chemical composition of piglets artificially reared during the 1st month of life. *Acta Fac. Vet. (Brno)*, 15, 1967b: 381-386.
- JONES, J. E. T.: Observation on parturition in the sow. II. The parturient and post-parturient phases. *Brit. Vet. J.*, 122, 1966: 471-478.
- KING, R. H. - WILLIAMS, I. H. - BARKER, I.: Reproductive performance of first litter sows in a commercial intensive. *Proc. Aust. Soc. Anim. Prod.*, 14, 1982: 557-560.
- KOLDOVSKÝ, O.: Is breast-milk epidermal growth factor biologically active in the sucklings? *Nutrition*, 5, 1989: 223-226.

- KOLDOVSKÝ, O. - BEDRICK, A. - RAO, R. K.: Physiological functions of human milk hormones. *Acta Paediat. Scand.*, Suppl. 351, 1989: 94-96.
- LAGERCRANTZ, H. - SLOTKIN, T. A.: Stress při roždění. *V mire nauki*, 1986: 62-71, 115.
- LEMAN, A. D. - KNUDSON, C. - RODEFFER, H. E. - MUELLER, A. G.: Reproductive performance of swine on 76 Illinois farms. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.*, 161, 1972: 1248-1250.
- LENT, P. C.: Mother - infant relationship in ungulates. In: *The behaviour in ungulates and its relation to management*. Vol. I. Morges, 1974: 14-55.
- LEWIS, N. J. - HURNIK, J. F.: The development of nursing behaviour in swine. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 14, 1985: 225-232.
- LODGE, G. A.: The energy requirements of lactating sows and the influence of food intake upon the milk production and reproduction performance. *J. Agric. Sci.*, 53, 1959: 177-191.
- MADSEN, M. T. - GREVE, T.: Fetal loss in a group of Danish LxY sows: A preliminary study. *Reprod. Dom. Anim.*, 25, 1990: 33-35.
- MARTIN, P.: The meaning of weaning. *Anim. Behav.*, 32, 1984: 1257-1259.
- MARTIN, P.: Weaning: A reply to Counsilman & Lim. *Anim. Behav.*, 33, 1985: 1924-1926.
- MCCANCE, R. A. - WIDDOWSON, E. M.: The effect of lowering the ambient temperature on the metabolism of the newborn pig. *J. Physiol.*, 147, 1959: 124-134.
- MORGENTHUM, R. - BOLDUAN, G.: Zur Beeinflussung der Dauer des Geburtsvorganges durch Lebendmasse und Diätfaktoren bei Sauen. *Mh. Vet. Med.*, 43, 1988: 194-196.
- MORRIS, G. L. - CURTIS, S. E. - SIMON, J.: Perinatal pigs under sublethal concentrations of atmospheric carbon monoxide. *J. Anim. Sci.*, 61, 1985: 1070-1079.
- MORROW-TESCH, J. M. - McGLONE, J. J.: Sensory systems and nipple attachment behavior in neonatal pigs. *Physiol. Behav.*, 47, 1990a: 1-4.
- MORROW-TESCH, J. M. - McGLONE, J. J.: Sources of maternal odors and the development of odor preferences in baby pigs. *J. Anim. Sci.*, 68, 1990b: 3563-3571.
- MRÁZ, A.: Rozbor příčin strát vo veľkokapacitných porodniciach pre prasnice. *Veterinárstv*, 13, 1963: 318-320.
- MULLAN, B. P. - WILLIAMS, I. H.: The chemical composition of sows during their 1st lactation. *Anim. Prod.*, 51, 1990: 375-387.
- NAVRÁTIL, B.: Příspěvek k studiu vyměšování mléka u prasnic bílého ušlechtilého plemene v ČSR. I. Velikost a průběh mléčné sekrece. *Živoč. Výr.*, 3, 1958: 537-554.
- NAVRÁTIL, B.: Příspěvek k studiu vyměšování mléka u prasnic bílého ušlechtilého plemene v ČSR. II. Váha, přírůstek, spotřeba a využití krmiv. *Živoč. Výr.*, 4, 1959: 348-369.
- NEWBERRY, R. C. - WOOD-GUSH, D. G. M.: The suckling behaviour of domestic pigs in semi-natural environment. *Behaviour*, 95, 1985: 11-25.
- NIELSEN, N. C. - CHRISTENSEN, K. - BILLE, N. - LARSEN, J. L.: Prewaning mortality in pigs. I. Herd investigations. *Nord. Vet. Med.*, 26, 1974: 137-150.
- NOBLET, J. - DOURMAN, J.-Y. - ETIENNE, M.: Energy utilization in pregnant and lactating sows: modelling of energy requirement. *J. Anim. Sci.*, 68, 1990: 562-572.
- NOBLET, J. - SHI, X. S. - DUBOIS, S.: Energy cost of standing activity in sows. *Livestock Prod. Sci.*, 34, 1993: 127-136.
- PEAKER, M. - NEVILLE, M. C.: Hormones in milk: chemical signals to the offspring? *J. Endocrin.*, 131, 1991: 1-3.
- PETERSEN, V. - RECÉN, B. - VESTERGAARD, K.: Behaviour of sows and piglets during farrowing under free-range conditions. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 26, 1990: 169-179.

