

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

*Czech Journal of*  
**ANIMAL SCIENCE**

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

**4**

VOLUME 44  
PRAGUE  
APRIL 1999  
ISSN 1212-1819

An international journal published under the authorization by the Ministry of Agriculture and under the direction of the Czech Academy of Agricultural Sciences

Mezinárodní vědecký časopis vydávaný z pověření Ministerstva zemědělství České republiky a pod gescí České akademie zemědělských věd

## EDITORIAL BOARD – REDAKČNÍ RADA

### Chairman – Předseda

Ing. Vít Prokop, DrSc. (Výzkumný ústav výživy zvířat, s. r. o., Pohořelice, ČR)

### Members – Členové

Prof. Ing. Jozef Bulla, DrSc. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

Doc. Ing. Josef Čerňovský, DrSc. (Výzkumný ústav živočišné výroby Praha, pracoviště Kostelec nad Orlicí, ČR)

Prof. Dr. hab. Andrzej Filistowicz (Akademia rolnicza, Wroclaw, Polska)

Ing. Ján S. Gavora, DrSc. (Centre for Food and Animal Research, Ottawa, Ontario, Canada)

Dr. Alfons Gottschalk (Bayerische Landesanstalt für Tierzucht, Grub, BRD)

Ing. Július Chudý, CSc. (Slovenská poľnohospodárska univerzita, Nitra, SR)

Dr. Ing. Michael Ivan, DSc. (Lethbridge Research Centre, Lethbridge, Alberta, Canada)

Prof. Ing. MVDr. Pavel Jelínek, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

Ing. Jan Kouřil (Výzkumný ústav rybářský a hydrobiologický Jihočeské univerzity, Vodňany, ČR)

Prof. Ing. František Louča, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

Prof. Ing. Josef Mácha, DrSc. (Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Brno, ČR)

RNDr. Milan Margetin, CSc. (VÚŽV Nitra, Stanica chovu a šľachtenia oviec a kôz, Trenčín, SR)

Dr. Paul Millar (BRITBREED, Edinburgh, Scotland, Great Britain)

Ing. Ján Poltársky, DrSc. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

Doc. Ing. Jan Říha, DrSc. (Výzkumný ústav pro chov skotu, s. r. o., Rapotín, ČR)

Ing. Antonín Stratil, DrSc. (Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Liběchov, ČR)

Ing. Pavel Trefil, CSc. (BIOPHARM, Výzkumný ústav biofarmacie a veterinárních léčiv, a. s., Pohoří-Chotouň, ČR)

### Editor-in-Chief – Vedoucí redaktorka

Ing. Marie Černá, CSc.

**Aims and scope:** The journal publishes scientific papers and reviews dealing with the study of genetics and breeding, physiology, reproduction, nutrition and feeds, technology, ethology and economics of cattle, pig, sheep, goat, poultry, fish and other farm animal management.

The journal is cited in the bibliographical journal *Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences* and abstracted in *Animal Breeding Abstracts*. Abstracts from the journal are comprised in the databases: *Agris*, *CAB Abstracts*, *Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences*, *Czech Agricultural Bibliography*, *Toxline Plus*, *WLAS*.

**Periodicity:** The journal is published monthly (12 issues per year), Volume 44 appearing in 1999.

**Acceptance of manuscripts:** Two copies of manuscript should be addressed to: Ing. Marie Černá, CSc., editor-in-chief, Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz.

**Subscription information:** Subscription orders can be entered only by calendar year (January–December) and should be sent to: Institute of Agricultural and Food Information, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Subscription price for 1999 is 195 USD (Europe), 214 USD (overseas).

**Cíl a odborná náplň:** Časopis publikuje původní vědecké práce a studie typu review z oblasti genetiky, šlechtění, fyziologie, reprodukce, výživy a krmení, technologie, etologie a ekonomiky chovu skotu, prasat, ovcí, koz, drůbeže, ryb a dalších druhů hospodářských zvířat.

Časopis je citován v bibliografickém časopise *Current Contents – Agriculture, Biology and Environmental Sciences* a v časopise *Animal Breeding Abstracts*. Abstrakty z časopisu jsou zahrnuty v těchto databázích: *Agris*, *CAB Abstracts*, *Current Contents on Diskette – Agriculture, Biology and Environmental Sciences*, *Czech Agricultural Bibliography*, *Toxline Plus*, *WLAS*.

**Periodicita:** Časopis vychází měsíčně (12x ročně), ročník 44 vychází v roce 1999.

**Přijímání rukopisů:** Rukopisy ve dvou vyhotoveních je třeba zaslat na adresu redakce: Ing. Marie Černá, CSc., vedoucí redaktorka, Ústav zemědělských a potravinářských informací, Slezská 7, 120 56 Praha 2, Česká republika, tel.: 02/24 25 34 89, fax: 02/24 25 39 38, e-mail: editor@login.cz.

**Informace o předplatném:** Objednávky na předplatné jsou přijímány pouze na celý rok (leden–prosinec) a měly by být zaslány na adresu: Ústav zemědělských a potravinářských informací, vydavatelské oddělení, Slezská 7, 120 56 Praha 2. Cena předplatného pro rok 1999 je 816 Kč.

# SIMULTANEOUS ESTIMATION OF THE COVARIANCE STRUCTURE OF FIELD AND STATION TEST TRAITS IN SLOVAKIAN PIG POPULATIONS

## SIMULTÁNNY ODHAD KOVARIANČNEJ ŠTRUKTÚRY UKAZOVATELOV MERANÝCH V POLNOM A STANIČNOM TESTE OŠÍPANÝCH NA SLOVENSKU

E. Groeneveld<sup>1</sup>, D. Peškovičová<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*Institute of Animal Science and Animal Behaviour Mariensee, FAL, Germany*

<sup>2</sup>*Research Institute of Animal Production, Nitra, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** The (co)variance matrices and genetic parameters for five production traits in pigs were estimated for breeds White Improved (WI) and White Meaty (WM) in Slovakia. The field test traits ultrasonic backfat (BFFT) and average daily gain (ADGFT) measured on boars and gilts at farms (1992–1995) and average daily gain at station (ADGST), percentage of valuable cuts (VC) and backfat thickness (BFST) measured at the stations during the period 1986–1995 were used in this analysis. A completely random animal model (except the fixed SEX effect) with different models for different traits was used to estimate 48 (co)variance components using VCE program separately for each breed. The heritabilities calculated as ratios of variance estimations were 0.33 (BFFT), 0.13 (ADGFT), 0.23 (ADGST), 0.50 (VC), 0.39 (BFST) for WI breed and 0.26 (BFFT), 0.16 (ADGFT), 0.19 (ADGST), 0.43 (VC), 0.28 (BFST) for the smaller breed WM. The genetic correlations between daily gain at field and station were 0.42 and 0.67 for WI and WM breed and 0.53 and 0.49 for backfat at the field and station test. Rather high values (around 0.30) of variance ratios for herd x year x season for field test traits BFFT and ADGFT were found.

**Keywords:** pigs; field test; station test; covariance matrices; genetic parameters; REML

**ABSTRAKT:** Príspevok sa zaoberá odhadom (ko)variančných matíc a genetických parametrov pre päť produkčných znakov ošípaných plemien biele ušfachtilé (BU) a biele mäsové (BM) na Slovensku. Do analýzy boli zaradené dva ukazovatele merané v poľnom teste (tzv. test vlastnej úžitkovosti) v období 1992–1995 – hrúbka chrbtovej slaniny meraná ultrazvukom (BFFT) a priemerný denný prírastok (ADGFT), a tri produkčné ukazovatele merané v teste SVJH (1986–1995) – priemerný denný prírastok v teste (ADGST), percento cenných mäsových častí (VC) a hrúbka chrbtovej slaniny (BFST). Použitý bol päťznakový animal model s rôznymi štatistickými modelmi pre rôzne ukazovatele. Odhady 48 kovariančných komponentov boli robené pomocou programu VCE pre každé plemeno zvlášť. Odhady heritabilití pre sledované ukazovatele boli 0,33 (BFFT), 0,13 (ADGFT), 0,23 (ADGST), 0,50 (VC), 0,39 (BFST) pre plemeno BU a 0,26 (BFFT), 0,16 (ADGFT), 0,19 (ADGST), 0,43 (VC), 0,28 (BFST) pre menšie plemeno BM. Genetické korelácie medzi priemerným denným prírastkom v poľnom teste a teste SVJH boli 0,42 (BU) a 0,67 (BM), genetické korelácie medzi hrúbkou chrbtovej slaniny v poľnom teste a teste SVJH boli 0,53, resp. 0,49 pre BU, resp. BM. Spolu s nízkymi hodnotami heritability sme zistili pomerne vysoký podiel (hodnoty okolo 0,30) negenetických efektov chov x rok x sezóna na variabilitu znakov meraných v poľnom teste.

**Kľúčové slová:** ošípané; poľný test; staničný test; kovariančné matice; genetické parametre; REML

### INTRODUCTION

In animal breeding, selection of parents of the next generation is based on their predicted breeding value. Selection indices currently used for selection of pigs in Slovakia do not account for environmental effects such as herd, year and season and other non genetic effects. Best linear unbiased prediction (BLUP) in the framework of mixed model methodology using an animal model has been widely accepted for genetic evaluation.

BLUP requires the knowledge of the variance covariance matrices of the model. These are hardly ever known in practical situations and have to be estimated. For Slovak pig populations, only the genetic parameters from univariate ANOVA type analyses without relationship have been available before (Fľak *et al.*, 1990; Honko *et al.*, 1992).

The aim of this paper is to present the simultaneous estimates of covariance matrices and genetic parameters for traits measured under field test conditions at

farms and at the test stations for the most numerous pig breeds in Slovakia, White Improved (WI) and White Meaty (WM) using the multivariate Restricted Maximum Likelihood (REML) method. The statistical model and (co)variance matrices obtained will be used in genetic evaluation of pigs in Slovakia, which is currently being introduced.

## MATERIAL AND METHOD

### Data

Field and station test data were available from the computing center of the State Breeding Institute of the Slovak Republic. On farm field test data included ultrasonic backfat (BFFT) measurements on boars and gilts between 80–120 kg and 70–110 kg, respectively. Furthermore, the weight at the end of the field test (WOFFT) and the average daily gain (ADGFT) were recorded. Field test records from 1992 to 1995 were used in this analysis.

#### I. General statistics – WI breed

Trait	n	Min	Max	Avg	s
BFFT (cm)	12 773	0.67	2.67	1.41	0.26
ADGFT (g)	12 773	333.0	796.0	514.5	51.6
ADGST (g)	11 114	543.0	1373.0	850.6	108.1
VC (%)	11 114	35.73	61.03	48.07	3.03
BFST (cm)	11 114	1.00	4.00	2.33	0.38
WOFFT (kg)	12 773	70.00	130.00	102.61	10.90
WST (kg)	11 114	33.50	47.50	39.51	1.52

BFFT – ultrasonic backfat thickness measured in the field test, ADGFT – average daily gain in the field test, ADGST – average daily gain at station, VC – percentage of valuable cuts measured at station, BFST – backfat thickness at station test, WOFFT – weight at the end of field test, WST – weight of cold carcass side at station, Avg – average, s – standard deviation

#### III. Statistical model

Effect	Type of effect	Number of levels		BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
		WM	WI					
WOFFT	C	1	1	x	–	–	–	–
WST	C	1	1	–	–	–	–	x
Animal	A	9 789	31 471	x	x	x	x	x
SEX	F	3	3	x	x	x	x	x
Litter	R	4 163	13 350	x	x	x	x	x
hysft	R	515	1 457	x	x	–	–	–
stys	R	118	252	–	–	x	x	x

C – covariable, F – fixed effect, A – random genetic effect, R – random environmental effect, WOFFT – weight at the end of the field test (covariable), WST – weight of the cold carcass side (covariable), SEX – fixed effect of sex, animal – random effect of the animal, litter – random environmental litter effect, hysft – random herd x year x season effect of the field test, stys – random station x year x season of the station test

See Table I for explanation of the other symbols

The data sets from the test stations were collected during the period 1986–1995. Boars and gilts were tested at three stations, fed *ad libitum*. The test period was from 30 kg to 100 kg live weight. After slaughtering carcass data were recorded according to the State Breeding Institute protocol (Anonymous, 1992). The traits already used now in the selection index were also chosen for genetic analyses here. They are average daily gain in station test (ADGST), percentage of valuable cuts (VC), and backfat thickness in cm (BFST). Weight of the cold carcass side (WST) in kg was used as a covariable in the model for BFST. General statistics including number of data records, mean and standard deviations for all five traits and covariables included in the analysis are given in Table I and II for WI and WM respectively. The pedigree data sets contained 31,471 animals for WI and 9,789 for WM breed. Obviously, the field and station test records are mutually exclusive.

### Statistical model and methods

The five trait animal model with individual models for each trait was used for the estimation of the covariance matrices. The multivariate animal model and data

#### II. General statistics – WM breed

Trait	n	Min	Max	Avg	s
BFFT (cm)	3827	0.73	2.63	1.51	0.30
ADGFT (g)	3827	340.0	805.0	531.8	61.9
ADGST (g)	3231	560.0	1346.0	841.9	105.6
VC (%)	3231	38.71	57.21	47.34	2.80
BFST (cm)	3231	1.20	3.90	2.36	0.34
WOFFT (kg)	3827	80.00	130.00	101.44	12.05
WST (kg)	3231	35.00	44.00	39.38	1.42

See Table I for explanation of symbols

structure for both breeds is given in Table III, where C means the covariable, A – random genetic effect with additive relationship matrix, F – fixed effect, R – non genetic random environment effect. In matrix notation, the model can be presented in the following form:

$$y = X\beta + Z_h h + Z_s s + Z_l l + Z_a a + e$$

where expectation and covariance matrix can be written as follows:

$$\begin{pmatrix} y \\ e \\ h \\ s \\ l \\ a \end{pmatrix} \sim N \left( \begin{bmatrix} X\beta \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}, \begin{bmatrix} V & R & Z_h G_h & Z_s G_s & Z_l G_l & Z_a G_A \\ R & R & 0 & 0 & 0 & 0 \\ G_h Z_h' & 0 & G_h & 0 & 0 & 0 \\ G_s Z_s' & 0 & 0 & G_s & 0 & 0 \\ G_l Z_l' & 0 & 0 & 0 & G_l & 0 \\ G_A Z_a' & 0 & 0 & 0 & 0 & G_A \end{bmatrix} \right)$$

$$V = R + Z_h G_h Z_h' + Z_s G_s Z_s' + Z_a G_A Z_a'$$

$$R = \bigoplus_{j=1}^n R_{0ij}$$

$$G_h = I_h \otimes G_{h0}$$

$$G_s = I_s \otimes G_{s0}$$

$$G_l = I_l \otimes G_{l0}$$

$$G_A = A \otimes G_0$$

- where:  $y$  – vector of observation  
 $X, Z_h, Z_s, Z_l, Z_a$  – incidence matrix for fixed effects, hysft, stys, litter effects and animal effect  
 $\beta, h, s, a$  – vector of unknown parameters for above effects  
 $e$  – residual vector  
 $A$  – additive genetic relationship matrix  
 $R_0$  – residual covariance matrix between traits of order 5  
 $G_{s0}, G_{h0}, G_{l0}$  – covariance matrices for stys effect, hysft or litter  
 $G_0$  – matrix of additive genetic covariances between traits of order 5  
 $I_s, I_l, I_h$  – identical matrices of order equal number of levels in stys, litter or hysft  
 $\otimes, \oplus$  – Kronecker product and direct sum

The animal model for field test contained fixed effect of sex (*SEX*), random environmental litter effect (*litter*), random herd x year x season of the field test (*hysft*) effect and random additive genotype value of the animal (*animal*). As the ultrasonic back fat values are measured on animals from 70 to 120 kg weight, the covariable weight at the end of field test (*WOFFT*) was included in the model for this trait. Two month periods were used for coding the season effect in *hysft* (January, February, equal 1st season; March, April, as 2nd season etc.). The fixed effect of *SEX* (boars and gilts at field test and castrate and gilts in the station), the random effect of test station x year of test x bimonth season (*stys*), *litter* effect, additive genotypic value – the ran-

dom effect of *animal* with additive relationship matrix were included in the linear mixed models for average daily gain on test and valuable cuts. Fixed effects common to all traits and covariable *WST* were used in models for back fat thickness.

The model equations for the test station traits do not include the herd of origin effect. Single trait analyses showed that the herd of origin has little effect on these traits (the herd variance ratios were around 0.02%). Restricted maximum likelihood method (REML) and optimization by a quasi Newton algorithm with analytical gradients (Neumaier, Groeneveld, 1998) as implemented in VCE 4.0 program (Groeneveld, Garcia, 1998) were used to estimate the (co)variance structure separately for each breed.

## RESULTS AND DISCUSSION

### Computing issues

As the model used was completely random (except the fixed effect of sex and covariables used for backfat at field and station), covariance matrices with complicated structure had to be estimated. According to the model structure, 48 parameters were estimated simultaneously, resulting in an equation system with 227,792 equations and 2,957,661 nonzero elements (in half stored format) for the WI breed with the respective numbers for the WM breed being 71,161 and 900,293. Convergence was reached after 90 and 107 iterations for WI and WM respectively. The CPU time used for the bigger job (WI breed) was 14 hours on a 200MHz Pentium Pro with 512 MB RAM running VCE 4.1 under Linux.