- PETERSON, C. C. - NAGY, K. A. - DIAMOND, J.: Sustained metabolic scope. *Proc. Nat. Acad. Sci., USA*, 87, 1990: 2324-2329.
- POMEROY, R. W.: Infertility and neonatal mortality in the sow. I-IV. *J. Agric. Sci.*, 43, 1960: 1-66.
- POND, W. G. - HOUP, K. A.: *Biologija sviní*. Moskva, 1983. 334 s.
- RANDALL, G. C. B.: Observations on parturition in the sow. I. Factors associated with the delivery of the piglets and their subsequent behaviour. *Vet. Rec.*, 90, 1972a: 178-182.
- RANDALL, G. C. B.: Observations on parturition in the sow. II. Factors influencing stillbirth and perinatal mortality. *Vet. Rec.*, 90, 1972b: 183.
- RANDALL, G. C. B.: Perinatal adaptation in animals. *Anim. Reprod. Sci.*, 28, 1992: 309-318.
- RAO, R. K. - KOLDOVSKÝ, O. - DAVIS, T. P.: Inhibition of intestinal degradation of somatostatin by rat milk. *Amer. J. Physiol.*, 258, 1990: G426-G431.
- REESE, D. E. - MOSER, D. B. - PEO, R. E. Jr - LEWIS, A. J. - ZIMMERMAN, D. R. - KINDER, J. E. - STROUP, W. W.: Influence of energy intake during lactation on the interval from weaning to first estrus in sows. *J. Anim. Sci.*, 55, 1982: 590-598.
- ROHDE PARFET, K. A. - GONYOU, H. W.: Effect of creep partitions on teat seeking behavior of newborn piglets. *J. Anim. Sci.*, 66, 1988: 2165-2173.
- ROHDE PARFET, K. A. - GONYOU, H. W.: Directing the teat-seeking behavior of newborn piglets: use of sloped floors and curved corners in the design of farrowing units. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 25, 1990: 71-84.
- ROJKITTIKHUN, T. - EINARSSON, S. - UVNÄS-MOBERG, K. - ADQUIST, L. E.: Body weight loss during lactation in relation to energy and protein metabolism in standard-fed primiparous sows. *J. Vet. Med. A*, 40, 1993: 249-257.
- SATINOFF, E. - STANLEY, W. C.: Effect of stomach loading on sucking behavior in neonatal puppies. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 56, 1963: 66.
- SCOTT, J. P.: Critical periods in the development of social behavior in puppies. *J. Psychosom. Med.*, 20, 1958: 42-54.
- SCOTT, J. P. - MARSTON, M. V.: Critical periods affecting the development of normal and maladjustive social behavior in puppies. *J. Genet. Psychol.*, 77, 1950: 25-60.
- SHARPE, H. B. A.: Pre-weaning mortality in a herd of Large White pigs. *Vet. J.*, 12, 1966: 337.
- SHILLITO WALSER, E.: Maternal behaviour in mammals. In: *Comparative aspects of lactation*. London, 1977: 313-331.
- SHILLITO WALSER, E.: How early can piglets recognize their sow's voice? *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 15, 1986: 177-198.
- SLOTKIN, T. A. - SEIDLER, F. J.: Adrenomedullary catecholamine release in the fetus and newborn: secretory mechanisms and their role in stress and survival. *J. Dev. Physiol.*, 10, 1988: 1-16.
- STANGEL, G. - JENSEN, P.: Behaviour of semi-naturally kept sows and piglets (except suckling) during 10 days post partum. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 31, 1991: 211-227.
- STANTON, H. C. - CARROLL, J. K.: Potential mechanisms responsible for prenatal and perinatal mortality or low viability of swine. *J. Anim. Sci.*, 38, 1974: 1937-1044.
- STEPHENS, D. B.: Piglet survival. A review of some physiological considerations. *Vet. A.*, 12, 1972: 64-73.
- STEPHENS, D. B.: Effects of gastric loading on the sucking response and voluntary milk intake in neonatal piglets. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, 88, 1975: 796-805.

- STERNING, M. - RYDHMER, L. - ELIASSON, L. - EINARSSON, S. - ANDERSSON, K.: A study on primiparous sows on the ability to show standing oestrus and to ovulate after weaning. Influence of loss of body weight and backfat during lactation and of litter size, litter weight gain and season. *Acta Vet. Scand.*, 31, 1990: 227-236.
- SVENDSEN, J. - BILLE, N.: Reducing preweaning mortality. In: *Diseases of swine*. 5th ed. Ames 1981: 729-736.
- SVENDSEN, J. - SVENDSEN, L. S. - BENGTSOON, A.-C.: Reducing perinatal mortality. In: *Diseases of swine*. 6th ed. Ames 1986: 813-825.
- SVENDSEN, J. - WESTROM, B. R. - SVENDSEN, L. S. - BENGTSOON, A. C. - OHLSSON, B. - KARLSSON, B. W.: Some blood serum characteristics of newborn, unaffected pigs and of pigs dying within the perinatal period: Stillborn intrapartum pigs, weakborn pigs, underweight pigs and traumatized pigs. In: *Swine in biomedical research*. New York, 1986: 1277-1288.
- TAKÁCS, T.: A fialás körüli malaszvesztések alakulása szakosított setréstelepen. *Mag. Állatorv. Lapja*, 35, 1980: 680-682.
- VAILLANCOURT, J.-P. - DIAL, G. D. - MARSH, W. E. - TUBBS, R. C.: Enzootic mortality among piglets between birth and weaning. *Compend. Cont. Educ. Pract. Vet.*, 13, 1991: 1642-1650.
- VOLOCHOV, A. A.: Development of unconditioned and conditioned reflexes in ontogenesis. In: XXI. international congress of physiological sciences. Buenos Aires, 1959.
- WHATSON, T. S. - BERTRAM, J. M.: A comparison of incomplete nursing in the sow in two environments. *Anim. Prod.*, 30, 1980: 105-114.
- WHITTEMORE, C. T. - FRASER, D.: The nursing and suckling behaviour of pigs. II. Vocalization of the sow in relation to suckling behaviour and milk ejection. *Brit. Vet. J.*, 130, 1974: 346-356.
- WIDDOWSON, E. M.: Intra-uterine growth retardation in the pig. I. Organ size and cellular development at birth and after growth to maturity. *Biol. Neonate*, 19, 1971: 329.
- WILLIAMS, E. - SCOTT, J. P.: The development of social behavior patterns in the mouse, in relation to natural periods. *Behaviour*, 6, 1953: 35-64.
- WILLIAMS, P. P.: Immunomodulating effects of intestinal absorbed maternal colostral leukocytes by neonatal pigs. *Can. J. Vet. Res.*, 57, 1993: 1-8.