### Notes on the statistical model

There is no general answer to the question if environmental effects like herd, year, season or station, year, season, should be considered as direct or as composite effects. The answer depends on the data structure (if the data sets were randomly chosen and are representative for the population) and distribution of data across the effects. We preferred using random effects with interactions herd x year x season at field (*hysft*) and station x year x season effects for field and station traits, respectively. Comparing the model with random herd effect and fixed year x season effect to the model with random *hysft* (both analyses produced on WM breed), we calculated the variance ratio for herd 0.17 (BFFT) or 0.15 (ADGFT) and variance ratio for *hysft* 0.34 (BFFT) or 0.31 (ADGFT). While general herd effects over time certainly exist, its effect will be modified by temporary influences such as an outbreak of influenza or some other detrimental condition. This situation will result in a herd x time interaction which can conveniently be modelled by including a composite herd x year x season effect into the model. Schmutz (1996) claimed that using random hys effect gives more

accurate estimations of breeding values especially when the number of animal per subclass is less than 10. In our analyses *hysft* groups consisted at least of 10 records. *Hysft* classes can be viewed as a random sample from the wider population of classes. This lead us to define this effect as random.

#### Covariance matrices and genetic parameters

Heritabilities and genetic correlations between the analyzed traits are given in Table IV and V for WI and WM breed respectively. Tables VI and VII contain the variance ratios and covariances for random environmental effect *hysft*, *stys* and random *litter* effect. As *hysft* effect was included in the models for field test traits BFFT and ADGFT, only the (co)variances (2 x 2 matrices) for these traits were estimated. Similarly, the (co)variance matrices and variance ratios for *stys* were only defined in station test traits model equations (ADGST, VC and BFST). With two groups of traits

each measured on a different set of animals no covariance is defined between them. This results in separate contribution of the field test and station test datasets – each with their own residual covariance matrix to the mixed model equations. In our case their dimension is 2 x 2 and 3 x 3 for field test and station test, respectively.

The estimated covariance matrices on the natural scale are given in Tables VIII and IX for the WI and WM breed. Standard errors of heritabilities were around 0.01–0.02 for both breeds. Those for the genetic correlations were around 0.02–0.03 for the bigger WI breed, while the standard errors of genetic correlations for smaller WM breed were 0.03 to 0.09. Here the higher standard error values above 0.05 were found in correlations between station and field test traits.

For the field test traits, the heritabilities for backfat in the field were 0.33 and 0.26 for WI and WM, respectively, and 0.13 or 0.16 for average daily gain with low values for the genetic correlation (0.09 or 0.15 for WI or WM, respectively) between them. The heritability

IV. Heritabilities (on the diagonal) and genetic correlations (above) for WI breed

	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.33	0.09	-0.10	-0.52	0.53
ADGFT		0.13	0.42	-0.14	0.02
ADGST			0.23	0.06	-0.02
VC				0.50	-0.74
BFST					0.38

See Table I for explanation of symbols

VI. Variance ratios (on diagonal) and correlations (above) for *litter*, *hysft* and *stys* effects – WI breed

Litter	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.14	0.20	0.25	-0.31	-0.39
ADGFT		0.26	0.20	0.00	0.23
ADGST			0.22	0.68	-0.43
VC				0.02	0.31
BFST					0.02
<i>hysft</i>	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.23	0.16	-	-	-
ADGFT		0.34	-	-	-
ADGST			-	-	-
VC				-	-
BFST					-
<i>stys</i>	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	-	-	-	-	-
ADGFT		-	-	-	-
ADGST			0.14	-0.11	0.23
VC				0.11	0.07
BFST					0.10

See Table I and III for explanation of symbols

V. Heritabilities (on the diagonal) and genetic correlations (above) for WM breed

	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.26	0.15	-0.15	-0.55	0.49
ADGFT		0.16	0.67	-0.08	0.05
ADGST			0.19	0.09	0.09
VC				0.43	-0.52
BFST					0.28

See Table I for explanation of symbols

VII. Variance ratios (on diagonal) and correlations (above) for *litter*, *hysft* and *stys* effects WM breed

Litter	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.11	0.15	0.41	0.85	0.75
ADGFT		0.31	-0.04	0.58	0.36
ADGST			0.30	0.53	-0.28
VC				0.01	0.60
BFST					0.02
<i>hysft</i>	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	0.34	0.42	-	-	-
ADGFT		0.31	-	-	-
ADGST			-	-	-
VC				-	-
BFST					-
<i>stys</i>	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
BFFT	-	-	-	-	-
ADGFT		-	-	-	-
ADGST			0.13	-0.09	-0.08
VC				0.15	-0.28
BFST					0.17

See Table I and III for explanation of symbols

VIII. (Co)variance matrices for WI breed

Effect	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
Residual	0.012	0.706	-	-	-
	0.706	660.241	-	-	-
Animal	-	-	4516.866	-51.898	6.601
	-	-	-51.898	3.009	-0.163
	-	-	6.601	-0.163	0.066
	0.014	0.193	-0.635	-0.123	0.014
	0.193	328.832	389.785	-5.020	0.098
	-0.635	389.785	2661.658	6.544	-0.224
Litter	-0.123	-5.020	6.544	4.099	-0.341
	0.014	0.098	-0.224	-0.341	0.051
	0.006	0.391	0.997	-0.010	-0.002
	0.391	633.314	256.675	0.011	-0.323
	0.997	256.675	2550.465	14.857	-1.219
	-0.010	0.011	14.857	0.187	0.007
hysft	-0.002	-0.323	-1.219	0.007	0.003
	0.010	0.460	-	-	-
stys	0.460	830.841	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	1626.577	-4.313	1.055
	-	-	-4.313	0.924	0.007
	-	-	1.055	0.007	0.013

See Table I and III for explanation of symbols

estimates for field test traits were lower than those calculated by other authors. Higher values of about 0.3–0.4 were found by Ducos (1993). Similarly, low heritabilities were found by Groeneveld *et al.* (1998) in four pig breeds in Czech Republic for daily gain in the field (0.11–0.14), and in Hungarian pig population (Groeneveld *et al.*, 1996). According to the last author, the low heritability estimates together with low genetic response support the view that there were problems with the accuracy of recording. This may also be the case here.

The heritabilities of the station test traits for WI breed (0.23, 0.50 and 0.38 for ADGST, VC and BFST) were higher than those estimated for WM breed (0.19, 0.43, 0.28). The heritabilities estimated for average daily gain at station agree better with other authors' results (Ducos *et al.*, 1993; Schmutz, 1996; Groeneveld *et al.*, 1996, 1998). The heritability for valuable cut percentage around 0.50 were similar to the values calculated by Hofer (1990), Schmutz (1996), Ducos (1993), who reported the values from 0.40–0.60. Groeneveld *et al.* (1998) estimated lower values lower than 0.40 for heritability of valuable cuts in Czech population of pigs.

A strong negative genetic correlation was estimated between the percentage of valuable cuts and backfat at

IX. Covariance matrices for WM breed

Effect	BFFT	ADGFT	ADGST	VC	BFST
Residual	0.014	0.682	-	-	-
	0.682	540.204	-	-	-
Animal	-	-	4212.316	-38.483	4.180
	-	-	-38.483	2.815	-0.161
	-	-	4.180	-0.161	0.057
	0.012	0.329	-0.770	-0.104	0.009
	0.329	417.087	612.760	-2.841	0.158
	-0.770	612.760	2024.606	6.963	0.724
Litter	-0.104	-2.841	6.963	2.922	-0.152
	0.009	0.158	0.724	-0.152	0.029
	0.005	0.297	1.677	0.017	0.002
	0.297	799.615	-68.586	4.459	0.410
	1.677	-68.586	3228.217	8.166	-0.644
	0.017	4.459	8.166	0.074	0.007
hysft	0.002	0.410	-0.644	0.007	0.002
	0.016	1.492	-	-	-
stys	1.492	794.742	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	1392.949	-3.551	-0.384
	-	-	-3.551	1.026	-0.038
	-	-	-0.384	-0.038	0.018

See Table I and III for explanation of symbols

station. The values were -0.74 and -0.52 for the WI and WM breed, respectively. Covariances and genetic correlations between field and station test traits are estimated on the basis of genetic links between environments. The genetic correlations between the corresponding station and field test backfat traits were 0.53 and 0.49 for WI and WM respectively. Similar values were estimated for genetic correlations between daily gain in the two testing environments (0.42 for WI and 0.67 for WM). Genetic correlations between daily gain in field and test station (about 0.50) are similar to the results of Groeneveld *et al.* (1998).

A large proportion of variability (from 23% to 34%) of the field test traits BFFT and ADGFT is caused by environmental effect *hysft*. These high values of variance ratios for nongenetic environmental effect together with low heritabilities may indicate some problem with the accuracy of recording, especially in daily gain. Variance ratios for *stys* effect in station test traits were from 0.10 to 0.14 (WI breed) and from 0.13 to 0.17 (WM breed).

The highest variance ratios for the litter effect (around 0.25 for WI, and around 0.30 for WM breed) were found for the daily gain traits (ADGFT, ADGST). The values of the litter ratios for backfat measured at

field test were above 0.10 (0.14 in WI breed and 0.11 in WM). The values of litter ratios for other station traits VC and BFFT were low (0.01 and -0.02).

## CONCLUSION

The heritabilities of station and field daily gain are uncommonly low. Here it seems advisable to look into the data recording process to find the reason. Currently, we see no genetical reason why the heritabilities – particularly at the station – should be this low. An increase perhaps due to improved recording would certainly speed up the selection response.

It is still not uncommon to perform a separate genetic evaluation on station and field test traits. However, for the datasets under consideration this is clearly suboptimal. The magnitude of the genetic correlations vendors a joint evaluation more efficient, as considerable additional information can be obtained in predicting station test BLUPs from field test records and vice versa.

The covariances obtained for the WI breed are based on a sufficiently large data set. Accordingly, the standard errors are small. Thus, these covariance matrices will be used for BLUP genetic evaluation as they are. The dataset of the WM breed is much smaller resulting in larger standard errors. With this in mind the differences in genetic correlations between the two breeds are within the range indicated by the standard errors. However, the heritabilities are sufficiently different to lead us to the conclusion that the covariance structure is indeed not identical. Consequently we decided on using the WM covariance matrices as they are in the routine BLUP genetic evaluation. Once more data are available the parameters should be reestimated and the covariance matrices used be adapted.

Apart from the breeds discussed groups for a number of smaller breeds exist for which genetic evaluation have to be performed. Because these populations are too small to estimate their covariance structure, their genetic evaluation will be done jointly with the WM on the basis of its parameter set. An additional breed effect will account for the breed differences.

## Acknowledgement

The financial support of the project from Bundesministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Forsten, Germany, is gratefully acknowledged. We thank Ing. Milan Kumičik from the State Breeding Institute Žilina for data preparation.

## REFERENCES

- Anonymous (1992): Methodology of Performance Control in Pigs (Pokyny pre kontrolu užítkovosti ošípaných). Bratislava, State Breeding Institute of Slovak Republic.
- Ducos A., Bidanel J. P., Ducrocq V., Boichard D., Groeneveld E. (1993): Multivariate restricted maximum likelihood estimation of genetic parameters for growth, carcass and meat quality traits in French Large White and French Landrace Pigs. *Genet. Sel. Evol.*, 25: 475–493.
- Flak P., Petříček M., Hetényi L. (1990): Genetická determinácia rastu živej hmotnosti vybraných ukazovateľov užítkovosti ošípaných (Genetic Determination of Growth on Production Traits of Pigs). [Research Report VII-4-1-3/05.] Nitra, Research Institute of Animal Production.
- Groeneveld E., García Cortés A. (1998): VCE 4.0, a (co)variance components package for frequentists and bayesians. In: Proc. 6th World Congr. on Genetics Applied to Livestock Production, Armidale, Vol. 27: 455–456.
- Groeneveld E., Kovac M., Wang T. (1993): PEST, Multivariate Prediction and Estimation, Version 3.1. User's Guide. Department of Animal Science, University of Illinois.
- Groeneveld E., Csato L., Farkas J., Radnóczi L. (1996): Joint genetic evaluation of field and station test in the Hungarian Large White and Landrace population. *Arch. Tierz.*, 39: 513–531.
- Groeneveld E., Wolf J., Wolfová M., Jelínková V., Večeřová D. (1998): Schätzung genetischer Parameter für tschechische Schweinerassen mit einem Mehrmerkmals-Tiermodell. *Züchtungskunde*, 70: 96–107.
- Hofer A. (1990): Schätzung von Zuchtwerten feldgeprüfter Schweine mit einem Mehrmerkmals-Tiermodell. [Dissertation.] Zürich.
- Hofer A., Hagger C., Küni N. (1990): Genetic evaluation of on farm tested pigs using an animal model. I. Estimation of variance components with restricted maximum likelihood. *Livest. Prod. Sci.*, 30: 69–82.
- Honko J., Nový J., Hetényi L. (1992): Vplyv negenetických faktorov na hodnoty koeficientov dedivosti (The influence of nongenetic factors on heritability values). *Živoč. Vyr.*, 37: 653–660.
- Neumaier A., Groeneveld E. (1990): Restricted maximum likelihood estimation of covariances in sparse linear models. *Genet. Sel. Evol.*, 30: 3–26.
- Schmutz M. (1996): Multivariate Schätzung von Populationsparametern für Merkmale aus Stations- und Feldprüfung der Bayerischen Schweine-Herdbuchzucht in Reinezzucht und Kreuzung. [Dissertation.] Kiel.

Received for publication on October 13, 1998

Accepted for publication on January 21, 1999

## Contact Address:

Mgr. Dana Peškovičová, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra, Slovenská republika, tel.: 087/51 52 40, fax: 087/51 90 32, e-mail: peskovic@vuzv.sk

# ÚČINOK INHIBÍTOROV PROTEÁZ V SÓJI NA AKTIVITU CHYMOTRYPSÍNU V TENKOM ČREVE HOSPODÁRSKÝCH ZVIERAT

## THE EFFECT OF SOYA PROTEASE INHIBITORS ON THE ACTIVITY OF CHYMOTRYPSIN IN SMALL INTESTINE OF FARM ANIMALS

R. Kaštel, M. Tučková, M. Bartik

*University of Veterinary Medicine, Košice, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** Influence of soya protease inhibitors was studied with respect to the activity of chymotrypsin in small intestine of clinically healthy 8 hens (Shaver, 16 months old, weighing 1.5–2.0 kg); 7 calves (Slovakian Pied cattle, 10 days old, weighing 35–44 kg); 6 crossbred pigs (Landrace + Slovak White Improved, 4 months old, weighing 35–40 kg). The exocrine function of pancreas was estimated by indirect assessment of chymotrypsin activity by estimation of p-aminobenzoic acid concentration (PABA) in blood plasma released from administered 4(N-acetyl-L-tyrosyl)-aminobenzoic acid (ALTAB) as substrate by HPLC method (Figs. 1, 3, 4, 5). At the beginning of the experiment, 250 mg of the ALTAB substrate per kg of live weight was given to animals after 24 h of starvation. Three hours after substrate administration, blood samples were obtained for estimation of PABA. Seven days after the administration of soya flour added to the animals feed (100 g/calve/day; 570 g/pig/day; 120 g/hen/day) the PABA was estimated under the same conditions as at the beginning of the experiment. Feeding of soya flour to calves ( $P < 0.05$ ) and hens ( $P < 0.05$ ) significantly increased the plasma levels of PABA (calves  $16.0 \pm 1.3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  before and  $27.5 \pm 3.3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  after supplementary feeding of soya flour; hens  $203.8 \pm 31.6 \mu\text{mol.l}^{-1}$  before and  $349.2 \pm 18.3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  after supplementary feeding of soya flour). Feeding of soya flour to pigs significantly ( $P < 0.01$ ) decreased plasma levels of PABA from  $174.8 \pm 18.2 \mu\text{mol.l}^{-1}$  to  $33.1 \pm 3.1 \mu\text{mol.l}^{-1}$  (Fig. 6), which manifests the significant inhibition of chymotrypsin activity in the small intestine because pancreas of pigs, unlike in calves and hens, does not enlarge in response to protease inhibitor consumption.

**Keywords:** protease inhibitors; soya; hens; calves; pigs; chymotrypsin; p-aminobenzoic acid; HPLC

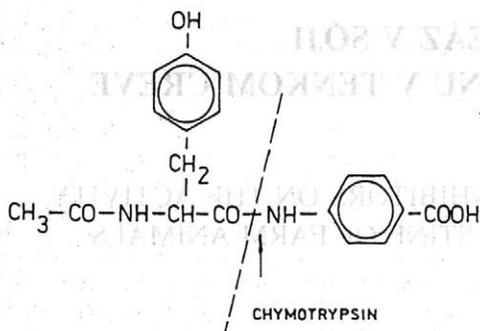
**ABSTRAKT:** Bol sledovaný vplyv inhibitorov proteáz obsiahnutých v sóji na aktivitu chymotrypsínu v tenkom čreve u klinicky zdravých 8 sliepok (hybrid: Shaver, vek: 16 mesiacov, hmotnosť: 1,5–2,0 kg); 7 teliat (plemeno: slovenské strakaté, vek: 10 dní, hmotnosť: 35–44 kg); 6 ošípaných (krížence plemien landrace + slovenské biele ušfachtilé, vek: 3–5 mesiacov, hmotnosť: 35–40 kg). Exokrinná funkcia pankreasu bola sledovaná metódou nepriameho stanovenia aktivity chymotrypsínu *in vivo* stanovením koncentrácie p-aminobenzoovej kyseliny (PABA) v krvnej plazme uvoľnenej z podanej 4(N-acetyl-L-tyrozyl)-aminobenzoovej kyseliny (ALTAB) ako substrátu metódou HPLC. Zvieratám bol na začiatku experimentu po 24-hodinovom hladovaní podaný substrát ALTAB v množstve 250 mg/kg živej hmotnosti. Tri hodiny po podaní substrátu im bola odobratá krv na stanovenie PABA. Po 7-dňovom podávaní krmiva s prídavkom sójovej múčky (100 g/teľa/deň; 570 g/prasa/deň; 120 g/sliepka/deň) bola stanovovaná PABA za rovnakých podmienok ako na začiatku experimentu. Skrmovanie sójovej múčky u teliat a sliepok spôsobilo signifikantné zvýšenie koncentrácie PABA v krvnej plazme (u teliat  $16,0 \pm 1,3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  pred podaním a  $27,5 \pm 3,3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  po podaní sóje; u sliepok  $203,8 \pm 31,6 \mu\text{mol.l}^{-1}$  pred podaním a  $349,2 \pm 18,3 \mu\text{mol.l}^{-1}$  po podaní sóje,  $P < 0,05$ ). U ošípaných spôsobilo skrmovanie sójovej múčky signifikantné zníženie koncentrácie PABA v plazme zo  $174,8 \pm 18,2 \mu\text{mol.l}^{-1}$  na  $33,0 \pm 3,1 \mu\text{mol.l}^{-1}$  ( $P < 0,01$ ), čo svedčí o výraznej inhibícii aktivity chymotrypsínu v tenkom čreve. Pankreas prasiat oproti teľatám a sliepkam nereaguje zväčšením sa na prívod proteázových inhibitorov krmivom.