Došlo 9. 12. 1993

Sows and piglets - nutrition interactions.

Nutrition energy transfer from sows to piglets is unusually intensive in the suckling period. Due to this transfer, the sows increase their relative standard energy metabolism up to four times, that means to the boundary of the long-term sustainable maximum. They cannot cover these large energy outputs by feed intake, therefore they are catabolizing their own body tissues during suckling and lose about 15 % of their live weight. Through milk, which is an energy-rich high-fat diet, up to 1.76 MJ/kg and day of energy (in the first week) are transferred to piglets, and/or up to 2.26 MJ/kg^{0.75} and day of energy (in the second week), which enables them to double their live weight at birth within the first 7 to 10 days. Milk transfer is of behavioral character in the system dam and litter. In a short time, it assumes a form of cyclic, collective synchronized suckling which is repeated more than twenty times a day and consists of several phases.

But the piglets are able to feed not only on genuine milk but also from other sources from the second week of life. Then their weaning begins. They enter from the suckling period to a long, several-week period of weaning, in which some of their functional characteristics are changed fluently, others in a cascade manner. Proper, and to all participants adequate development of this transfer is depending on numerous circumstance which need not always be real. One of the reasons is that birth is such a large load for piglets that they cannot be competitive partners to their less loaded mates in the competition for sources of nutrition. Their participation in the unusually intensive, episodic, delicate transfer of nutrients conditioned by many factors is insufficient, full of failures. Hence they do not sufficiently utilize their growth potential, and do not often survive. Nevertheless, they are so functionally adaptable so that they can live without mothers, in isolation, being able to drink a liquid diet.

Contact Address:

Prof. MVDr. Antonín Holub, DrSc., Koliště 9, 602 00 Brno, Czech Republic
Tel. 05 45211415

PLÍSEŇ PYLOVÁ (*BETTSIA ALVEI* (BETTS) SKOU, 1972), JEJÍ BIOLOGIE A TLUMENÍ

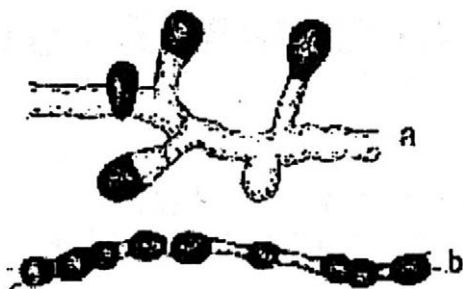
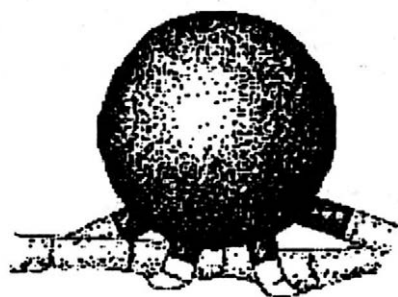
Při první jarní prohlídce včelstev včelař často objeví na okrajových plástech bělavou plíseň, která pokrývá buňky s pylem. Způsobuje ji houba *Bettsia alvei*, velmi blízce příbuzná houbám, vyvolávajícím zvápenatění včelího plodu. Pyl v buňkách je často tak prorostlý hyfami plísně, že může být snadno zaměněn za zvápenatělou včelí larvu, zvláště v období, kdy včely začínou buňky s plísní čistit a částičky bělavých povlaků vynášejí před úl nebo jen na česno.

Plíseň pylovou poprvé popsala v roce 1912 britská výzkumnice Anna Bettsová. Pojmenovala ji *Pericystis alvei*. O rok později popsal podobnou houbu, která způsobovala zvápenatění včelího plodu, M a a s e n (1913). Popsané houbě dal jméno *Pericystis apis*. Bettsová porovnávala morfologicky obě houby a zjistila, že se jedná o dva zcela odlišné druhy. Lišily se především v požadavcích na teplo a vlhkost. Zatímco *P. apis* bují při teplotě od 30 do 36 °C a má nárok na vysokou vlhkost, je houba *P. alvei* méně náročná. Roste za nižších teplot, již od 18 °C, je rovněž vlhkomilná, ale postačí ji pokojová vlhkost.

V druhé polovině dvacátých let popsal B u r n s i d e (1927) novou houbu z pylu a pojmenoval ji *Ovularia farinaecola*. Později porovnal obě houby morfologicky a uznal prvenství Bettsové, své pojmenování odvolal. M a u r i z i o (1929, 1935) podrobnými studiemi hub rodu *Pericystis* kromě plísně pylové odlišila i dvě formy u *P. apis* - formu *minor* a formu *maior*. Pozorovala, že v tvorbě plodnic se nápadně liší. Její výborná pozorování potvrdili později P r ö k s c h l (1953). S p i l t o i r a O l i v e (1955) taxonomicky celou čeleď *Pericystis* přehodnotili a dali ji nové jméno *Ascosphaeraceae*. Jméno *Pericystis* bylo již dříve použito v pojmenování řas. S k o u (1972) objevil další druhy *Ascosphaerales* u včel samotářek a vyčlenil plíseň pylovou do samostatného rodu *Bettsia* s jediným, dosud známým druhem *B. alvei* (Betts) Skou.

POPIS

B. alvei je pohlavně rozlišenou houbou dvoutvarou, s přehrádkovaným myceliem. Samčí mycelium tvoří vstříčné papily, samičí tvoří ascogonia s několika trichogyny a nutriocyty. Ascogonní nutriocyt roste a tvoří askomata, což jsou vlastně cysty. Jsou různého tvaru - vejcovitá až kulovitá nebo dokonce až hruškovitá. Mladé cysty obsahují uprostřed nahloučená protoplazmatická tělíska, která volně opustí kulovité spory, aniž by vytvářela kulovité shluky. Hyfy se šíří plazivě nebo vztyčují a často tvoří chlamy-



1. Vřecko *B. alvei* (zv. 240x) a chlamydospory *B. alvei* (zv. 580x); a = ve fázi růstu, b = počáteční stadium (B e t t s , 1912)

dospory (obr.1). Houbová vlákna měří 2 - 6 μm , chlamydospory jsou 4,5 - 7 x 4,5 - 9 μm velké. Sporocysty jsou velké 20 - 30 x 20 - 40 μm , spory 3,4 - 4,7 μm .

ETIOLOGIE

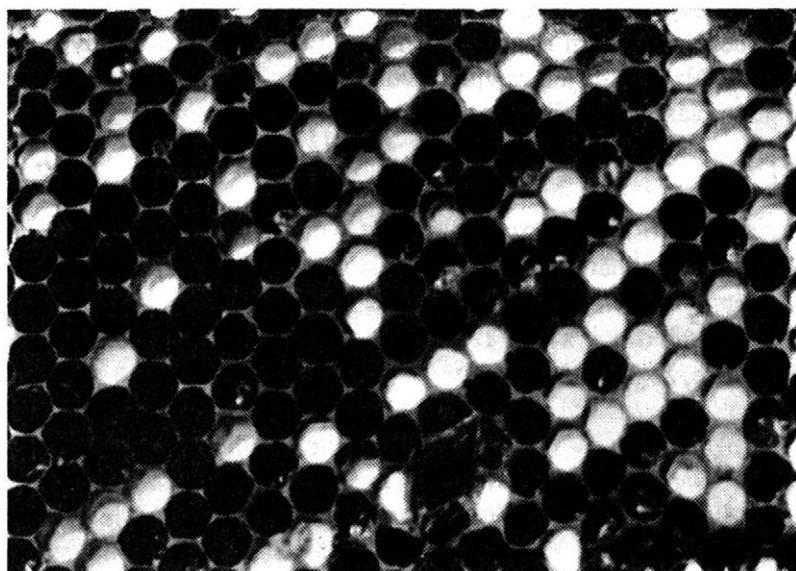
Plíseň pylová se objevuje v úlech v předjaří nebo časně z jara. Roste na povrchu pylu v buňkách, často jej velmi silně prorůstá. Ještě častější je její výskyt na plátech s pylem, uskladněných mimo úl. Včelaři ji odedávna říkají „plíseň pylová“ (obr.2)

Pyl napadený touto saprofytickou houbou včely již nekonzumují, bývá zcela znehodnocen. Škody jsou o to citlivější, že plíseň se vyskytuje nejvíce v předjaří, kdy je velká spotřeba pylu ve včelstvech a v přírodě je ho ještě nedostatek. Je zajímavé, že v buňkách s pylem, na jehož povrchu včely vytvořily lesklou ochrannou vrstvičku, se plíseň pylová nevyvine.

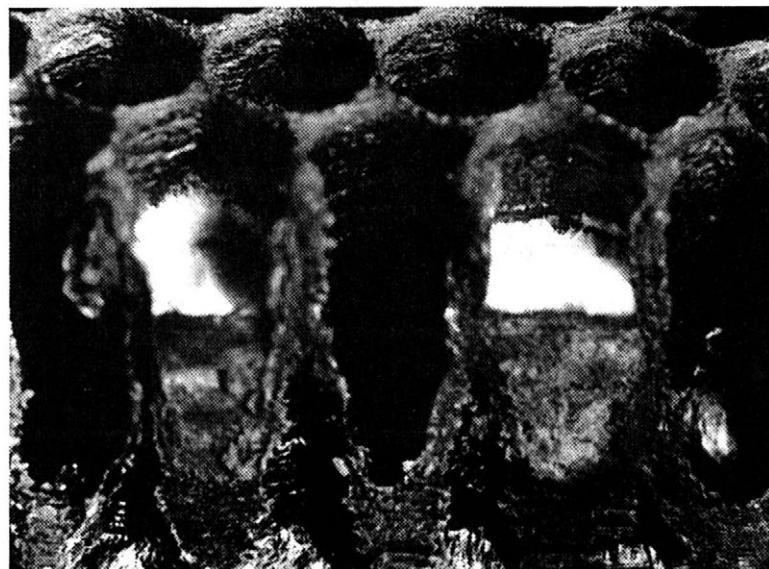
Spory plísně pylové jsou velmi odolné, přetrvávají v úlech i při zvýšené letní teplotě. Klíčí za 5 dní při teplotě 16 - 18 °C, při pokojové teplotě plíseň pylová nevyklíčí a neroste. Bylo zjištěno, že rojící se včelstvo přenáší spory plísně pylové s sebou. Podhoubí, které rychle proroste všechen pyl v buňce, mění jej v kaménkovitý útvar, zaplňující celou buňku. Prorostlá masa zpravidla ztmavne, protože na jejím povrchu jsou tisíce cyst, plných spór (obr.3). Zkamenělou masu včely nedovedou z buněk odstranit, je to nad jejich síly a ta se stává zdrojem trvalé nákazy.