**Kľúčové slová:** inhibitory proteáz; sója; sliepky; teľatá; ošípané; chymotrypsín; kyselina p-aminobenzoová; HPLC

### ÚVOD

Vyšetrenie exokrinnnej funkcie pankreasu pri skrmovaní inhibitorov proteáz sa uplatňuje pri poruchách trávenia a využitia živín v tenkom čreve zvierat. Na posúdenie exokrinnnej funkcie pankreasu je veľmi vhodná

nepriama metóda, založená na podávaní syntetického substrátu 4(N-acetyl-L-tyrozyl)-aminobenzoovej kyseliny (ALTAB) pre chymotrypsín s C-koncovou kyselinou p-aminobenzoovou (obr. 1). Tento substrát sa v tenkom čreve katalytickým účinkom rozštiepi, pričom sa uvoľní kyselina p-aminobenzoová (PABA). Množstvo uvoľnie-



1. Schéma katalytického vplyvu chymotrypsínu na perorálny substrát 4(N-acetyl-L-tyrozyl)-aminobenzoovú kyselinu (ALTAB). Chymotrypsín štiepi molekulu substrátu a uvoľňuje kyselinu p-aminobenzoovú (PABA) – Scheme of catalytic influence of chymotrypsin on the peroral substrate 4(N-acetyl-L-tyrosyl)-p-aminobenzoic acid (ALTAB). Chymotrypsin splits the molecule of the substrate and p-aminobenzoic acid (PABA) is released

penej PABA je úmerné aktivite chymotrypsínu v čreve a odzrkadľuje exokrinnú funkciu pankreasu. Kyselina p-aminobenzoová sa z čрева resorpciou dostáva do krvi, čiastočne je metabolizovaná v pečeni a komplexne vylučovaná močom.

Pre stanovenie PABA sme vypracovali modifikovanú metódu s využitím vysokoúčinnnej kvapalinovej chromatografie (HPLC), ktorá umožňuje špecificky stanoviť PABA v krvi, moči a truse hospodárskych zvierat (Kaštel *et al.*, 1994). HPLC metóda je oproti klasickej spektrofotometrickej metóde využívajúcej Bratton-Marshallovu reakciu výhodnejšia, pretože je špecifickejšia, jednoduchšia a efektívnejšia. Ako separačná metóda vylučuje vplyv iných aromatických aminov. Vo veterinárnej praxi je výhodnejšie stanovovať PABA v krvi ako v moči zvierat, a to pre jednoduchosť a nenáročnosť odberu.

Náš nový metodický postup spočíval na stanovení PABA v krvi zvierat tri hodiny po podaní syntetického substrátu ALTAB, pred ovplyvnením a po ovplyvnení pankreasu skrmovaním sóje. Interval odberu krvi po podaní substrátu ALTAB bol zistený meraním závislosti koncentrácie PABA v krvi na čase po perorálnom podaní ALTAB.

Cieľom práce bolo zistiť účinky inhibítorov proteínáz v sóji na aktivitu chymotrypsínu v tenkom čreve teľiat, slipek a ošípaných a overiť, či je uvedená metóda schopná detegovať zmeny aktivity chymotrypsínu podmienené podaním sójového krmiva, ktoré obsahuje inhibítory chymotrypsínovej aktivity.

## MATERIÁL A METÓDY

### Zvieratá a kŕmenie

V pokusoch boli použité nasledovné, klinicky zdravé zvieratá:

- 1) 8 slipek vo veku 16 mesiacov – hybrid Shaver, s hmotnosťou 1,5–2,0 kg;
- 2) 7 teľiat plemena slovenské strakaté vo veku 10 dní, s hmotnosťou 35–44 kg;
- 3) 6 ošípaných vo veku 4 mesiace – krížence plemien landrase a slovenské biele ušfachtilé, s hmotnosťou 35–40 kg.

Zvieratá boli kŕmené takto:

- 1) slipek – kŕmna zmes NV-RM (Agrocas, Košice);
- 2) teľatá – mliečna zmes Laktavit B (Milk Plant, Košice);
- 3) ošípané – kŕmna zmes ČOS (Agrocas, Košice).

V priebehu experimentu boli počas 7 návykových dní kŕmené kŕmivom s prídavkom sójovej múčky:

- 1) slipek – kŕmna zmes NV-RM, ktorá obsahovala 15 % sójovej múčky, čím sa zvýšil obsah N-látok v zmesi zo 157 na 183 g/kg;
- 2) teľatá – k mliečnej zmesi Laktavit B bolo pridaných 100 g sójovej múčky pre teľatá na deň;
- 3) ošípané – zmes kukurice (1 330 g) a sójovej múčky (570 g); doplnok biofaktorov a minerálna prísada I (50 g).

Dávky sóje boli určené na základe potreby SNL pre jednotlivé druhy zvierat s prihliadnutím na ich vek.

Zvieratá kŕmené kŕmivom bez prídavku sóje boli podrobené 24-hodinovému hladovaniu, po ktorom im bol podaný substrát ALTAB v množstve 250 mg/kg živej hmotnosti. Tri hodiny po podaní substrátu im bola odobraná krv do skúmaviek s heparínom – ošípaným a teľatám z *vena jugularis* a slipek z *vena ulnaris*.

Nasledovalo sedemdnňové obdobie podávania sójovej múčky, kde po 7. dni opäť nasledovalo 24-hodinové hladovanie, po ktorom bol zvieratám podaný substrát ALTAB a odobraná krv za rovnakých podmienok ako na začiatku pokusu.

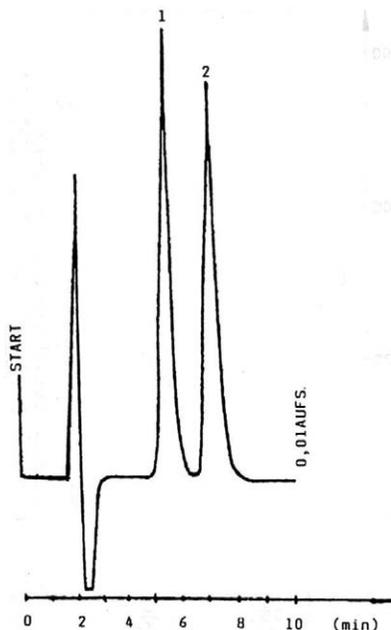
## ANALÝZY

### Reagencie

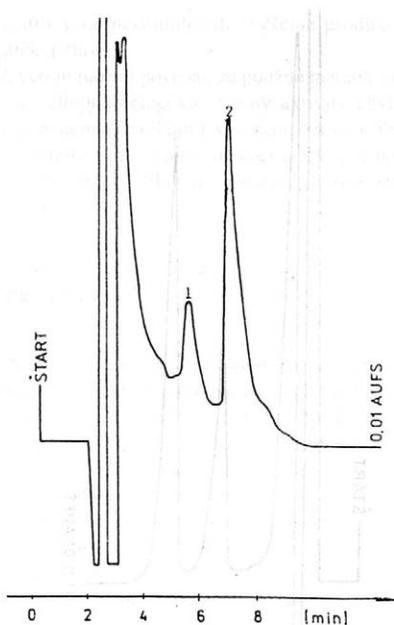
Boli použité kyselina p-aminobenzoová a kyselina m-hydroxibenzoová (interný štandard), analyticky čisté z Loba Chemie (Viedeň, Rakúsko); syntetický substrát kyselina 4(N-acetyl-L-tyrozyl)-aminobenzoová z f. Léčiva (Praha, Česká republika). Ostatné použité chemikálie boli analyticky čisté z Lachemy (Brno, Česká republika).

### Vysokoúčinnná kvapalinová chromatografia

Na stanovenie kyseliny p-aminobenzoovej v krvi bol použitý HPLC prístroj firmy Spectra Physics (Santa Clara, Ca., USA) model SP 8700. Analýzy boli robené na reverznej kolóne Separon SIX-C 18 (150 x 3,2 mm), s 5µm časticami (Laboratórne prístroje, Praha, Česká



2. Chromatogram štandardnej zmesi obsahuje (1) kyselinu p-aminobenzoovú ( $25 \text{ mg.ml}^{-1}$ ), (2) kyselinu m-hydroxybenzoovú ( $25 \text{ mg.ml}^{-1}$ ) – Chromatogram of standard mixture consisting of (1) p-aminobenzoic acid ( $25 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ ), (2) m-hydroxybenzoic acid ( $25 \text{ } \mu\text{g.ml}^{-1}$ )



3. Chromatogram plazmy teľatá: (1) kyselina p-aminobenzoová, (2) kyselina m-hydroxybenzoová – Chromatogram of calf blood plasma: (1) p-aminobenzoic acid, (2) m-hydroxybenzoic acid

Štart = start

republika). Pri izokratickom spôsobe elúcie bola ako mobilná fáza použitá zmes metanolu a  $0,02 \text{ mol.l}^{-1}$  octanu amónneho v pomere 20 : 80, pH 4,0, prietok  $0,5 \text{ ml.min}^{-1}$  (tlak  $13,5 \text{ MPa}$ ). Detekcia bola robená na spektrofotometrickom detektore pri  $280 \text{ nm}$ .

#### Príprava vzoriek

Krvná plazma ( $1 \text{ ml}$ ) bola deproteinizovaná prídavkom  $0,5 \text{ ml}$   $10\%$  kyseliny trichlóroctovej, ktorá obsahovala známe množstvo interného štandardu (IS) a bola centrifugovaná pri  $900$  otáčkach/min. Supernatant bol  $1$  hodinu hydrolyzovaný  $4 \text{ mol.l}^{-1}$  NaOH pri  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ . Po ochladení bola k  $0,1 \text{ ml}$  hydrolyzátu pridaná  $0,5 \text{ mmol.l}^{-1}$  kyselina acetónová v množstve  $0,9 \text{ ml}$ . Na kolónu bolo nastreknutých  $15 \text{ } \mu\text{l}$  vzorky, ktorá obsahovala  $0,18 \text{ mmol.l}^{-1}$  interného štandardu.

Výsledky analýz boli štatisticky hodnotené Studentovým  $t$ -testom. Variačný koeficient metódy bol  $1,1 \%$ .

#### VÝSLEDKY

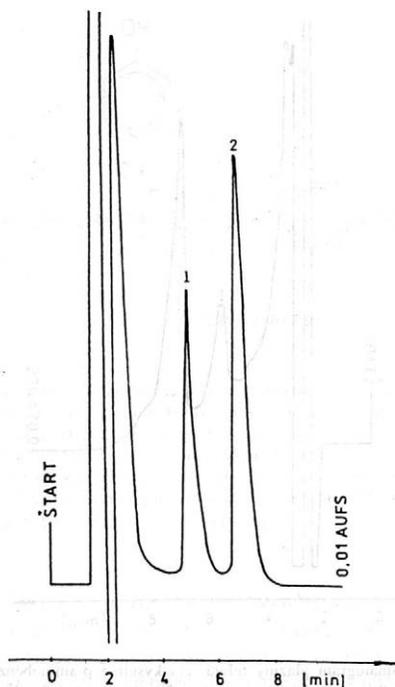
Na obr. 2 je znázornený chromatogram štandardnej zmesi obsahujúcej PABA a kyselinu m-hydroxybenzoovú (interný štandard), obe v koncentrácii  $0,18 \text{ mmol.l}^{-1}$ ,

ktorý svedčí o dobrej separácii delených substancií. Chromatografické záznamy analýz krvnej plazmy teľat a hydiny po podaní ALTAB sú na obr. 3 a 4.

Skrmovanie sójovej múčky, obsahujúcej proteázové inhibítory, ktoré vplývajú na pankreas a na aktivitu chymotrypsínu v tenkom čreve, sme sledovali u teľat, ošípaných a hydiny. Na obr. 5 vidieť významný rozdiel v priemernej koncentrácii PABA v krvnej plazme stanovenej pred skrmovaním a po skrmovaní sójovej múčky u teľat, ošípaných a sliepok. Na začiatku pokusu boli tieto hodnoty PABA v plazme: u teľat  $16,0 \pm 1,3 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ , u sliepok  $203,8 \pm 31,6 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ , u ošípaných  $174,8 \pm 18,2 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Po skrmovaní sóje sme namerali u teľat  $27,5 \pm 3,3 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ , u sliepok  $349,2 \pm 18,3 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$  a u ošípaných  $33,0 \pm 3,1 \text{ } \mu\text{mol.l}^{-1}$ . Signifikantné zvýšenie hodnôt PABA v plazme teľat a sliepok sa prejavilo na hladine významnosti  $P < 0,05$ . U ošípaných došlo k významnému zníženiu koncentrácie PABA v plazme na hladine významnosti  $P < 0,01$ . Na obr. 6 je znázornená závislosť aktivity chymotrypsínu na množstve sójovej múčky v inkubačnom roztoku.

#### DISKUSIA

Zmeny koncentrácie PABA v krvi zvierat (uvoľnenej z podaného peptidového substrátu ALTAB), ktoré sme zistili po skrmovaní sójovej múčky, svedčia o ov-

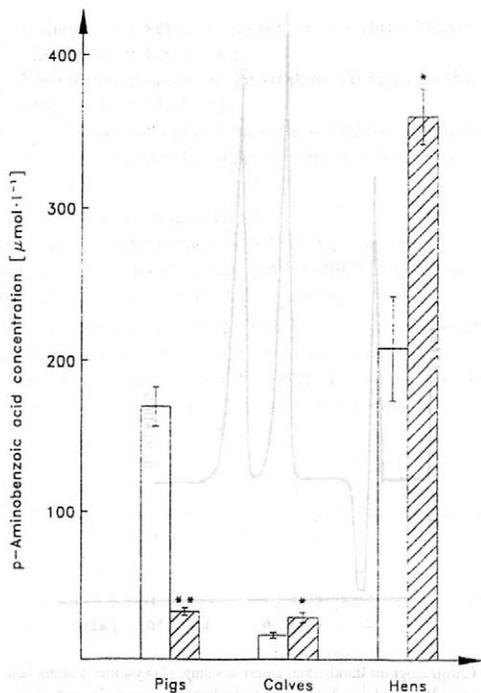


4. Chromatogram plazmy kurčiat: (1) kyselina p-aminobenzoová, (2) kyselina m-hydroxybenzoová – Chromatogram of poultry blood plasma: (1) p-aminobenzoic acid, (2) m-hydroxybenzoic acid

plyvenní proteolytickej aktivity v tenkom čreve a ovplyvnení exokrinnej funkcie pankreasu. Vplyv proteázových inhibítorov prítomných v skrmovanej sójovej múčke sa však neprejavil rovnako u všetkých nami sledovaných zvierat.

Prívod proteázových inhibítorov do zažívacieho traktu spôsobil výrazné zvýšenie aktivity chymotrypsínu v tenkom čreve sliepok a teliat. Svedčí o tom zvýšenie koncentrácie celkovej PABA v krvi o 71 % u sliepok a o 72 % u teliat. Tieto výsledky potvrdzujú údaje autorov Chernick *et al.* (1968) a Garlick *et al.* (1966), Zhang, Parsons (1991), Zhang *et al.* (1993) a Guen *et al.* (1993), ktorí vyšetrovali veľkosť pankreasu a proteolytickú aktivitu v čreve po usmrtení kurčiat kŕmených sójou. Podľa týchto autorov skrmovanie proteázových inhibítorov, vrátane sójového trypsinového inhibítora (SBTI), spôsobuje zväčšenie pankreasu hydiny, ktorý na prívod SBTI reaguje rýchlo a výrazne. Zväčšený pankreas vylučuje do tenkého čreva väčšie množstvo proteolytických enzýmov. Dôkazom tohto zistenia je aj nami pozorované zvýšenie koncentrácie PABA v krvi po skrmovaní sójovej múčky. Rascon *et al.* (1985) zistili medzidruhové rozdiely v inhibičnom vplyve extraktu zo sóje na aktivitu trypsinu a chymotrypsínu u 12 druhov živočíchov.