OCHRANA

Saprofytická plíseň pylová je v latentním stavu v každém úle a je jen na včelaři, kdy vytvoří podmínky pro její růst a rozmnožování. Škody, které způsobuje jsou citelné především v jarním období, kdy znehodnotí přechovávané zásoby pylu. Plásty s pylem chráníme před plísní pylovou uskladněním v suchém prostředí, případně v prostředí s vyšší teplotou, aspoň pokojovou nad 20 °C. Uvádí se, že proti této plísni je účinné šíření. Velmi spolehlivou metodou je zasypání pylových buněk v plástu práškovým cukrem před uskladněním. Pohlcuje vlhkost a zabraňuje osmoticky růstu plísně. Někte-



2. Celkový pohled na napadený plást plísň pylovou



3. Pohled na jednotlivé buňky s pylem napadené plísň pylovou

ré chemické způsoby ochrany plástů proti zavíječům, používané především v zahraničí, znehodnocují pylové zásoby a proto se nedají použít.

Plásty se znehodnoceným pylem, prorostlým podhoubím plísně pylové, nedáváme vyčistit včelstvu. Navlhčí se jen ve vlažné vodě, potom je vypláchneme silným proudem vody. Vyčištěné plásty desinfikujeme 10% roztokem formalínu.

ROZŠÍŘENÍ

Plíseň pylová (*B. alvei*) je rozšířena všude v mírném pásmu, více ve vlhčích krajích než v sušších. Je známa i z Nového Zélandu. V České republice se vyskytuje od nížin až do horských poloh. Její výskyt je však omezen jen na pylové plásty včely medonosné (S v o b o d a a kol., 1968). Její ekonomická škodlivost nebyla vyčíslena, ale předpokládá se, že je značná.

L i t e r a t u r a

BETTS, A. D.: A bee hive fungus, *Pericystis alvei*, gen. et spec. nov. Ann. Bot., 26, 1912: 795-799.

BURNSIDE, C. E.: Saprophytic fungi associated with the honey bee. Papers of the Michigan Academy of Science, Arts and Letters, 8, 1927: 59-86.

MAASEN, A.: Weitere Mitteilungen über die seuchenhaften Brutkrankheiten der Bienen. Mitt. Kais. Biol. Anst. Land- und Forstwirtschaft., 2, 1913: 30-31.

MAURIZIO, A.: On *Pericystis alvei* Betts. Bee Wld, 10, 1929: 91-92.

MAURIZIO, A.: Beiträge zur Kenntnis der Pilzflora im Bienenstock. Ber. Schweiz. Bot. Gesell., 44, 1935: 44-46.

PRÖKSCHL, H.: Beiträge zur Kenntnis der Entwicklungsgeschichte von *Pericystis apis* Maasen. Arch. Mikrobiol., 18, 1953: 198-209.

SKOU J. P.: *Acosphaerales*. Friesia, 10, 1972: 1-24.

SPILTOIR, C. F. - OLIVE, L. S.: Reclasification of the genus *Pericystis* Betts. Mycologia, 47, 1955: 238-244.

SVOBODA, J. - HARAGSIMOVÁ, L. - HANKO, O. - HARAGSIM, O.: Nemoci a škůdci včely medonosné. 1968, SZN Praha, s. 175-177.

Ludmila H a r a g s i m o v á, CSc., ing. Oldřich H a r a g s i m, CSc.,
Vinohradská 44, 120 00 Praha 2

NEKROLOG

Prof. MVDr. JOZEF ARENDARČIK, DrSc. 1922 - 1993

S hlbokým zármutkom sme prijali smutnú správu, že spoluzakladateľ Slovenskej veterinárnej fyziológie a bývalý vedúci Katedry porovnávacej fyziológie UVL v Košiciach Prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc. nás navždy opustil dňa 8. decembra 1993 po krátkej a ťažkej chorobe.

Prof. Arendarčík sa narodil 23. apríla 1922 v Batizovciach okres Poprad, základnú školu a Slovenské štátne reálne gymnázium absolvoval v Spišskej Novej Vsi. Vysokoškolské štúdium absolvoval na Vysokej škole zverolekárskej vo Viedni, štátne rigorózne skúšky ako aj dizertačnú prácu vykonal na VŠZ v Brne v roku 1946. Po skončení vojenskej prezenčnej služby pracoval na Povereníctve poľnohospodárstva a pozemkovej reformy A IV, Veterinársky odbor v Bratislave v rokoch 1946 - 1947. Bol medzi prvými, ktorý vykonával umelú insemináciu kobýl a oviec. Od roku 1947 do roku 1954 vykonával veterinárnu službu ako okresný zverolekár.

Na základe konkurzného riadenia bol prijatý na VF VŠP v Košiciach, kde od augusta 1954 do roku 1957 bol vedúcim Ústavu fyziológie, od roku 1957 do roku 1980 vedúcim Katedry porovnávacej fyziológie a od roku 1980 do roku 1987 vedúcim Oddelenia fyziológie. V roku 1987 odchádza do dôchodku a pracuje na oddelení do roku 1990 ako profesor konzultant vo výskume.