U ošipaných došlo naopak k opačnému efektu – skrmovanie sóje znížilo koncentráciu PABA v krvi o 81 %,



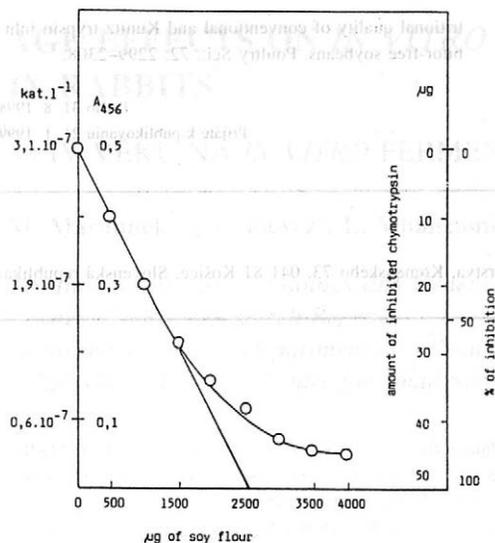
5. Koncentrácia kyseliny p-aminobenzoovej v plazme štart = start ( $\mu\text{mol.l}^{-1}$ ) (priemerná hodnota  $\pm$  stredná chyba priemeru) prasiat ( $n = 6$ ), teliat ( $n = 7$ ) a kurčiat ( $n = 6$ ) – Concentration of p-aminobenzoic acid in  $\mu\text{mol.l}^{-1}$  (mean  $\pm$  standard error) in pig ( $n = 6$ ), calf ( $n = 7$ ) and hen ( $n = 6$ ) plasma

□ – pred podaním surovej sóje – before supplementary feeding of raw soya

▨ – po podaní surovej sóje – after supplementary feeding of raw soya  
Kyselina p-aminobenzoová bola vyhodnocovaná pomocou HPLC 3 hodiny po podaní 250 mg 4(N-acetyl-L-tyrozil)-p-aminobenzoovej kyseliny na kg živej hmotnosti (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ) – p-aminobenzoic acid was evaluated by HPLC 3 hours after administration of 250 mg 4(N-acetyl-L-tyrosyl)-aminobenzoic acid per kg of body weight (\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ )

čo svedčí o výraznej inhibícii aktivity chymotrypsínu v tenkom čreve. Toto zníženie aktivity je spôsobené ako tvorbou komplexu enzým-inhibítora, tak aj nereagovaním na prívod proteázových inhibítorov kŕmivom zväčšením sa. Naše zistenie je v súlade s údajmi autorov Yen *et al.* (1977), Birk *et al.* (1989), Schulze *et al.* (1993) a Guen *et al.* (1993), ktorí vyšetrovali pankreas a aktivitu chymotrypsínu v obsahu čreva po usmrtení ošipaných kŕmených sójou. Zistili inhibíciu aktivít enzýmov čreva a pankreasu nezväčšené. Pankreas krýs, myši, škrečkov a kurčiat sa zväčší, ak ich kŕmivo obsahuje tepelne nespracovaný sójový šrot (Hasdai, Liener, 1983).

Tefatá mali v porovnaní s prasatami a sliepkami pomerne nižšie hladiny PABA v krvi, čo sa dá vysvetliť buď nižšou aktivitou chymotrypsínu v tenkom čreve, vyplývajúcou z možných medzidruhových rozdielov, od-



6. Závislosť aktivity chymotrypsínu na množstve inhibítora sóje v inkubačnom roztoku – Dependence of chymotrypsin activity on the amount of soya inhibitor in incubation solution

lišným usporiadaním zažívacieho traktu, alebo rozdielnym vekom pokusných zvierat. Krogdahl (1984) uvádza, že u mláďat sú aktivity tráviacich proteáz nižšie.

Zistenia uvedeného autora sme potvrdili novým nepriamym postupom posúdenia exokrinnej funkcie pankreasu zvierat *in vivo*, pomocou perorálneho podania substrátu pre chymotrypsín s C-koncovou PABA, stanovením katalyticky odštiepenej PABA v krvi pred pôsobením a po pôsobení inhibítorov prítomných v sóji na pankreas zvierat.

Odlíšne odpovede pankreasu na pôsobenie podaných inhibítorov tetatám a ošípaným v našom experimente nesúhlasia s údajmi autorov Liener *et al.* (1985), ktorí klasifikujú ošípané a tetatá spolu so psami ako zvieratá prezentujúce skupinu, ktorá na proteázové inhibítory neodpovedá zväčšením pankreasu. Tieto rozdiely môžu byť podmienené rôznym obsahom proteínov v diéte teliat. Odpoveď pankreasu na skrmované proteázové inhibítory závisí od obsahu proteínov v krmive (Liener *et al.*, 1985).

Naše výsledky možno vysvetliť tak, že u teliat spôsobuje skrmovanie proteázových inhibítorov nefyziologické zväčšenie pankreasu, ktoré vyvoláva zvýšenie produkcie pankreatickej šťavy, a tým aj množstva chymotrypsínu v tenkom čreve. U ošípaných sa zvýšenie sekrécie pankreatickej šťavy nedostavuje. Podaný inhibítor (50 mg sójovej múčky inhibuje 1 mg chymotrypsínu) inaktívuje určitú časť chymotrypsínu prítomného v tenkom čreve, a preto zaznamenávame aj zníženú koncentráciu PABA v plazme. Z toho usudzujeme, že u ošípaných sójové inhibítory pankreas priamo ne-

poškodili a ani nestimulovali zvýšenie produkcie pankreatickej šťavy.

Záverom možno povedať, že použitá metóda sa osvedčila, je schopná detegovať zmeny aktivity chymotrypsínu podmienené podaním sójového krmiva obsahujúceho inhibítory chymotrypsínovej aktivity a môže byť použitá pri diagnostikovaní a štúdiu chorôb pankreasu u zvierat.

## LITERATÚRA

- Birk Y. (1989): Protein protease inhibitors of plant origin and their significance in nutrition. In: Huisman J., Poel A. F. B., Liener I. E. (eds.): Proc. of the 1st Int. Workshop, December 2–5, Wageningen, Netherland: 83–94.
- Garlich J. D., Neshiem M. C. (1966): Relation of soybeans and crystalline soybean inhibitor to the effects of feeding unheated soybean meal to chicks. *J. Nutr.*, 88: 100–110.
- Guen M. P., Birk Y. (1993): Protein protease inhibitors from legume seeds: nutritional effects, mode of action and structure–function relationship. In: Poel A. F. B., Huisman J., Saini H. S. (eds.): Proc. of the 2nd Int. Workshop, December 1–3, Wageningen, Netherland: 157–171.
- Hasdai A., Liener I. E. (1983): Growth, digestibility and enzymatic activities in the pancreas and intestines of hamsters feed raw heated soy flour. *J. Nutr.*, 113: 662–668.
- Chernick S. S., Lepkovsky S., Chaikoff I. L. (1968): A dietary factor regulating the enzyme content of the pancreas: changes induced in size and proteolytic activity of the chick pancreas by the ingestion of raw soybean meal. *Am. J. Physiol.*, 155: 33–41.
- Kaštel R., Rosival I., Blahovec J. (1994): Simultaneous determination of p-aminobenzoic acid and its metabolites in urine by high-performance liquid chromatography. *Bio-med. Chromatogr.*, 8: 294–296.
- Krogdahl A., Sell J. L. (1984): Development of digestive enzymes and fat digestion in poults. In: Proc. and Abstr. of XVII Worlds Poultry Congr. Exhibition, Helsinki, Finland, August 8–12: 352–354.
- Liener I. E., Nitsan Z., Srisangam G., Rackis J. J., Gumbann M. R. (1985): The ASSDA trypsin inhibitor study. II. Timed related biochemical changes in the pancreas of rats. *Qual Plant. Foods Hum. Nutr.*, 35: 243–257.
- Rascon A., Seidl D. S., Jaffe W. G., Aizman A. (1985): Inhibitor of trypsin and chymotrypsin from different animal species: A comparative study. *Comp. Biochem. Physiol.*, 82: 375–378.
- Schulze H. – Huisman J., Versteegen H. W. A., Van Leeuwen P. (1993): Physiological effects of isolated soya trypsin inhibitors (sTI) on pigs. In: Poel A. F. B., Huisman J., Saini H. S. (eds.): Proc. of the 2nd Int. Workshop, December 1–3, Wageningen, Netherland: 191–194.
- Yen J. T., Jensen A. A., Simon J. (1977): Effect of dietary raw soybeans and soybean trypsin inhibitor on trypsin and chymotrypsin activities in the pancreas and small intestinal juice of growing swine. *J. Nutr.*, 107: 156–165.

Zhang Y., Parsons C. M. (1991): Effect of soybeans varying in trypsin inhibitor content on performance of laying hens. *Poultry Sci.*, 70: 2210–2213.

Zhang Y., Parsons C. M., Weingartner K. E., Wijeratne W. B. (1993): Effects of extrusion and expelling on the nu-

tritional quality of conventional and Kunitz trypsin inhibitor-free soybeans. *Poultry Sci.*, 72: 2299–2308.

Došlo 31. 8. 1998

Prijaté k publikovaniu 21. 1. 1999

**Kontakná adresa:**

RNDr. Rudolf Kaštel, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice, Slovenská republika, tel.: ++421/095/63 321 11-15, fax: ++421/095/63 23 666

# AGE EFFECTS ON *IN VITRO* CAECAL FERMENTATION IN RABBITS\*

## VLIV VĚKU NA *IN VITRO* FERMENTACI V SLEPÉM STŘEVĚ KRÁLÍKŮ

M. Marounek<sup>1,2</sup>, V. Fievez<sup>2</sup>, L. Mbanzamiho<sup>2</sup>, D. Demeyer<sup>2</sup>, L. Maertens<sup>3</sup>

<sup>1</sup> *Institute of Animal Physiology and Genetics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague-Uhřetěves, Czech Republic*

<sup>2</sup> *University of Gent, Department of Animal Production, Melle, Belgium*

<sup>3</sup> *CLO-Gent, Research Centre for Small Stock Husbandry, Merelbeke, Belgium*

**ABSTRACT:** Four litters of rabbits were sequentially slaughtered at the age of 4 (before weaning), 6, 8 and 11 weeks. Rabbit caecal contents were diluted with buffer and incubated anaerobically for 24 and 48 h. Net productions of volatile fatty acids (VFA), hydrogen and methane were determined. Whereas total VFA production was not influenced by the age of rabbits, molar proportions of acetate and butyrate increased after weaning, with a concomitant decrease of propionate and isoacids proportions. Fermentation shifts were more pronounced in cultures incubated for 48 h. Methane production started in one of four rabbits at the age of 6 weeks. At the age of 11 weeks one of four rabbits still did not produce any methane. In all rabbits, the hydrogen recovery and the methane/VFA ratio increased with the time of incubation. Our results suggest that the reductive acetogenesis was partially replaced in the course of incubation by other hydrogen-consuming reactions, apparently by methanogenesis in methane-producing rabbits. The concentration of soluble sugars in the culture fluid (ca 1 mg/ml) was not greatly affected by the 48h-incubation, thus, factors other than the depletion of fermentable substrates may influence acetogenic activity. In a separate experiment, rabbit milk added at 4.8% (v/v) significantly decreased production of total VFA, acetate, propionate, isoacids and methane in caecal cultures. No inhibitory effect of a corresponding mixture of the cow milk fat, casein and lactose was observed.

**Keywords:** rabbit; caecal fermentation; weaning

**ABSTRAKT:** Králíci ze čtyř vrhů byli postupně poraženi ve věku 4 týdnů (před odstavením), 6, 8 a 11 týdnů. Obsahy slepých střev byly zředěny pufrům a inkubovány za anaerobních podmínek 24 a 48 hodin. Zjišťovali jsme produkci těkavých mastných kyselin (TMK), vodíku a metanu. Zatímco celková produkce metanu nebyla věkem králíků ovlivněna, molární podíly acetaátu a butyrátu po odstavení vzrostly, za současného snížení zastoupení propionátu a izokyselin. Změny ve složení metabolitů byly výraznější v kulturách inkubovaných 48 hodin. Produkce metanu obsahem slepého střeva začala u jednoho ze čtyř králíků ve věku 6 týdnů. Ve věku 11 týdnů jeden ze čtyř králíků stále ještě neprodukoval metan. U všech králíků rostly recovery vodíku a poměr metan/TMK s dobou inkubace. Z našich výsledků vyplývá, že v průběhu inkubace byla redukční acetogeneze zčásti nahrazena jinými reakcemi využívajícími vodík. U králíků produkujících metan je to především tvorba metanu. Koncentrace rozpustných cukrů v inkubační kapalíně (ca 1 mg/ml) nebyla dlouhou dobou (48 h) inkubace výrazně ovlivněna. Z toho lze předpokládat, že metabolická aktivita mixotrofních acetogenních bakterií není ani při takto dlouhé inkubační době omezoována nedostatkem organických substrátů. Ve zvláštním pokuse jsme potvrdili, že králíčí mléko obsahuje antimikrobiální látky, které ovlivňují mikrobiální metabolismus v trávicím traktu. Přídavek králíčího mléka v množství 4,8 % (v/v) významně snížil celkovou produkci TMK, produkci acetaátu, propionátu, izokyselin a metanu v kulturách střevních obsahů. Tento inhibiční účinek neměla odpovídající směs mléčného tuku krávy, kazeinu a laktózy.

**Klíčová slova:** králík; slepé střevo; fermentace; odstav

### INTRODUCTION

The caecum is the largest compartment and the main site of the microbial metabolic activity in the digestive tract of rabbits. Caecal microorganisms convert nutri-

ents leaving the small intestine to volatile fatty acids (VFA), gases (CO<sub>2</sub>, CH<sub>4</sub>), ammonia, and compounds incorporated into microbial cells. The VFA can make up a sizeable proportion of the animals energy requirement. The principal microorganisms in the caecum are

\* This work was partially supported by the Grant Agency of the Czech Republic (project No. 524/97/1306).

gram-negative bacteria (Straw, 1988). Numbers of gram-positive bacteria are lower. There is no report on the presence of anaerobic fungi and protozoa; on the other hand the rabbit caecum is colonized by yeast *Cyniclomyces* (formerly *Saccharomycopsis*) *guttulatus* (Kocková-Kratochvílová, 1990).

The caecal microflora of suckling and adult rabbits is considerably different. It has been shown that the number of facultative anaerobes decreased sharply from the second week of life and almost disappeared after weaning. Non-sporulating anaerobic bacteria dominated over other bacterial groups since the third week of life (Gouet, Fonty, 1979). Methanogens appeared in the rabbit caecum in the fifth week of life (Piattoni *et al.*, 1996). The fermentation pattern in the caecum reflects changes of the microbial metabolism. Piattoni *et al.* (1996) observed the age-dependent shift from propionate to butyrate and a progressive decrease of ammonia production with age. The caecal fermentation plays a significant role in the digestive physiology of the rabbit. Digestive disturbances and associated mortality are particularly important during the post-weaning period (Gidenne, 1997). The aim of this work was to investigate fermentation pattern in rabbits before and after weaning in *in vitro* experiments using a batch incubation technique suitable for this purpose. Two incubation times were compared: 24 h and 48 h. The effect of the rabbit milk on fermentation was investigated as well. Results of previous experiments related to this study were submitted for the publication elsewhere (Marounek *et al.*, 1999).

## MATERIAL AND METHODS

### Rabbits, diet and sampling

Rabbits from the dam line of the Research Centre for Small Stock Husbandry were used. Four litters born on the same day from multiparous does were chosen for the experiment. At 29 days of age, rabbits were weaned and kept together in a fattening cage. The same standard reproduction diet was fed *ad libitum* to the does and the young both before and after weaning. The feed contained (%): lucerne meal - 32.3, soft wheat middlings - 30.0, wheat - 12.0, soybean meal - 7.0, flax hulls - 6.0, sunflower meal - 5.6, molasses - 4.0, fat - 0.5, vitamin/mineral supplement - 2.6. Proximal chemical composition on dry matter basis was as follows (%): crude protein - 18.6, ADF - 19.2, fat - 4.7, starch - 17.6. Rabbits were slaughtered at the age of 4, 6, 8 and 11 weeks, between 8.30 and 11.30 a.m. For any experimental age, one rabbit was slaughtered from each litter. At the age of 4 weeks (one day before weaning), however, two rabbits were slaughtered in order to collect enough caecal contents for incubation. Immediately after slaughtering, the caecum was isolated by tying off the three extremities with a string, to prevent

movement of the digesta. The caecal content was squeezed out into a beaker under CO<sub>2</sub> flushing.

### Incubation and analyses

Caecal contents were diluted five times with a buffer solution at pH 6.9, containing NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (1.41 g/l) as N source (Burroughs *et al.*, 1950). Twenty ml of diluted caecal contents were transferred into gas-tight incubation flasks. Flasks were filled with CO<sub>2</sub> and incubated in a shaking waterbath at 39 °C. The incubations were done in duplicate for the two incubation times (24 and 48 h). One sample was not incubated (blank) and immediately mixed with 0.4 ml of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/HCOOH (10 : 1) to stop the fermentation. At the end of the incubation, 2 ml of the fermentation gas were sampled with a gas-tight syringe and analysed for methane and hydrogen by adsorption gas chromatography (Marty, Demeyer, 1973). Incubation was then stopped by adding 0.4 ml of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/HCOOH, incubation fluid centrifuged (10 min/15 000 g), filtered and the filtrate was used for VFA analysis by gas-liquid chromatography (Marty, Demeyer, 1973).

Samples from the beginning (0 h) and the end (48 h) of the last incubation were analysed for soluble sugars by phenol-sulphuric acid method (Herbert *et al.*, 1971) and for reducing sugars according to Somogyi (1952). The former method is based on H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-mediated conversion of soluble sugars to furfural or a derivative of furfural. A colour is then produced by reaction of furfural with phenol. Its intensity was measured at 488 nm. The latter procedure includes reactions of reducing sugars with a copper reagent and an arsenomolybdate reagent. A blue colour appears and is read at 520 nm. Both methods were calibrated with glucose.

### Effect of rabbit milk on *in vitro* fermentation

The caecal content of a 12-week-old rabbit was diluted five times with the Burroughs buffer. Forty ml of diluted caecal contents were transferred into nine incubation flasks. Two ml of rabbit milk or 2 ml of buffer (negative control), or cow milk fat (250 mg), casein (300 mg), lactose (20 mg) and 2 ml of buffer (positive control) were added to incubation flasks. Cultures were incubated under CO<sub>2</sub> at 39 °C for 24 h. One sample per treatment was not incubated (blank) and immediately mixed with 0.8 ml of H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>/HCOOH. The above mentioned amounts of milk fat, casein and lactose were chosen with respect to the rabbit milk composition.

### Calculations

Metabolic hydrogen recovery was calculated according to Marty and Demeyer (1973):

$$2H_{\text{released}} = 2A + P + 4B + 3V$$

$$2H_{\text{accepted}} = 2P + 2B + 4V + 4M + H_2$$

$$2H_{\text{recovery}} = (2H_{\text{accepted}}/2H_{\text{released}}) \cdot 100$$

where A, P, B, V, M and H<sub>2</sub> represent net molar production values (analysed values minus values obtained for the blank) of acetate, propionate, butyrate, valerate, methane and hydrogen, respectively. Such calculation tests the hypothesis that the amount of hydrogen liberated in pyruvate and acetate production equals that deposited in the production of methane, propionate and butyrate.

The data summarized in tables were corrected for amounts present before incubations. Effects of age and the rabbit milk were analyzed with one-way analysis of variance (GraphPAD Software, version 1.14, Birthe Avery, Md). Bonferroni test was used for means comparison, where appropriate. The significance of differences between cultures incubated for 24 and 48 h was evaluated by the *t*-test. The significance was declared at *P* < 0.05.

## RESULTS AND DISCUSSION

Table I presents data on the effects of age and the time of incubation on the end-product formation and 2H recovery in *in vitro* caecal cultures. Average VFA

production was 1106 and 428 mol per flask in the first and the second day of incubation, respectively. Molar proportions of acetate and butyrate increased after weaning, with a concomitant decrease of propionate and isoacids proportions. Molar proportions of acetate, propionate and isoacids were changed significantly in cultures incubated for 48 h. Small amount of hydrogen (4.6 μmol, on average) was detected in all incubation flasks. Methane was not produced in pre-weaned rabbits. One out of four rabbits sampled at the age of 6 weeks produced methane. At the age of 8 and 11 weeks, one of four rabbits did not produce methane. The hydrogen recovery, methane production and molar percentages of propionate, valerate and isoacids tended to increase in the course of incubation, whereas acetate percentages tended to decrease. The hydrogen recovery decreased after weaning and then increased progressively with age. Low 2H recovery values indicate that hydrogen produced via pyruvate was not deposited in reduced fermentation end-products, but used for synthesis of acetate from CO<sub>2</sub>. This reductive acetogenesis represents an alternative hydrogen sink to methane production. In all rabbits, the methane/VFA ratio increased with the time of incubation. These age and incubation time effects were not statistically significant, due to high variability of data.

The average amount of soluble sugars (as glucose units) was 134.3 and 108.4 μmol/flask at the start (0 h)

I. Effect of age and incubation time on *in vitro* caecal fermentation<sup>1</sup> in rabbits<sup>2</sup>. Means ± standard errors

Parameter	Incubation time (h)	Age of rabbits (weeks)			
		4	6	8	11
Total VFA <sup>3</sup>	24	1054 ± 192	1169 ± 67	1059 ± 77	1143 ± 30
(μmol/flask)	48	1494 ± 222	1680 ± 94*	1437 ± 92*	1526 ± 58*
Acetate	24	68.3 ± 2.4	76.5 ± 1.2	75.1 ± 0.7	75.8 ± 1.6
(mol.%)	48	65.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	72.8 ± 1.0 <sup>b</sup>	73.0 ± 0.9 <sup>b</sup>	73.0 ± 1.6 <sup>b</sup>
Propionate	24	12.7 ± 2.4	6.8 ± 0.3	6.3 ± 0.7	6.1 ± 0.4
(mol.%)	48	13.2 ± 1.6 <sup>a</sup>	8.1 ± 0.5 <sup>ab</sup>	7.1 ± 0.7 <sup>b</sup>	7.7 ± 0.5 <sup>b</sup>
Butyrate	24	11.8 ± 1.4	13.5 ± 0.9	16.2 ± 0.9	16.2 ± 1.2
(mol.%)	48	12.5 ± 1.2	14.6 ± 0.8	16.4 ± 1.2	15.7 ± 1.1
Valerate	24	1.3 ± 0.2	1.0 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.1
(mol.%)	48	1.9 ± 0.2	1.4 ± 0.3	0.9 ± 0.2	1.3 ± 0.5
Isoacids	24	5.9 ± 1.4	2.2 ± 0.4	1.6 ± 0.6	1.2 ± 0.2
(mol.%)	48	7.1 ± 0.9 <sup>a</sup>	3.1 ± 0.4 <sup>ab</sup>	2.6 ± 0.7 <sup>b</sup>	2.3 ± 0.6 <sup>b</sup>
Hydrogen	24	4.6 ± 0.3	5.9 ± 0.6	3.7 ± 0.8	4.0 ± 1.0
(μmol/flask)	48	6.4 ± 0.3*	6.1 ± 0.4	2.9 ± 1.0	3.4 ± 1.6
Methane	24	0	0	63 ± 35	98 ± 33
(μmol/flask)	48	0	106 ± 0	106 ± 45	141 ± 49
2H recovery (%)	24	27.3 ± 2.4	20.8 ± 0.9	32.3 ± 7.7	36.5 ± 5.6
	48	29.8 ± 1.7	23.8 ± 0.8*	36.3 ± 6.6	40.5 ± 5.6

<sup>1</sup> 4 g of caecal contents and 16 ml of buffer per flask

<sup>2</sup> 4 rabbits from different litters

<sup>3</sup> Values corrected for amounts present before incubation

<sup>a</sup> Values in the same row with different superscripts differ significantly

\* Significantly different from the corresponding 24 h-value

II. Effect of rabbit milk on *in vitro* caecal fermentation. Means  $\pm$  standard errors

Parameter	Treatment <sup>1</sup>		
	-	rabbit milk <sup>2</sup>	positive control <sup>3</sup>
Total VFA <sup>4</sup> (μmol/flask)	2456 $\pm$ 56 <sup>a</sup>	1584 $\pm$ 20 <sup>b</sup>	4968 $\pm$ 35 <sup>c</sup>
Acetate (mol.%)	72.5 $\pm$ 20 <sup>a</sup>	44.4 $\pm$ 1.0 <sup>b</sup>	40.6 $\pm$ 0.9 <sup>b</sup>
Propionate (mol.%)	7.0 $\pm$ 0.3 <sup>a</sup>	6.1 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>	17.2 $\pm$ 0.5 <sup>b</sup>
Butyrate (mol.%)	15.0 $\pm$ 1.4 <sup>a</sup>	45.5 $\pm$ 0.8 <sup>b</sup>	23.7 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Valerate (mol.%)	1.6 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	3.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	7.3 $\pm$ 0.2 <sup>b</sup>
Isoacids (mol.%)	3.9 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 0.1 <sup>b</sup>	11.2 $\pm$ 0.1 <sup>c</sup>
Hydrogen (μmol/flask)	1.7 $\pm$ 0.1 <sup>a</sup>	10.2 $\pm$ 0.6 <sup>b</sup>	1.3 $\pm$ 0.2 <sup>a</sup>
Methane (μmol/flask)	489 $\pm$ 55 <sup>a</sup>	159 $\pm$ 24 <sup>b</sup>	307 $\pm$ 59 <sup>ab</sup>

<sup>1</sup> 3 flasks per treatment; incubation time: 24 h

<sup>2</sup> 4.8% (v/v)

<sup>3</sup> See Material and Methods for explanation

<sup>4</sup> Values corrected for amounts present before incubation

<sup>abc</sup> Values in the same row with different superscripts differ significantly ( $P < 0.05$ )

and the end (48 h) of incubation, respectively. Corresponding values for reducing sugars were 43.1 and 32.7 μmol/flask.

Rabbit milk added at 4.8% (v/v) decreased production of total VFA, acetate, propionate, isoacids and methane (Table II). No inhibitory effect of the mixture of the cow milk fat, casein and lactose (a positive control) was observed. Butyrate and valerate increased in treated cultures, presumably due to the milk fat lipolysis. Hydrogen gas accumulated in cultures containing rabbit milk fat, but not in controls.

Our *in vitro* experiments confirmed a fermentation shift from propionate to butyrate associated with the weaning, as also observed earlier by Piattoni *et al.* (1995, 1996). Furthermore, changes of the fermentation stoichiometry related to the weaning also include the decrease of acetate and isoacid molar proportions, and a temporary decrease of the 2H recovery. Fermentation shifts were more pronounced in caecal cultures incubated for 48 h than in those incubated for 24 h. The latter incubation time, used in previous studies (Piattoni *et al.*, 1996, 1997), seems to be more suitable, if we take into account the retention time of the digesta in the rabbit caecum: 11–14 h (see Gidenne, 1997). Longer incubation time (fasting *in vitro*), on the other hand, allows an insight into relationships of some important microbial groups. The increase of the 2H recovery in the second day of incubation suggests that the reductive acetogenesis was partially replaced by other hydrogen-consuming reactions, apparently by methanogenesis in rabbits producing methane, as also evidenced by the increase of the methane/VFA ratio. Piattoni *et al.* (1997) observed in *in vitro* experiment that caecal contents of fasted rabbits produced more methane, acetate and butyrate than caecal contents of rabbits fed *ad libitum* before slaughter. The authors concluded that the withdrawal of substrate by fasting inhibited the acetogenic bacteria. The addition of easily available substrate (starch) to fasted cultures, however, did not stimulate

acetogens, judging from 2H recovery values. In this study, fasting *in vitro* shifted a fermentation pattern from acetate to methane in spite of the fact that the concentration of soluble sugars (which can be utilized by some mixotrophic acetogens) was relatively stable. We suppose that soluble sugars were released continuously into the incubation fluid by a microbial hydrolysis of carbohydrate polymers. It is possible that the growth factor depletion by fasting rather than depletion of carbohydrate substrates inhibits bacteria involved in the reductive acetogenesis.

According to Smith (1965), suckling rabbits are unique amongst animal species (7 species examined) in that the contents of the stomach and small intestine were often almost completely sterile. Canas-Rodriguez and Smith (1966) found in the rabbit milk fat antimicrobials identified as octanoic and decanoic acids. It is shown in this paper that the rabbit milk at 4.8% inhibited the caecal fermentation *in vitro*. Corresponding *in vivo* effect remains uncertain as milk fat is well digested in the small intestine (Parigi-Bini *et al.*, 1991). An alternative explanation for fermentation shifts after weaning is the change in the substrate composition, and sequential colonization of the caecum by various groups of microorganisms.

#### Acknowledgement

The authors are grateful to the European Training Foundation for an individual mobility grant to Dr. Milan Marounek and to the Grant Agency of the Czech Republic for a partial support of his stay in Gent (project No. 524/97/1306). The authors also wish to thank Cypriel Vermander for the skilful assistance.

#### REFERENCES

Burroughs W. N., Frank A., Gerlaugh P., Bethke R. M. (1950): Preliminary observations upon factors influencing

- cellulose digestion by rumen microorganisms. *J. Nutr.*, **40**: 9–24.
- Canas-Rodriguez A., Smith H. W. (1966): The identification of the antimicrobial factors of the stomach content of suckling rabbits. *Bioch. J.*, **10**: 79–82.
- Gidenne T. (1997): Caeco-colic digestion in the growing rabbit: impact of nutritional factors and related disturbances. *Livestock Prod. Sci.*, **51**: 73–88.
- Gouet P., Fonty G. (1979): Changes in the digestive microflora of holoxenic rabbits from birth until adulthood. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, **19**: 553–566.
- Herbert D., Phipps P. J., Strange R. E. (1971): Chemical analysis of microbial cells. In: Norris J. R., Ribbons D. W. (eds.): *Methods in Microbiology*. Vol. 5B. London, Academic Press: 209–344.
- Kocková-Kratochvílová A. (1990): Taxonómia kvasiniek a kvasinkovitých mikroorganizmov (Taxonomy of yeasts and yeast-like microorganisms). Bratislava, Alfa: 134–135.
- Marounek M., Fievez V., Mbanzamihigo L., Demeyer D., Maertens L. (1999): Age and incubation time effects on *in vitro* caecal fermentation pattern in rabbits before and after weaning. *Arch. Anim. Nutr.*, **52**: 195–201.
- Marty R. J., Demeyer D. I. (1973): The effect of inhibitors of methane production on fermentation pattern and stoichiometry *in vitro* using rumen contents from sheep given molasses. *Br. J. Nutr.*, **30**: 369–376.
- Parigi-Bini R., Xiccato G., Cinetto M., Zotte A. D. (1991): Efficienza digestiva e ritenzione energetica e proteica dei coniglietti durante l'allattamento e lo svezzamento. *Zoot. Nutr. Anim.*, **17**: 167–180.
- Piattoni F., Demeyer D. I., Maertens L. (1996): *In vitro* study of the age-dependent caecal fermentation pattern and methanogenesis in young rabbits. *Reprod. Nutr. Dev.*, **36**: 253–261.
- Piattoni F., Demeyer D., Maertens L. (1997): Fasting effects on *in vitro* fermentation pattern of rabbit caecal contents. *Wild. Rabbit Sci.*, **5**: 23–26.
- Piattoni F., Maertens L., Demeyer D. (1995): Age dependent variation of caecal contents composition of young rabbits. *Arch. Anim. Nutr.*, **48**: 347–355.
- Smith H. W. (1965): The development of the flora of the alimentary tract of young animals. *J. Path. Bact.*, **90**: 495–513.
- Somogy M. (1952): Notes on sugar determination. *J. Biol. Chem.*, **195**: 19–23.
- Straw T. E. (1988): Bacteria of the rabbit gut and their role in the health of the rabbit. *J. Appl. Rabbit Res.*, **11**: 142–150.

Received for publication on October 23, 1998

Accepted for publication on January 21, 1999

**Contact Address:**

Doc. Ing. Milan Marounek, DrSc., Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, Přátelství 560, Praha 10-Uhřetěves, Česká republika, tel.: 02/67 71 17 30, fax: 02/67 71 08 03

**Nejčerstvější informace o časopiseckých článcích  
poskytuje automatizovaný systém**

**Current Contents**

**na disketách**

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna odebírá časopis „**Current Contents**“ řadu „**Agriculture, Biology and Environmental Sciences**“ a řadu „**Life Sciences**“ na disketách. Řada „Agriculture, Biology and Environmental Sciences“ je od roku 1994 k dispozici i s abstrakty. Obě tyto řady vycházejí 52krát ročně a zahrnují všechny významné časopisy a pokračovací sborníky z uvedených oborů.

Uložení informací z Current Contents na disketách umožňuje nejrozmanitější referenční služby z prakticky nejčerstvějších literárních pramenů, neboť báze dat je **doplňována každý týden** a neprodleně expedována odběratelům. V systému si lze nejen prohlížet jednotlivá čísla Current Contents, ale po přesném nadefinování sledovaného profilu je možné adresně vyhledávat informace, tisknout je nebo kopírovat na disketu s možností dalšího zpracování na vlastním počítači. Systém umožňuje i tisk žádanek o separát apod. Kumulované vyhledávání v šesti číslech Current Contents najednou velice urychluje rešeršní práci.

**Přístup k informacím Current Contents je umožněn dvojím způsobem:**

- 1) Zakázkový přístup** – po vyplnění příslušného zakázkového listu (objednávky) je vhodný především pro mimopražské zájemce.  
Finanční podmínky: – použití PC – 15 Kč za každou započatou půlhodinu  
– odborná obsluha – 10 Kč za 10 minut práce  
– vytištění rešerše – 1,50 Kč za 1 stranu A4  
– žádanky o separát – 1 Kč za 1 kus  
– poštovné + režijní poplatek 15 %
- 2) „Self-service“** – samoobslužná práce na osobním počítači v ÚZLK.  
Finanční podmínky jsou obdobné. Vzhledem k tomu, že si uživatel zpracovává rešerši sám, je to maximálně úsporné. (Do kalkulace cen nezapočítáváme cenu programu a databáze Current Contents.)

V případě Vašeho zájmu o tyto služby se obraťte na adresu:

**Ústřední zemědělská a lesnická knihovna**

Dr. Bartošová

Slezská 7

120 56 Praha 2

Tel.: 02/24 25 79 39, l. 520, fax: 02/24 25 39 38

Na této adrese obdržíte bližší informace a získáte formuláře pro objednávku zakázkové služby. V případě „self-servisu“ je vhodné se předem telefonicky objednat. V případě zájmu je možné si objednat i průběžné sledování profilu (cena se podle složitosti zadání pohybuje čtvrtletně kolem 100 až 150 Kč).

# USE OF GRAIN AMARANTH (*AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS*) FOR FEED AND ITS EFFECT ON RUMEN FERMENTATION *IN VITRO*\*

## VYUŽITIE AMARANTOVÝCH ZŔŇN (*AMARANTHUS HYPOCHONDRIACUS*) AKO KRMIVA A ICH VPLYV NA BACHOROVÚ FERMENTÁCIU *IN VITRO*

D. Jalč, M. Baran, P. Siroka

*Institute of Animal Physiology Slovak Academy of Sciences, Košice, Slovak Republic*

**ABSTRACT:** Grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) was used as a partial substitute for barley in diets fermented in an artificial rumen (Rusitec). Four fermenters ( $V_1, V_2, V_3, V_4$ ) were inoculated with rumen fluid and digesta from Slovak merino sheep with a ruminal cannula, fed a diet of 80% hay and 20% barley. The diet in  $V_1$  (control) consisted of hay (80%) and barley (20%), 5% of the barley was replaced by grain amaranth in  $V_2$ , 10% in  $V_3$  and 20% in  $V_4$ . The experiment lasted 12 days; 6 days for adaptation and 6 days for sample collection. All diets contained the same amount of nitrogen (13% crude protein). Dry matter, organic matter and cellulose digestibility were not affected and detergent fibre (NDF, ADF, hemicellulose) degradation was lower ( $P < 0.05$ ) for fermentation of experimental diets ( $V_2, V_3, V_4$ ) than for the control ( $V_1$ ). Total gas production, methane and  $\text{NH}_3\text{-N}$  production were similar for all diets. Total VFA and acetate productions were not affected and propionate, n-butyrate productions ( $\text{mmol}\cdot\text{day}^{-1}$ ) were slightly lower for all experimental diets than for the control diet. Molar proportions of VFA (mol%) were changed by increases in acetate, n-butyrate ( $V_4$ ) and n-valerate ( $V_2$ ) and a decrease in propionate ( $V_2, V_4$ ). The energetic efficiency of VFAs was significantly lower in  $V_4$ . Microbial yield ( $N_m/\text{OMF}$ ) was similar in  $V_2$  or slightly lower in  $V_3, V_4$  than in  $V_1$ . Thus, grain amaranth partially substituted for ground barley in ruminant diets *in vitro*.