Počas pôsobenia sa Prof. Arendarčík významnou mierou zaslúžil o vybudovanie modernej Katedry porovnávacej fyziológie na VŠV v Košiciach. Svoje bohaté odborné skúsenosti z vojenskej a civilnej veterinárskej praxe, ako aj zo zahraničných vedeckých pobytov vo Viedni, Kodani a Stockholme (1965), Krakove a Varšave (1976), na Kube (1973) ako aj z vedeckých kongresov doma aj v zahraničí - Moskva (1979), Budapešť (1971), Weimar (1969, 1971), Krakov (1976), New Delhi (1974), Madrid (1979), Utrecht (1969), využíval v pedagogii a pri vypracovaní knižných publikácií a dočasných učebných textov pre výuku fyziológie ako aj pre vedecko-výskumnú prácu.

Vychoval viacerých kandidátov veterinárnych vied (14) a desiatky študentských vedeckých síl. Bol spoluautorom celoštátnych učebníc: Fyziologie hospodárskych zvierat (1969) a Učebnica veterinárnej medicíny pre farmaceutov (1974). Pravidelne v päťročných intervaloch vypracovával skriptá pre potreby teoretickej a praktickej veterinárnej fyziológie. Bol autorom a spoluautorom vyše 190 vedeckých publikácií a svoje odborné vedomosti využíval aj vo funkcii výkonného redaktora vedeckého časopisu Folia veterinaria Casoviensis (1964 - 1980).

Bol zodpovedným riešiteľom výskumných úloh na katedre a koordinátorom hlavnej úlohy (1970 - 1990) „Reprodukcia hospodárskych zvierat“.

V rámci expertíznej činnosti v marci 1973 sa zúčastnil ako člen odbornej expertnej delegácie v Havane a v rokoch 1975 - 1977 pôsobil na Veterinárskej fakulte Makerere univerzity v Kampale v Ugande, ako externý examinátor z fyziológie.

Vo vedecko - výskumnej oblasti dosiahol významné úspechy doma i v zahraničí pri určovaní a využití hemokoagulačných faktorov, hepatalných testov u hospodárskych zvierat. Dlhší čas výskumnej činnosti (1961 - 1990) venoval fyziológii reprodukcie hospodárskych zvierat. V tejto oblasti vykonal záslužnú prácu, hlavne štúdiom gonadotropných hormónov, za čo mu bola udelená cena Slovenskej endokrinologickej spoločnosti (1971). Vysoko bola ocenená aj jeho práca v oblasti žiarenia: Vplyv ionizujúceho žiarenia na reprodukčné schopnosti zvierat.

Prof. Arendarčík bol vo vedeckých a pedagogických kruhoch uznávaný ako významný predstaviteľ v odbore porovnávacej fyziológie a zakladateľ veterinárnej endokrinológie na Slovensku. Bol členom výboru Slovenskej fyziologickej spoločnosti a Slovenskej endokrinologickej spoločnosti v Bratislave.

Prácu Prof. Arendarčíka ocenili viaceré inštitúcie a spoločenské organizácie. Obdržal zlatú a striebornú medailu Slovenskej lekárskej spoločnosti „Propter merita“ (1987 a 1992), zlatú medailu VŠV Košice (1987), diplom čestného člena Československej fyziologickej spoločnosti Praha (1991).

Prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc. utváral históriu Univerzity veterinárskeho lekárstva v Košiciach a stal jej súčasťou.

Češť jeho svetlej pamiatke!

*Kolektív
Katedry porovnávacej fyziológie*

INFORMACE

z pracovišť veterinárního výzkumu

a o činnosti Odboru veterinárního lékařství ČAZV

INFORMACE Z VÝZKUMNÉHO ÚSTAVU VETERINÁRNÍHO LÉKAŘSTVÍ V BRNĚ

Dne 30. 11.1993 se uskutečnilo ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně oponentní řízení několika výzkumných zpráv resortních úkolů, řešených na tomto pracovišti podle požadavku MZe České republiky.

Jednání, kterému předsedal prof. MVDr. K. H r u š k a , CSc., byli vedle přímých účastníků oponentního řízení přítomni také další zástupci SVS ČR, SVÚ (Praha, Brno, Jihlava) a OVS. Účast přijali také pracovníci SVS Slovenské republiky a Ústavu experimentální veterinární medicíny v Košicích.

Bylo prezentováno šest dílčích a jedna závěrečná výzkumná zpráva. Živá polemika, která se vždy k danému tématu v diskusní části rozvinula, potvrdila aktuálnost zvolených úkolů.

Úspěšné vyřešení výzkumných úkolů umožnilo:

- zavést metodu kultivace viru PEDV na buněčných kulturách s možností využití v diagnostické praxi
- vyvinout ELISA soupravu k diagnostice protilátek proti viru Aujeszkyho choroby v mase prasat a zahájit její ověřování v SVÚ Jihlava
- vytvořit standardizovanou metodu nepřímého ELISA testu pro sérologickou diagnostiku salmonelózy drůbeže a pro ověření v SVÚ připravit diagnostickou soupravu ELISA k průkazu protilátek *S. enteritidis* a *S. typhimurium* v krevním séru drůbeže
- rozšířit soubor semikvantitativních testů o možnost diagnostiky metabolických poruch u telat (stanovením imunoglobulinů v krevním séru, dusičnanů v mléce a močoviny v moči) a uspořádat je do soupravy chemikálií a pomůcek ANIM-MET
- zhodnotit ekotoxikologická sledování prováděná v okrese Hodonín v deseti předcházejících letech a vytipovat lokality s největším nebezpečím ohrožení potravního řetězce
- vypracovat a ověřit metody stanovení pěti esterů kyseliny ftalové, řazených mezi prioritní polutanty životního prostředí, ve vodě a sedimentech
- vypracovat metodický postup stanovení Sr-90 v půdě, vodě, rostlinách, vzorcích živočišného původu a potravinách a provedení radiometrické analýzy vzorků půd odebraných v rámci základního monitoringu zemědělských půd ČR.