**Keywords:** amaranth grains; rumen fermentation; artificial rumen; barley substitution

**ABSTRAKT:** Amarantové zrná (*Amaranthus hypochondriacus*) boli použité ako čiastočná náhrada jačmeňa v diétach fermentovaných v umelom bachore (Rusitec). Štyri fermentory ( $V_1, V_2, V_3, V_4$ ) boli inokulované bachorovou tekutinou a tuhým bachorovým obsahom získaným z fistulovaných oviec plemena slovenské merino kŕmených diétou pozostávajúcou z 80 % sena a 20 % jačmeňa. Diéta vo  $V_1$  (kontrola) obsahovala seno (80 %) a jačmeň (20 %). Amarantovými zrnami bolo nahradené 5 % jačmeňa vo  $V_2$ , 10 % jačmeňa vo  $V_3$  a 20 % jačmeňa vo  $V_4$ . Experiment trval 12 dní, z toho 6 dní trvala adaptačná perióda. Všetky diéty boli izonitrogénne (13 % hrubého proteínu). Stráviteľnosť sušiny, organickej hmoty a celulózy neboli ovplyvnené a degradabilita detergentnej vlákniny (NDF, ADF, hemicelulóza) bola nižšia ( $P < 0.05$ ) pri fermentácii experimentálnych diét ( $V_2, V_3, V_4$ ) v porovnaní ku kontrole ( $V_1$ ). Celková produkcia plynov, metánu a amoniakálneho dusíka bola podobná u všetkých diét. Celková produkcia unikavých mastných kyselín (UMK) a produkcia kyseliny octovej neboli ovplyvnené a produkcia kyseliny propiónovej a n-maslovej ( $\text{mmol}\cdot\text{deň}^{-1}$ ) bola mierne nižšia u všetkých experimentálnych diét v porovnaní ku kontrolnej diéte. Molárne proporcie UMK (mol%) boli zmenené, a to zvýšením molárneho podielu kyseliny octovej, n-maslovej ( $V_4$ ) a n-valérovej ( $V_2$ ) a poklesom kyseliny propiónovej ( $V_2, V_4$ ). Energetická účinnosť UMK bola signifikantne znížená pri  $V_4$ . U experimentálnych diét ( $V_3, V_4$ ) bol zistený málo významný pokles ( $P < 0.05$ ) inkorporácie mikrobiálneho dusíka ( $N_m$ ). Mikrobiálna výťažnosť ( $N_m/\text{OMF}$  – fermentovaná organická hmota) bola nezmenená ( $V_2$ ), resp. o málo nižšia ( $V_3, V_4$ ) oproti kontrolnej diéte. Výsledky tohto experimentu naznačujú, že amarantové zrná len čiastočne nahradili jačmeň v diétach prežúvavcov v podmienkach *in vitro*.

**Kľúčové slová:** amarantové zrná; bachorová fermentácia; umelý bachor; náhrada jačmeňa

\* This research was supported by funds from the Grant Agency for Science of the Slovak Academy of Sciences.

## INTRODUCTION

The nutritional value of cereal proteins is usually estimated by lysine content. Wheat, a major cereal crop, is deficient in the essential amino acid lysine. Diets containing wheat must therefore be fortified with non-wheat proteins, such as those from soybean or peanut. Grain amaranth is a novel source of proteins to fortify cereal protein. It has a high protein content with high concentrations of lysine, tryptophan and methionine (Bressani *et al.*, 1987). Amaranth grows rapidly and yields of 0.5 to 0.6 tonnes of seed per ha are produced (Hindley, 1979). Grain amaranth proteins (14–20% protein content) are highly nutritious and consist of easily digested albumins and globulins (more than 50% of total protein) (Zheleznov *et al.*, 1997). Three species of the genus *Amaranthus* produce edible seeds: *Amaranthus caudatus*, *Amaranthus cruentus* and *Amaranthus hypochondriacus* (Ravindran *et al.*, 1996). Grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) has been used as a dietary component for rabbits (Reddy, Reddy, 1993), rats (Fadel *et al.*, 1996), and broiler chickens (Ravindran *et al.*, 1996). Green, ensiled and pelleted amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) has been used in cattle feed (Skultéty *et al.*, 1991) and amaranth straw for lambs (Sanchez *et al.*, 1988).

The aim of this paper was to study the use of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) as a partial substitute for barley in ruminant diets fermented in an artificial rumen (Rusitec) and to compare the fermentation characteristics of control (80% hay + 20% barley) and experimental diets in which barley was replaced by 5%, 10% and 20% of amaranth grains.

## MATERIAL AND METHODS

The rumen simulation technique (Rusitec), as described by Czerkawski and Breckenridge (1997), was used. Rusitec was equipped with four fermentation vessels ( $V_1$ – $V_4$ ), each with a nominal capacity of 850 ml. Inoculum was obtained from 3 ruminally cannulated Slovak merino wethers fed 1.2 kg.day<sup>-1</sup> a diet of 80% orchardgrass hay and 20% ground barley. Ruminal fluid was collected and filtered through four layers of cheesecloth. The fermentation vessels were filled with 500 ml filtered rumen fluid, 350 ml McDougall's buffer artificial saliva, 80–100 g wet solid rumen digesta and 16 g (14.8 g DM) of diet. Digesta and diets were placed in nylon bags (70 x 120 mm with pore size of 200  $\mu$ m). The digesta bag was replaced by a feed bag after 24 h. Artificial saliva (Mc Dougall, 1948) was infused continuously into the fermentation vessels at a rate of 820–870 ml.day<sup>-1</sup>. The pH of the ruminal fluid in each vessel was measured daily during feed bag exchange.

A basal diet consisting of 80% orchardgrass (*Dactylis glomerata*) hay and 20% barley (*Hordeum vulgare*) grain was prepared. Hay was cut (1–2 cm length) and barley was ground through a 3 mm screen. The

ground barley was then sieved and particles passing through a 2.0-mm screen, but retained by a 1.0-mm screen were used. The basal diet was fermented in fermentation vessel  $V_1$  and experimental diets in  $V_2$ ,  $V_3$  and  $V_4$ . The *Amaranthus hypochondriacus* grains used in this study contained 170.3 g.kg<sup>-1</sup> crude protein; 40.7 g.kg<sup>-1</sup> ash; 216.0 g.kg<sup>-1</sup> NDF; 55.0 g.kg<sup>-1</sup> ADF; 48.0 g.kg<sup>-1</sup> cellulose; 161.0 g.kg<sup>-1</sup> hemicellulose; 7.9 g.kg<sup>-1</sup> lignin. The grains were lenticular, brownish in colour, and 1.4 x 1.2 mm in size. Grain amaranth was used as a partial substitute – 5% ( $V_2$ ), 10% ( $V_3$ ), 20% ( $V_4$ ) for ground barley (Table I). We ensured that all diets contained 13% crude protein (CP) by adding 219.9 mg ( $V_1$ ); 217.5 mg ( $V_2$ ); 215.0 mg ( $V_3$ ) and 210.5 mg ( $V_4$ ) mg of urea dissolved in 1 l of McDougall's buffer (Mc Dougall, 1948).

I. Ingredients, chemical composition and daily input of diets (% DM)

Item	Diet			
	Vessel 1	Vessel 2	Vessel 3	Vessel 4
Orchard grass hay (g)	12.8	12.8	12.8	12.8
Ground barley (g)	3.2	3.04	2.88	2.56
Amaranth grains (g)	–	0.16	0.32	0.64
Chemical composition (% dry matter)				
Organic matter	95.21	95.18	95.16	95.23
Crude protein	9.58	9.63	9.66	9.73
NDF	62.02	62.01	62.01	62.0
ADF	32.91	33.12	33.33	33.78
Hemicellulose	29.10	28.87	28.67	28.20
Cellulose	23.88	23.91	23.94	24.0
Lignin	8.99	9.01	9.03	9.08

$V_1$  – hay (80%) + barley (20%);  $V_2$  – 5%;  $V_3$  – 10%;  $V_4$  – 20% of barley replaced by amaranth grains

The experimental period (12 days) consisted of a 6-day adaptation period followed by a 6-day collection period. The general incubation and preparation of samples for analysis were as described by Czerkawski and Breckenridge (1977). Dry matter, ash and crude protein in feed and undigested feed samples (residues) were determined by Association of Official Analytical Chemists methods (Horowitz, 1980).

The neutral detergent fiber (NDF) and acid detergent fiber (ADF) content of samples was determined as described by Goering and Van Soest (1970). Hemicellulose was determined as the difference between NDF and ADF contents. Cellulose was calculated as the difference between ADF and lignin contents. Liquid effluent was analysed for volatile fatty acid (VFA) concentrations by gas chromatography (Cottyn, Boucque, 1968) using crotonic acid as the internal standard in a Perkin-Elmer gas chromatograph. Effluent was also analysed for total nitrogen by the Kjeldahl method and

for ammonia by the microdiffusion method (Conway, 1962). The volume of gas produced was measured with a gas meter and methane gas was analysed in Perkin-Elmer 8500 gas chromatograph as described by Czerkawski and Clapperton (1968). Nitrogen incorporated by the microflora ( $N_m$ ) was estimated by the difference between total N (liquid overflow + bag feed residue) and  $NH_3$  plus urea N:  $N_m = N_t - (N_{NH_3} + N_{urea})$  (mg/day) and microbial yield =  $N_m/OMF$  (mg/g) (Alves de Oliveira *et al.*, 1997). The other fermentation variables – energetic efficiency of VFAs (Orskov *et al.*, 1968), fermented hexose, organic matter fermented – OMF (Van Nevel, Demeyer, 1977a, b), production, utilization and recovery of hydrogen (Demeyer, 1991) were calculated from the stoichiometry of rumen fermentation.

Means of results from treatments were compared with one-way analysis of variance (ANOVA). Treatment means were separated using Duncan's multiple-range test at the 5% level of probability.

## RESULTS AND DISCUSSION

The chemical composition of individual diets was similar (Table I). The differences between amaranth grains and barley were in nitrogen and ash contents (%) – 2.72 vs. 2.07 and 4.07 vs. 2.5 used in this experiment. Amaranth grains contain 14–20% protein and high concentrations of essential amino acids, especially lysine, the concentration of which is about 1.6 times higher than that of barley. Amaranth grains contain lower amounts of other amino acids (leucine, isoleucine, threonine, tryptophan, valine) than barley (Dodok *et al.*, 1996).

The fermentation of diets containing amaranth grains in  $V_2$ ,  $V_3$  and  $V_4$  resulted in slightly lower levels of dry matter (DM) and organic matter (OM) digestion. This decrease (2.5–3.0 units) was not significant. NDF, ADF and hemicellulose digestion was also reduced mainly in  $V_2$  and  $V_3$  (Table II). Cellulose digestion was unaffected. Therefore, the nutrients in grain amaranth were utilized to a lesser extent than those in barley. The pH in the experimental fermenters ( $V_2$ ,  $V_3$ ) was between 6.85 and 6.89 and differed from the pH in the control fermenter ( $V_1$ ).

The  $NH_3$ -N pool produced by degradation of urea in saliva and feed nitrogen is the main source of nitrogen used by bacteria for protein synthesis. A nonsignificant decrease in the pool of  $NH_3$ -N (Table II) in experimental diets resulted from these being less nitrogen in effluent and more nitrogen in residues (undigested feed samples) for experimental diets. It was identified by the nitrogen balance determination in this experiment.  $NH_3$ -N concentration depends on ammonia use and release by the microbial population (Mansfield *et al.*, 1995).

Rumen metabolism results in a fermentation pattern defined by the following factors: the amount and molar proportions of VFAs produced, the amount of methane formed and organic matter fermented (OMF), the

II. Effect of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) on dry matter, organic matter and detergent fiber degradability (%) in Rusitec

	Diet				SEM
	$V_1$	$V_2$	$V_3$	$V_4$	
Degradability (%)					
Dry matter	55.04	51.56	52.10	51.94	1.13
Organic matter	56.09	52.30	52.83	52.98	1.13
NDF	40.92	38.39	35.53	39.07	1.44
ADF	34.25 <sup>bc</sup>	26.65 <sup>d</sup>	28.88	31.96	1.64
Hemicellulose	48.41 <sup>c</sup>	51.94 <sup>c</sup>	42.62	47.52	1.25
Cellulose	26.65	27.23	30.89	29.20	1.74
pH	6.92 <sup>bc</sup>	6.85	6.86	6.89	0.02
$NH_3$ -N (mg.l <sup>-1</sup> )	134.08	97.78	110.90	125.03	9.94

$V_1$  – hay (80%) + barley (20%);  $V_2$  – 5%;  $V_3$  – 10%;  $V_4$  – 20% of barley replaced by amaranth grains

Average and standard error mean (SEM) of six replicates. Values in a row with different postscript letters (a, b, c) differ at  $P < 0.05$

amount of microbial matter synthesized and the efficiency of this anabolic process (Demeyer, Van Nevel, 1986). All these factors were determined in this experiment using Rusitec. The concentrations of total VFAs and acetate were not affected and propionate, n-butyrate (mmol.day<sup>-1</sup>) productions were slightly lower for the fermentation of experimental diets (Table III). Molar proportions (mol%) of acetate, n-butyrate, isobutyrate and n-valerate were higher and the mol% of propionate lower, particularly for fermentation of the experimental diet in  $V_4$ , and to a lesser extent of that in  $V_2$  (Table III).

Total gas production (l.day<sup>-1</sup>) and methane production (mmol.day<sup>-1</sup>) were similar for all diets. There was a negative relationship between methane and propionate production due to the bacterial interspecies transfer of metabolic hydrogen (Wolin, 1975). The correlation coefficients for these relationships represent the values for  $V_1$  (-0.019);  $V_2$  (-0.042);  $V_3$  (0.663);  $V_4$  (0.884) respectively (correlation coefficient significance in  $V_4$ , only). The other fermentation characteristics were calculated from the stoichiometric relationships of rumen fermentation. The energetic efficiency of VFAs was slightly lower for fermentation of experimental diets, mainly in  $V_4$  ( $P < 0.01$ ) reflecting the proportions (mol%) of propionate and butyrate in „amaranth“ diets (Table IV). There were also lower levels of OMF (g.day<sup>-1</sup>) and fermented hexose (mmol.day<sup>-1</sup>) in all experimental diets in comparison to control diet. The production, utilization (mmol.day<sup>-1</sup>) and recovery of metabolic hydrogen (%) were similar for all diets.

Microbial metabolism in the rumen plays a key role in digestion, and the efficiency of microbial conversions determines the overall efficiency of feed use by ruminants (Van Nevel, Demeyer, 1996). Microbial protein synthesis was estimated by microbial nitrogen incorporation –  $N_m$ , with the  $N_m/OMF$  ratio determining the protein synthesis yield. These microbial protein

### III. Effect of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) on volatile fatty acid (VFA) and gas production in Rusitec

	Diet				SEM
	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	
<i>mmol.day<sup>-1</sup></i>					
Total VFA production	48.82	45.99	46.43	47.27	0.86
Acetate	28.19	26.69	27.09	27.73	0.49
Propionate	12.66 <sup>b,d</sup>	11.36	11.95	11.31	0.27
Butyrate	4.90 <sup>b,c</sup>	4.54	4.51	5.15 <sup>b,c</sup>	0.08
A/P ratio	2.28	2.35	2.27	2.45 <sup>a,c</sup>	0.03
<i>Molar %</i>					
Acetate	57.75 <sup>d</sup>	58.04	58.20	58.67	0.17
Propionate	25.93 <sup>b,d</sup>	24.91 <sup>d</sup>	25.73 <sup>d</sup>	23.92	0.23
Butyrate	10.03	9.88	9.73	10.90 <sup>a,b,c</sup>	0.10
Iso-butyrate	0.81	0.87	0.79	1.04	0.03
Valerate	2.77	3.07 <sup>c,d</sup>	2.73	2.56	0.08
Iso-valerate	1.56	1.84	1.60	1.67	0.10
Total gas (l.day <sup>-1</sup> )	3.26	3.47 <sup>c</sup>	3.08	3.33 <sup>c</sup>	0.08
Methane (mmol.day <sup>-1</sup> )	7.88	8.85	8.17	8.68	0.31

V<sub>1</sub> – hay (80%) + barley (20%); V<sub>2</sub> – 5%; V<sub>3</sub> – 10%; V<sub>4</sub> – 20% of barley replaced by amaranth grains

Average and standard error mean (SEM) of six replicates. Values in a row with different postscript letters (a, b, c) differ at  $P < 0.05$

### IV. Effect of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) on stoichiometric parameters of rumen fermentation in Rusitec

	Diet				SEM
	V <sub>1</sub>	V <sub>2</sub>	V <sub>3</sub>	V <sub>4</sub>	
E %	77.0 <sup>d</sup>	76.63 <sup>d</sup>	76.87 <sup>d</sup>	76.27	0.08
OMF (g.day <sup>-1</sup> )	4.32	4.04	4.09	4.19	0.07
Fermented hexose (mmol.day <sup>-1</sup> )	25.32	23.56	24.02	24.67	0.43
<i>Hydrogen balance</i>					
Production (mmol.day <sup>-1</sup> )	92.83	87.41	88.14	91.36	1.55
Utilization (mmol.day <sup>-1</sup> )	67.97	68.61	66.86	68.83	1.68
Recovery (%)	73.22	78.58	75.83	75.32	1.45
N <sub>m</sub> (mg.day <sup>-1</sup> )	116.17	103.81	78.17 <sup>a</sup>	95.84 <sup>d</sup>	9.42
N <sub>m</sub> /OMF (mg/g)	26.88	25.69	19.10 <sup>a</sup>	22.87 <sup>d</sup>	2.26

E – energetic efficiency of VFA's, OMF – organic matter fermented, N<sub>m</sub> – nitrogen incorporated by microflora. V<sub>1</sub> – hay (80%) + barley (20%); V<sub>2</sub> – 5%; V<sub>3</sub> – 10%; V<sub>4</sub> – 20% of barley replaced by amaranth grains

Average and standard error mean (SEM) of six replicates. Values in a row with different postscript letters (a, b, c) differ at  $P < 0.05$

synthesis parameters were significantly lower in V<sub>3</sub> and V<sub>4</sub>. The lower levels of microbial nitrogen production and lower pH values with experimental diets may be due to lower microbial efficiency (Demeyer, Van Nevel, 1986).