Výzkumné zprávy jsou odborné veřejnosti k dispozici v knihovně VÚVeL Brno.

MVDr. Soňa Š l o s á r k o v á

SEMINÁŘ K ANDROLOGICKÉ DIAGNOSTICE U KANCŮ

Veterinární andrologie má důležité postavení při zajišťování zdravého a rentabilního chovu hospodářských zvířat.

V rozbořech příčin vyřazování plemenků z inseminace představují vysoké procento poruchy spermiogenetické funkce varlat. To spolu s výraznou pestrostí zjišťovaných změn vede odborníky k intenzivnímu hledání možností včasné diagnostiky nejčastěji se vyskytujících patologických stavů. V mnoha případech však nejde pouze o dočasné poruchy ovlivňující kvalitu spermiogenetické činnosti pohlavních orgánů, ale o funkční insuficienci varlat - hypogonadismus. Vzhledem k rozvoji umělé inseminace a stále vyšší exploataci plemenků je hypogonadismus ve veterinární andrologii zvláště závažným problémem. Proto je potřeba stanovit takové ukazatele posuzování pleménka a jeho ejakulátu, aby jako chovní samci byli vybíráni pouze ti jedinci, kteří zaručují vyrovnanou úroveň pohlavních funkcí.

Referenční laboratoř SVS pro spermatologii a andrologii VÚVeL Brno ve spolupráci se společností VETEDUCA s. r. o. a odborem veterinárního lékařství České akademie zemědělských věd uspořádala 10. - 11. 12. 1993 na VÚVeL v Brně metodický seminář, věnovaný andrologické diagnostice u kanců. Jednalo se již o druhou akci pořádanou v letošním roce touto referenční laboratoří. První seminář, týkající se andrologie plemenných býků, se uskutečnil v Pardubicích.

Odborný garant semináře doc. MVDr. Zdeněk Věžík, DrSc. společně s ing. Drahomírou Švecovou zajistili pro všechny pracovníky, přicházející s problematikou veterinární andrologie profesionálně do styku, teoretickou a praktickou výuku komplexně zaměřenou na práci v andrologii. Byla přednesena přehledná morfologie pohlavních orgánů kance a zdůrazněno klinické vyšetření vnějších pohlavních orgánů, podávající základní informace o jejich fyziologickém vývinu a současném stavu. Byla popsána technika dokonalého postmortálního vyšetření, která umožňuje v daném chovu odhalit probíhající patologické změny v organismu samců a tím snadněji diagnostikovat zdravotní poruchy plemenků. Posluchačům byly poskytnuty základní údaje o spermiogenezi a předneseny metody k hodnocení kvalitativní úrovně ejakulátu. Pro funkční rutinní vyšetření ejakulátu bylo doporučeno sledovat, kromě stanovení objemu semene a koncentrace spermií, ve 120minutovém testu přežitelnosti změny v pohyblivosti spermií, v rychlosti pohybu spermií, v procentuálním zastoupení mrtvých spermií, v aktivitě endogenní redukce mitochondrií a v cytomorfologickém obraze spermií. Zmíněna byla i možnost separace mrtvých a abnormálních spermií filtrací ejakulátu kolonami Sephadexu.

V závěru odborného semináře zazněly opakovaně požadavky na opakování kurzu a na uspořádání dalších odborných seminářů, týkajících se andrologické diagnostiky u ostatních druhů hospodářských zvířat. Velký zájem téměř padesáti účastníků z řad veterinárních lékařů, techniků a ostatních specialistů dokumentoval aktuálnost zvolené problematiky a byl oceněním přednášejících i organizátorů.

MVDr. Soňa Šlosárková

GRANTOVÁ AGENTURA ČESKÉ REPUBLIKY

Grantová agentura České republiky (GA ČR), zřízená vládou ČR podle zákona ČNR č. 300/1992 Sb. o státní podpoře vědecké činnosti a vývoje technologií, poskytuje na základě výsledků veřejné soutěže granty ze samostatné kapitoly státního rozpočtu. Je nezbytnou součástí systému republikové koordinace financování vědy a vývoje technologií a je tvořena – předsednictvem GA ČR, které uděluje granty na základě návrhů oborových komisí GA ČR

- dozorčí radou GA ČR, plnící funkci kontrolního orgánu GA ČR
- oborovými komisemi, které organizují posouzení grantových přihlášek nezávislými hodnotiteli a navrhuji předsednictvu udělení grantu
- kancelář Grantové agentury, která zajišťuje činnost po organizační stránce.

V roce 1993 začala GA České republiky vydávat vlastní časopis s názvem BULLETIN GRANTOVÉ AGENTURY ČR, vycházející čtyřikrát ročně, který podává žadatelům grantů veškeré informace o jejich možnostech a povinnostech a zároveň přináší zprávy o činnosti Grantové agentury ČR.

V Bulletinu lze mimo jiné nalézt praktické rady jak správně grantovou přihlášku vypracovat, prostřednictvím časopisu je možné se seznámit s průběhem kontrolního řízení pro udělení granty a s pokyny pro vypracování dílčí zprávy o řešení grantového projektu.

Ve čtyřech číslech prvního ročníku jsou uveřejněny rámcové výsledky grantové soutěže vyhlášené v roce 1993 pro grantové projekty na léta 1993 až 1995 a přehled přihlášek v soutěži na projekty, jejichž řešení má být zahájeno v roce 1994. Číslo 3 tohoto časopisu pak obsahuje konkrétní a úplný seznam počtu podaných a udělených grantových přihlášek v jednotlivých sekcích a konečný seznam udělených grantů v roce 1993.

Časopis pravidelně přináší informace z jednání předsednictva GA ČR a uveřejňuje také ohlasy činnosti GA v domácím tisku. Mezi zajímavé kapitoly časopisu patří bezesporu ta, která odborné veřejnosti představuje jiné grantové agentury působící v ČR i v zahraničí. Ve čtvrtém čísle byly uveřejněny zprávy o Grantové agentuře Akademie věd ČR a o Programu péče o životní prostředí MZP ČR, ze zahraničních byly představeny NIH - The National Institutes of Health a FWF - Fonds zur Förderung der Wissenschaftlichen Forschung.

Na stránkách časopisu je vyhrazeno místo pro připomínky a náměty čtenářů. V této diskusní rubrice byla publikována různá stanoviska k otázce, do jaké míry má GA ČR podporovat aplikovaný výzkum v porovnání s výzkumem základním, objevily se připomínky k hodnocení grantových projektů, byla diskutována pozice oboru společenských věd v komplexu členění GA ČR.

Bulletin Grantové agentury ČR by se měl stát spojovacím článkem mezi Grantovou agenturou ČR a vědeckou obcí, mající zájem o další rozvoj vědy a technologií. Uvedený čtvrtletník bychom měli nalézt v knihovně každého vědeckého pracoviště. Objednávky k jeho odběru lze zaslat na adresu: Dupress, Podolská 110, 147 00 Praha 4. Roční předplatné činí 60,- Kč.

MVDr. Soňa Šlosárková



ADEKO a. s. Vám nabízí

- ☐ **FINANČNÍ LEASING**
- ☐ **ZPROSTŘEDKOVATELSKOU OBCHODNÍ
ČINNOST**
- ☐ **PORADENSTVÍ V OBLASTI PODNIKÁNÍ,
FINANCOVÁNÍ A ORGANIZACE**

**ADEKO a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2**

tel.: 258 342 fax: 207 229



OBSAH – CONTENTS

Beseda I., Váľka J., Králiková J., Sokol J., Valent M., Kováčik J., Kubinec J.: Evaluation of acid-base disorders in dairy cows using principal component analysis and empiric equations – Hodnotenie acidobázických porúch dojníc pomocou analýzy hlavných komponentov a empirických rovníc.....	59
Bírešová M., Nad' P., Bíreš J., Rosival I.: Dynamika tvorby špecifických protilátok u oviec počas príjmu priemyselného substrátu z hliníkárne – The dynamics of specific antibody production in sheep fed an industrial substrate from an aluminium plant.	67
Heinová D., Blahovec J.: Izoenzýmy laktátdehydrogenázy v cicavčích a kuracích sérach – Lactate dehydrogenase isoenzymes in serum of mammalian and avian origin	75
Kožurková M., Haková H., Mišúrová E.: Vplyv hepatoprotektívnej látky - silymarínu na históny v pečeni ožiarených potkanov – The effect of silymarin - a hepatoprotective substance on histones in the liver of irradiated rats	85
Hořejš R., Koudela B.: Giardióza psů v chovné stanici – Giardiasis of dogs at a breeding station	93
Kočišová J.: Vplyv bezváhového stavu na embryonálny vývoj priečne-pruhovanej svaloviny u japonských prepelíc – The effect of gravitationless state on embryonal development of striated muscles in Japanese quail.....	103
Rychlík I., Kubíček O., Holčák V., Bárta J., Pavlík I.: DNA fingerprinting in Falconidae – DNA fingerprinting u sokolovitých dravců.	111

PŘEHLEDY

Holub A.: Prasnice a selata - nutriční interakce – Sows and piglets - nutrition interactions	117
--	-----

INFORMACE - STUDIE - SDĚLENÍ

Haragsimová L., Haragsim O.: Plíseň pylová (<i>Betisia alvei</i> (Betts) Skou, 1972), její biologie a tlumení	133
--	-----

NEKROLOG

Kolektív: Prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc.....	137
---	-----

INFORMACE

Šlosárková S.: Informace z Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně	139
Šlosárková S.: Seminář k andrologické diagnostice u kanců	140
Šlosárková S.: Grantová agentura České republiky.....	141



UPOZORNĚNÍ PRO ODBĚRATELE

Od letošního roku vyřizuje veškeré služby spojené s distribucí časopisu Veterinární medicína vydavatel - Ústav zemědělských a potravinářských informací Praha.

Objednávky na předplatné posílejte na adresu:

Ústav zemědělských a potravinářských informací
referát odbytu
Slezská 7
120 56 Praha 2

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA ● Vydává Česká akademie zemědělských věd a Slovenská akadémia pôdohospodárskych vied - Ústav zemědělských a potravinářských informací ● Vychází měsíčně ● Redaktorka: ing. Zdenka Radošová ● Redakce Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/257541 ● Sazba: Studio DOMINO - ing. Jakub Černý ● Popovice 144, 267 01 Králův Dvůr, tel.: 0311/22959 ● Tisk: ÚZPI Praha ● © Ústav zemědělských a potravinářských informací, Praha 1994

Rozšiřuje Ústav zemědělských a potravinářských informací, referát odbytu, Slezská 7, 120 56 Praha