Thus, our results show that grain amaranth can partially, but not fully, substitute for ground barley in diets. The fermentation of experimental diets was characterised by lower levels of detergent fiber digestion and less intensive rumen metabolism with lower levels of production of total and individual VFAs, and lower energetic efficiency of VFAs than the control. Amaranth grains contain anti-nutritional factors mainly phenols which are heat-labile and can be destroyed by

moist-heat treatment (Tillman, Waldroup, 1986). The more extensive replacement of barley in ruminant diets by grain amaranth (after heat treatment) will be studied in the artificial rumen.

### REFERENCES

- Alves de Oliveira L., Jean-Blain C., Komisarczuk-Bony S., Durix A., Durier C. (1997): Microbial thiamin metabolism in the rumen simulating fermenter (Rusitec): the effect of acidogenic conditions, a high sulfur level and added thiamin. *Brit. J. Nutr.*, 78: 599–613.

- Bressani R., Conzales J. M., Zuniga J., Breuner M., Elias L. G. (1987): Yield of amaranth grain representing four species. *J. Sci. Food Agric.*, **38**: 347–356.
- Conway E. J. (1962): *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*. 5th ed. London, UK, Crosby Lockwood.
- Cottyn B. G., Boucque C. V. (1968): Rapid method for the gas chromatographic determination of volatile fatty acids in rumen fluid. *J. Agric. Food Chem.*, **16**: 105–107.
- Czerkawski J. W., Breckenridge G. (1977): Design and development of a long-term rumen simulation technique (Rusitec). *Brit. J. Nutr.*, **38**: 371–384.
- Czerkawski J. W., Clapperton J. L. (1968): Analysis of gas produced metabolism of microorganisms. *Lab. Pract.*, **17**: 994–996.
- Demeyer D. I. (1991): Quantitative aspects of microbial metabolism in the rumen and hindgut. In: Jouany J. P. (ed.): *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. Paris, INRA Editions: 217–237.
- Demeyer D.I., Van Nevel C. (1986): Influence of substrate and microbial interaction on efficiency of rumen microbial growth. *Reprod. Nutr. Dev.*, **26**: 161–179.
- Dodok L., Modhir A. A., Buchtová V., Halasová G., Poláčik I. (1997): Importance and utilization of amaranth in food industry. Part 2. Composition of amino acids and fatty acids. *Nahrung*, **41**: 108–110.
- Fadel J. G., Pond W. G., Harrold R. L., Calvert C. C., Lewis B. A. (1996): Nutritive value of three amaranth grains fed either processed or raw to growing rats. *Can. J. Anim. Sci.*, **76**: 253–257.
- Goering H. K., Van Soest P. J. (1970): *Forage Fiber Analyses*. Agriculture Handbook No 379. USDA, Washington DC, USA: 1–20.
- Hindley K. (1979): Aztec's winning crop – amaranth. *Farmers Weekly*, **21**: 109–111.
- HOROWITZ W. (1980): *Official Methods of Analysis*. 13th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC, USA.
- Mansfield H. R., Endres M. I., Stern M. D. (1995): Comparison of microbial fermentation in the rumen of dairy cows and dual flow continuous culture. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **55**: 47–66.
- McDougall E. J. (1948): Studies on rumen saliva. I. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.*, **43**: 99–109.
- Orskov E. R., Flatt W. P., Moe P. W. (1968): Fermentation balance approach to estimate extent of fermentation and efficiency of VFA fermentations in ruminants. *J. Dairy Sci.*, **51**: 1429–1435.
- Ravindran V., Hood R. L., Gill R. J., Kneale C. R., Bryden W. L. (1996): Nutritional evaluation of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) in broiler diets. *Anim. Feed Sci. Technol.*, **63**: 323–331.
- Reddy K. J., Reddy M. B. (1993): Preliminary studies of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) seed as a component of rabbit rations. *Livestock-Adviser*, **18**: 27–31.
- Sanchez J. M. C., Villagran E. R., Munoz S. G. (1988): Effect of nutrition level and amount of amaranth straw (*Amaranthus hypochondriacus* L.) on the *in vivo* digestibility of complete diets for lambs. *Veterinaria-Mexico*, **19**: 335–339.
- Škultéty M., Škultétyová N., Bencová E. (1991): Dry matter, intake and digestibility of nutrients of green, ensiled and granulated amaranth. *Živoč. Vyr.*, **36**: 793–798.
- Tillman P. B., Waldroup P. W. (1986): Processing grain amaranth for use in broiler diets. *Poultry Sci.*, **65**: 1960–1964.
- Van Nevel C. J., Demeyer D. I. (1996): Control of rumen methanogenesis. *Environ. Monit. Assess.*, **42**: 73–97.
- Van Nevel C. J., Demeyer D. I. (1977a): Effect of monensin on rumen metabolism *in vitro*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**: 251–257.
- Van Nevel C. J., Demeyer D. I. (1977b): Determination of rumen microbial growth *in vitro* from <sup>32</sup>P-labelled phosphate incorporation. *Brit. J. Nutr.*, **38**: 101–114.
- Wolin M. J. (1975): Interactions between the bacterial species of the rumen. In: McDonald I. W., Warner A. C. I. (eds.): *Digestion and Metabolism in Ruminants*. Armidale, N.S.W., Australia, University of New England: 134–148.
- Zheleznov A. V., Solonenko L. P., Zheleznova N. B. (1997): Seed proteins of the wild and the cultivated amaranthus species. *Euphytica*, **97**: 177–182.

Received for publication on August 31, 1998

Accepted for publication on January 21, 1999

*Contact Address:*

MVDr. Dušan Jalč, CSc., Ústav fyziológie hospodárskych zvierat SAV, Šoltésovej 4–6, 040 01 Košice, Slovenská republika, tel.: 421 95/633 62 51, fax: 421 95/76 21 62

## ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna (ÚZLK)

Slezská 7, 120 56 Praha 2, tel.: 02/24 25 79 39, fax: 02/24 25 39 38

---

Máte zájem o pravidelné sledování nejčerstvějších informací ze zahraničních odborných časopisů?

Tento požadavek Vám rádi splníme, objednáte-li si naši informační reprografickou službu „Obsahy zahraničních časopisů“ a články typu „Current Contents“.

Vyberete-li si z každoročně aktualizovaného **Seznamu časopisů objednaných do fondu ÚZLK** sledování nejzajímavějších časopisů z Vašeho oboru, zašleme Vám nejprve kopie obsahů nejčerstvějších čísel časopisů a na základě výběru kopie požadovaných článků.

Chtěli bychom Vás také upozornit na další reprografickou službu ÚZLK, a to na poskytování kopií článků z knih a časopisů, které jsou ve fondu ÚZLK. Požadavky na tyto kopie můžete uplatňovat v průběhu celého roku na formulářích „Objednávka reprografické práce“, které si můžete objednat v Technickém ústředí knihoven, Solniční 12, 601 74 Brno, pod katalog. č. TÚK 138-0.

Veškeré další informace a objednávky na reprografické služby včetně Vašich připomínek Vám poskytneme na adrese:

Ústřední zemědělská a lesnická knihovna – ÚZPI

Odd. reproslužeb

Slezská 7, 120 56 Praha 2

Poštovní schránka 39

Telefonické dotazy: 02/24 25 79 39, linka 329, 421 nebo 306

# HOSPODÁŘSKÉ ASPEKTY ZKRMOVÁNÍ ZRNA BEZPLUCHÉHO OVSA\*

## ECONOMIC ASPECTS OF FEEDING HULL-LESS OAT GRAIN

K. Vaculová<sup>1</sup>, J. Heger<sup>2</sup>, F. Macháň<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kroměříž Agricultural Research Institute, s.r.o., Kroměříž, Czech Republic

<sup>2</sup>Biofaktory Praha, s.r.o., Brno workplace, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** Selected materials of hull-less oat (Abel variety, new lines KM 187, KM 191 and KM 195) and spring barley (Tolar and Krona varieties) were grown in field conditions of the Kroměříž Agricultural Research Institute, s.r.o., in 1994–1996; their grain was examined by chemical analyses and tested in the company Biofaktory Praha, s.r.o., in metabolic experiments on laboratory sewer-rats. These parameters were investigated: grain yield (t/ha), grain weight (TGW in g), nutrient content in grain – starch, proteins (P), fat, fatty acids (FA), beta-glucans (BG), lysine – all components in g/kg, and lysine in P (g/16 g N). The following indicators of grain feeding value were determined by metabolic experiments or by calculations: gross energy and digestible energy contents (GE and DE in MJ/kg), coefficients of energy apparent digestibility and nitrogen true digestibility (CED and CTD in %), indicators of protein biological value (PBV) and net protein utilization (NPU), nitrogen balance (NB, mg/day), protein efficiency ratio (PER in %) and content of utilizable protein (UP in g/kg). The variability of protein, starch and fat contents and of most parameters of feeding values of oat and barley grain was low; high variability was determined in lysine content and concentrations in barley (coefficient of variation = 32.3% and 42.4%, respectively) and in fiber content in oats (29.3%). In general, variability of metabolic parameters was lower than that of nutrients and commercial parameters. Barleys outyielded oats in average grain yield (by 29.6%), TGW (by 47%) and fiber content (by 35.3%). The two species did not basically differ in lysine concentrations in proteins (4.18% in oats and 4.02% in barley) and in average starch content (598.4 g/kg in oats, 599 g/kg in barley). Oats had higher contents of fat (by 74.1%), proteins (13.5%), lysine in grain dry matter (18.8%), beta-glucans (BG – 15.6%), and higher values of all evaluated indicators of grain feeding value, namely of utilizable protein (UP 21.1%, Tables I and IV). Statistically significant differences were determined between the hull-less oat types in commercial traits (yield and TGW), protein content, lysine concentration, fat and starch contents and most indicators of grain feeding value. Abel variety had lysine content higher by 9–14% than the new lines of hull-less oats, its fiber content was lower by 41.5–48.9% while BG content was significantly higher. The characteristics of Abel variety resulted in the statistically significantly higher level of CED (94.22%) in comparison with the lines KM 191 and KM 195, and in the significantly higher content of DE (17.13 MJ/kg) in comparison with the new line KM 195 (Tables II and V). The new line of hull-less oat KM 195 had a statistically significantly different content of palmitic acid from that of KM 191 and of oleic acid from that of Abel variety (Table III). An increase in polyunsaturated FA contents, accompanying growing fat contents, was observed in all hull-less oats ( $y = -3.71 + 0.488x$  – Fig. 2). Comparison of nutrient and energy production per unit area showed that hull-less oats had statistically significantly higher fat yields than barleys (by 229.6 kg/ha, i.e. on average by about 63%) while no significant differences were confirmed either in lysine production or in UP between the two species. But barleys had statistically significantly higher starch yields (by 36%), and higher fiber content in grain. Tolar variety showed higher production of proteins and digestible energy while Krona had significantly different parameters only from the KM 195 line of hull-less oats even though absolute values of these parameters were high. Calculations of correlation relations indicated that neither grain yield nor TGW had statistically significant negative effects on the other parameters in oats (Table VII). An insignificant relations was determined between protein content and related balance parameters – CTD and CED. Negative relations of different intensity were observed between protein content and other parameters while the relation between the indicators of grain feeding value and proteins was closest in PBV ( $r = -0.75^{**}$ ) and NPU ( $r = -0.67^{**}$ ). A positive effect of increased protein content was determined in the derived indicator UP ( $r = 0.84^{**}$ ). Similarly like in the case of proteins, increased fiber content had negative effects on all other parameters while the relation with CTD was closest ( $r = -0.76^{**}$ ). A significant regression relation ( $y = 96.23 - 0.103x$ , Fig. 1) confirmed negative effects of higher fiber content on the coefficient of energy digestibility also for small differences in hull-less genotypes. Increased content, and mainly concentration of lysine in proteins statistically significantly increased the level of grain protein quality indicators – NPU ( $r = 0.83^{**}$ ) and PBV ( $r = 0.81^{**}$ ), similar effects were also determined in fat content in our experiment (identically  $r = 0.77^{**}$ ).

**Keywords:** grains; feeding value; hull-less oats; metabolic experiments; nutrient and energy production

\* Tato práce vznikla za finanční podpory Grantové agentury ČR (projekt č. 503/95/0544) a byly analyzovány nové šlechtitelské linie ovsa vytvořené za finanční podpory Národní agentury pro zemědělský výzkum MZe ČR (projekt č. IE 0950975078).

**ABSTRAKT:** Byla hodnocena produkce, obsah živin a v bilančních pokusech na laboratorních potkanech krmná hodnota zrna bezpluchých ovšů (odrůda Abel, linie KM 187, KM 191 a KM 195) a jarních ječmenů (odrůdy Tolar a Krona) pěstovaných v polních podmínkách v letech 1994–1996. Ječmeny překonaly ovsy v průměrném výnosu zrna (o 29,6 %), hmotnosti 1 000 zrn (HTS – o 47 %) a obsahu vlákniny (o 35,3 %), avšak měly prakticky stejný podíl lyzinu v N-látkách (NL) a průměrný obsah škrobu. Ovsy byly ve všech hodnocených parametrech stabilnější, vykazovaly vyšší obsah tuku (o 74,1 %), NL (o 13,5 %), lyzinu v sušině zrna (o 18,8 %), beta-glukanů (BG – o 15,6 %) a vyšší úroveň všech hodnocených parametrů krmné hodnoty zrna, zejména pak využitelného proteinu (UP – o 21,1 %). Mezi jednotlivými materiály ovsa byly stanoveny statisticky významné diference pro obsah lyzinu, BG, vlákniny a mastných kyselin (palmitové a olejové). Porovnání produkce živin a energie z jednotky plochy ukázalo, že bezpluché ovsy statisticky významně překonaly ječmeny ve výnosu tuku (v průměru o cca 63%), neprůkazné diference mezi oběma druhy byly stanoveny pro produkci lyzinu a UP. Ječmeny se statisticky významně odlišovaly od bezpluchých ovšů ve výnosu škrobu (až o 36 %) a vlákniny, přičemž odrůda Tolar měla navíc i vyšší produkci NL a stravitelné energie. Ve skupině studovaných ovšů byly vzájemně korelační koeficienty statisticky nevýznamné pro vztahy výnosu zrna a HTS s ostatními hodnocenými parametry. Průkazný nárůst hodnot netto-využití proteinu a biologické hodnoty bílkovin působilo zvýšení koncentrace lyzinu v NL ( $r = 0,83^{**}$ , resp.  $r = 0,81^{**}$ ) a zvýšení obsahu tuku ( $r =$  shodně  $0,77^{**}$ ), zatímco významné negativní vztahy byly stanoveny mezi obsahem N-látek a úrovní většiny studovaných živin a ukazatelů krmné hodnoty zrna (kromě UP, kde  $r = 0,84^{**}$ ). Obdobně působila i vláknina, která vykazovala nejsilnější negativní vliv ve vztahu ke koeficientu stravitelnosti energie – KSE ( $r = -0,76^{**}$ ), kdy nárůst jejího obsahu o každých 10 g/kg znamenal pokles úrovně KSE o 1,03 % ( $y = 96,23 - 0,103x$ ).

**Klíčová slova:** obilniny; krmná hodnota; bezpluchý oves; bilanční pokusy; produkce živin a energie

## ÚVOD

Oves patří k významným krmným obilovinám zejména v zemích severní a střední Evropy a Severní Ameriky a bez ohledu na celosvětový pokles jeho osevních ploch (Burrows *et al.*, 1992) zůstává užitečnou plodinou pro pěstování v marginálních oblastech, podpůrnou plodinou pro leguminózy a zdrojem krmiva a slámy. Zrno ovsa se tradičně využívá v chovu koní a ovcí, je vhodné i pro výkrm hovězího dobytka, například dojnic (Sanne, 1988). Pouze při krmení monogastrů, a to zejména drůbeže, která je citlivější než prasata, existují určitá omezení pro zastoupení ovsa v krmné dávce z důvodu vysokého obsahu vlákniny. Vyšlechtění bezpluchého ovsa zvýšilo jeho atraktivnost pro chovatele uvedených monogastrických druhů a rovněž také pro pozitivní vliv živin zrna na kvalitu produkce (Farrell *et al.*, 1992), a vedlo k reálným úvahám o nových možnostech jeho krmného využití (Cuddeford *et al.*, 1992; Campbell, 1996a).

V České republice se oves pěstuje zhruba na 59 tis. ha, což je necelých 3,5 % z celkové plochy obilnin. Vyšší zastoupení je evidováno v podnicích hospodářských v bramborařské a horské výrobní oblasti, kde dosahuje relativně lepších výsledků než ostatní obilniny. Jak uvádí Komberec (1997), ve sklizňovém roce 1997 byl potravinářský oves finančně ziskový (+17 %), kdežto oves na krmení se při současných výrobních nákladech, výnosu a nákupní ceně stává plodinou vysloveně ztrátovou. V letošním roce se v důsledku převažující nabídky očekává další pokles cen, což se výrazněji promítne do ekonomiky pěstování méně výnosného bezpluchého ovsa, pokud nebude nakoupen jako potravina.

Vysoká míra ztrátovosti při prodeji ovsa jako krmné obilniny a současně vysoká nutriční hodnota zrna vedou k závěru, zda by z hlediska prvovýrobce nebylo

ekonomicky zajímavější přímé využití při přípravě vlastních krmiv.

V naší práci jsme se pokusili o vyhodnocení přínosu pěstování bezpluchého ovsa při porovnání s vybranými odrůdami ječmene z pohledu produkce, chemického složení a krmné kvality zrna, testované v pokusech *in vivo* na laboratorních zvířatech.

## MATERIÁL A METODA

Odrůdy jarního ječmene Tolar a Krona, odrůda ovsa Abel a vybrané nové šlechtitelské linie bezpluchého ovsa setého (KM 187-92, KM 191-90 a KM 195-92) byly v letech 1994–1996 pěstovány v polních podmínkách. Jejich zrno bylo podrobeno chemickým analýzám důležitých živin a testováno v pokusech na laboratorních potkanech za účelem stanovení jeho vhodnosti pro krmení monogastrických hospodářských zvířat.

Obilniny byly pěstovány ve zkouškách výkonu (4 opak. x 10 m<sup>2</sup>) na pokusných pozemcích Zemědělského výzkumného ústavu Kroměříž, s. r. o., v jehož laboratoři kvality zrna byla dále provedena většina chemických rozborů. Metodika pěstování byla ve všech letech standardní, po optimální předplodině, na základní hladině hnojení a chemického ošetření. Pokusy byly sklizeny v plné zralosti maloparcelkovým kombajnem Osevan, hmotnost zrna (HTS v g) byla stanovena po přečištění v netříděném vzorku. Průměrný vzorek zrna byl použit pro biologickou testaci krmné hodnoty a na chemické analýzy.

U všech testovaných obilnin byl ve dvou opakováních stanoven obsah N-látek (NL v g/kg, N x 6,25, metodou podle Kjeldahla), obsah aminokyseliny (AK) lyzinu v sušině zrna (g/kg sušiny zrna – na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 881) a vypočten podíl lyzinu v N-látkách (g/16 g N). Dále byl ana-

lyzován obsah tuku (g/kg, extrakcí podle Soxhleta), škrobu (g/kg, podle Ewerta), vlákniny (g/kg, podle metody AOAC na přístroji Fibertec E), a  $\beta$ -glukanů (BG, g/kg, fluorescenční metodou). Jednotlivé mastné kyseliny (MK) byly stanoveny plynově chromatografickou analýzou na přístroji CHROM 5 s plamenionizačním detektorem FID v laboratořích Mendelovy zemědělské a lesnické univerzity v Brně. Obsah MK (g/kg) v zrně byl získán přepočtem.

Stanovení obsahu bruttoenergie (BE – MJ/kg, v adiabatickém kalorimetru) a následná biologická testace vzorků zrna *in vivo* probíhala ve spolupráci s firmou Biofaktory Praha, s. r. o. Bilanční pokusy byly prováděny na laboratorních potkanech (skupina  $n = 6$ ) podle metodiky popsané dříve (Heger *et al.*, 1990). Sledovanými ukazateli nutriční hodnoty byly: skutečná stravitelnost dusíku (KSS, %), biologická hodnota bílkovin (BHB), netto využití proteinu (NPU), dusíková bilance (NB, mg/den), využití přijatého dusíku (NB/NP, %), obsah využitelného proteinu (UP, g/kg), obsah stravitelné energie (SE, MJ/kg) a koeficient bilanční stravitelnosti energie (KSE, %).

Produkce živin a energie z jednotky plochy byla získána přepočtem z výše uvedených údajů.

Statistická hodnocení a analýzy byly provedeny programem Statgraphics 5.0 za použití analýzy variance, výpočtu párových korelačních koeficientů a regresní analýzy. Míra proměnlivosti znaků a parametrů v rámci obou sledovaných druhů byla posuzována podle výše variačního koeficientu ( $V_k$ , %). Grafické výstupy byly zpracovány standardním programem Microsoft Excel 97.

## VÝSLEDKY

### Hospodářské znaky a živiny v zrně

Variabilita obsahu základních živin, výnosu zrna a HTS u testovaných materiálů bezpluchého ovsu kolísala od 3 % (škrob) do 29,3 % (vláknina) a pro většinu parametrů byla velmi podobná proměnlivosti zjištěné u odrůd ječmene (tab. I). V průměrných hodnotách byly ale patrné velmi výrazné difference. Podle očekávání byl průměrný výnos zrna, HTS i obsah vlákniny jednoznačně vyšší u ječmene (o 29,57; 46,97, resp. 35,28 %), zatímco v obsahu NL, lyzinu v sušině zrna, obsahu glukanů, tuku a MK (s výjimkou kyseliny linolenové) byl lepší oves. Pouze v případě koncentrace lyzinu v g/16 g N (4,18 u ovsu a 4,02 u ječmene) a obsahu škrobu (598,4 g/kg pro oves a 599 g/kg pro ječmen) byly oba druhy podobné.

Vzhledem k počtu testovaných vzorků u obou obilovin a statistickým charakteristikám hodnocených souborů lze odvodit, že materiály ječmene vykazovaly vyšší heterogenitu než oves, a to u všech studovaných parametrů, s výjimkou obsahu dílčích mastných kyselin a vlákniny. Obsah vlákniny u ovsu byl bez ohledu na to, že všechny studované materiály patří k bezpluchým genotypům, dost odlišný a rozdíl mezi minimální (17,3 g/kg) a maximální naměřenou hodnotou (43,3 g/kg) byl více než 2,5násobný. Analýza variance prokázala, že testované ovsy se ve více než polovině hodnocených parametrů navzájem průkazně nelišily (tab. II), jednak pro podobné obsahy sledovaných látek a jednak i z důvodu vlivu environmentální proměnlivosti. Statisticky průkazné rozdíly

I. Statistická charakteristika hospodářských znaků a obsahu živin zrna bezpluchého ovsu a jarního ječmene (Kroměříž, 1994–1996) – Statistical data on commercial traits and nutrient content in hull-less oat and spring barley grain (Kroměříž, 1994–1996)

Parametr <sup>1</sup>	Jednotky <sup>11</sup>	Průměr <sup>12</sup>		Střední chyba <sup>15</sup>		Minimum		Maximum		Směrodatná odchylka <sup>16</sup>		$V_k$ , %	
		oves <sup>13</sup>	ječmen <sup>14</sup>	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen
Výnos zrna <sup>2</sup>	t/ha	5,36	7,61	± 0,25	± 0,53	4,05	6,63	6,33	9,48	0,88	1,30	16,47	17,06
HTS <sup>3</sup>	g	24,09	45,43	± 0,53	± 1,89	21,60	39,30	27,10	51,70	1,84	4,63	7,64	10,20
NL <sup>4</sup>	g/kg	146,23	126,46	± 2,79	± 5,02	129,07	111,57	158,75	141,24	9,67	12,31	6,61	9,73
Lyzin <sup>5</sup>	g/kg	6,07	4,93	± 0,23	± 0,65	5,21	3,71	7,96	7,50	0,78	1,59	12,88	32,26
Lyzin v NL <sup>6</sup>	g/16 g N	4,18	4,02	± 0,22	± 0,69	3,35	2,68	5,95	6,68	0,75	1,71	17,93	42,37
Škrob <sup>7</sup>	g/kg	598,42	599,00	± 5,19	± 10,34	565,00	574,00	628,00	632,00	17,97	25,33	3,00	4,23
Glukany <sup>8</sup>	g/kg	45,25	38,17	± 1,78	± 2,01	35,00	31,00	54,00	44,00	6,15	4,92	13,59	12,88
Tuk <sup>9</sup>	g/kg	67,48	17,47	± 1,66	± 0,60	62,00	15,10	79,20	19,20	5,74	1,48	8,54	8,45
C16:0 <sup>*</sup>	g/kg	11,29	3,74	± 0,23	± 0,07	10,28	3,49	13,00	4,00	0,81	0,17	7,20	4,54
C18:1 <sup>*</sup>	g/kg	24,94	2,52	± 0,64	± 0,07	22,70	2,26	29,87	2,79	2,27	0,17	8,93	6,75
C18:2 <sup>*</sup>	g/kg	27,26	9,40	± 0,79	± 0,22	23,57	8,55	32,63	10,20	2,75	0,54	10,08	5,77
C18:3 <sup>*</sup>	g/kg	0,83	1,16	± 0,08	± 0,03	0,59	1,03	1,43	1,29	0,27	0,08	31,91	7,34
Vláknina <sup>10</sup>	g/kg	30,89	47,73	± 2,61	± 1,23	17,30	44,80	43,30	53,00	9,05	3,02	29,30	6,33

\* mastné kyseliny: C16:0 – palmitová, C18:1 – olejová, C18:2 – linolová, C18:3 – linolenová

\* fatty acids: C16:0 – palmitic, C18:1 – oleic, C18:2 – linoleic, C18:3 – linolenic

<sup>1</sup> parameter, <sup>2</sup> grain yield, <sup>3</sup> TGW, <sup>4</sup> proteins, <sup>5</sup> lysine, <sup>6</sup> lysine in proteins, <sup>7</sup> starch, <sup>8</sup> glucans, <sup>9</sup> fat, <sup>10</sup> fiber, <sup>11</sup> units, <sup>12</sup> mean, <sup>13</sup> oats, <sup>14</sup> barley, <sup>15</sup> standard error, <sup>16</sup> standard deviation

II. Difference v hospodářských znacích a obsahu živin mezi testovanými bezpluchými ovsy (Kroměříž, 1994–1996) – Differences in commercial traits and nutrient content between the tested hull-less oats (Kroměříž, 1994–1996)

Odrůda <sup>1</sup>	Výnos <sup>2</sup> t/ha	HTS <sup>3</sup> g	N-látky <sup>4</sup> g/kg	Lyzin <sup>5</sup> g/kg	Lyzin <sup>5</sup> g/16 g N	Škrob <sup>6</sup> g/kg	Glukany <sup>7</sup> g/kg	Tuk <sup>8</sup> g/kg	Vláknina <sup>9</sup> g/kg
Abel	5,33a	24,87a	147,75a	6,61b	4,53a	611,67a	49,00c	69,1a	18,83a
KM187-92	5,55a	23,73a	143,50a	6,28ab	4,39a	591,33a	45,33b	66,5a	36,83b
KM191-90	5,57a	22,83a	143,23a	5,69a	4,01a	602,67a	42,00a	70,5a	32,17ab
KM195-92	5,00a	24,93a	150,44a	5,68a	3,78a	588,00a	44,67b	62,8a	35,73b

<sup>1</sup> rozdílná písmena ve sloupci značí průkaznou diferenci při  $P \leq 0,05$  – different letters in the column designate significant difference at  $P \leq 0,05$

<sup>1</sup> variety, <sup>2</sup> yield, <sup>3</sup> TGW, <sup>4</sup> proteins, <sup>5</sup> lysine, <sup>6</sup> starch, <sup>7</sup> glucans, <sup>8</sup> fat, <sup>9</sup> fiber

III. Průměrný obsah mastných kyselin v zrně jednotlivých materiálů bezpluchého ovsa (Kroměříž, 1994–1996) – Average content of fatty acids in grain of hull-less oat materials (Kroměříž, 1994–1996)

Odrůda <sup>1</sup>	Obsah MK <sup>2</sup> (g/kg)						
	C16:0 <sup>*</sup>	C18:1	C18:2	C18:3	suma nasycených MK <sup>3</sup>	suma nenasycených MK <sup>4</sup>	suma vícenenasycených MK <sup>5</sup>
Abel	11,47ab	26,32b	27,12a	0,89a	12,56ab	56,09a	28,91a
KM187-92	11,04ab	25,07ab	27,28a	0,65a	12,05a	54,40a	28,76a
KM191-90	12,03b	25,52ab	29,04a	0,76a	13,19b	57,30a	31,10a
KM195-92	10,63a	22,84a	25,61a	1,04a	11,66a	51,12a	27,52a

<sup>\*</sup> označení MK viz tab. I – designation of FA see Tab. I

<sup>1</sup> variety, <sup>2</sup> FA content, <sup>3</sup> sum of saturated FA, <sup>4</sup> sum of unsaturated FA, <sup>5</sup> sum of polyunsaturated FA

jsme stanovili pro obsah lyzinu, kde odrůda Abel překonala nové šlechtitelské linie o 9–14 %, a v případě vlákniny, jejíž obsah byl u Abelu nižší o 41,5–48,9 %. Nejvýznamnější vzájemné diference, jak mezi pokusnými ročníky, tak i mezi testovanými ovsy, byly zjištěny v případě obsahu BG. V tomto znaku se statisticky průkazně odlišovaly nové linie bezpluchého ovsa nejen od odrůdy Abel, ale i navzájem. Nejnižší průměrný obsah glukanu měla linie KM 191 (42 g/kg), nejvyšší odrůda Abel (49 g/kg).

Skladbu tuku charakterizují údaje uvedené v tab. III. Nejvíce zastoupené MK – palmitová, olejová a linolová – tvořily 93,9–95,3 % celkového obsahu tuku, ale průkazné diference mezi testovanými ovsy byly nalezeny pouze v případě kyselin palmitové a olejové. Linie KM 195 se statisticky významně lišila o 13,1 % nižším obsahem kyseliny palmitové od linie KM 191 a rovněž měla statisticky průkazně méně kyseliny olejové než odrůda Abel (o 15,2 %). Linie KM 191 pak měla oproti ostatním novým materiálům průkazně vyšší obsah nasycených MK a nevýznamně více i nenasycených MK. Nutričně významné vícenenasycené MK s průměrným obsahem 27,52–31,1 g/kg tvořily od 41,8 do 44,1 % celkového obsahu tuku, avšak mezi testovanými ovsy ani v jednotlivých ročních nebyly vzájemné diference průkazné.

#### Ukazatele krmné hodnoty zrna

Z průměrných údajů o krmné hodnotě zrna v rámci druhů (tab. IV) vyplývá, že oves překonal hodnocené

ječmeny jak v energetické, tak i dusíkové bilanci. Významnější rozdíly jsou zřetelné u ukazatelů dusíkové bilance a především využitelného proteinu, jehož průměrný obsah dosahoval u ovsa 84,21 g/kg, byl tedy o 21,1 % vyšší než u ječmene. V případě ukazatelů SE, BHB, NPU, NB/NP a UP byly dokonce minimální hodnoty zjištěné u ovsa vyšší než jejich maximální úroveň u testovaných ječmenů. Celková variabilita ukazatelů krmné hodnoty ovsa i ječmene byla velmi nízká (0,92–5,93), pouze s výjimkou hodnot pro parametr NB/NP ( $V_k = 12,06$  %) a UP ( $V_k = 10,03$  %) u ječmene.

Analýza variance ukazatelů krmné hodnoty zrna ovsa naměřených v bilančních pokusech (tab. V) svědčí o velké vyrovnanosti testovaných materiálů v jednotlivých letech. Minimální a statisticky neprůkazné diference byly stanoveny jak pro obsah bruttoenergie, tak pro všechny ukazatele dusíkové bilance. Hodnoty KSE kolísaly od 92,14 do 94,22 % a obsah SE od 16,39 do 17,13 MJ/kg, přičemž v obou znacích byla odrůda Abel průkazně lepší než nové šlechtitelské linie bezpluchého ovsa, zejména KM 195.

#### Produkce živin a energie, vzájemné vztahy mezi parametry

V tab. VI jsou shrnuty údaje naměřené u bezpluchého ovsa z pohledu kombinace hospodářských a kvalitativních parametrů i porovnání s vybranými jarními ječmeny. Průkaznost průměrných hodnot jednotlivých parametrů byla nejsilněji ovlivněna rozdíly v produkci

IV. Statistická charakteristika ukazatelů krmné kvality zrna bezpluchého ovsa a jarního ječmene (Kroměříž, 1994–1996) – Statistical data on feeding quality indicators of hull-less oat and spring barley grain (Kroměříž, 1994–1996)

Parametr <sup>1</sup>	Jednotky <sup>2</sup>	Průměr <sup>3</sup>		Střední chyba <sup>4</sup>		Minimum		Maximum		Směrodatná odchylka <sup>5</sup>		V <sub>k</sub> %	
		oves <sup>6</sup>	ječmen <sup>7</sup>	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen	oves	ječmen
BE	MJ/kg	18.02	17.12	± 0.09	± 0.11	17.22	16.81	18.48	17.50	0.32	0.27	1.76	1.59
SE	MJ/kg	16.74	15.46	± 0.12	± 0.12	15.84	14.97	17.44	15.75	0.42	0.29	2.52	1.86
KSE	%	92.87	90.27	± 0.32	± 0.34	91.33	89.03	94.58	91.52	1.11	0.83	1.20	0.92
KSs	%	85.08	83.72	± 0.27	± 0.45	84.03	82.28	87.00	85.31	0.93	4.09	1.10	1.31
BHB		67.78	62.69	± 0.64	± 0.30	65.09	61.42	73.31	63.31	2.22	0.73	3.27	1.16
NPU		57.67	52.50	± 0.63	± 0.33	55.33	51.69	63.78	53.78	2.18	0.82	3.78	1.56
NB	mg/den <sup>8</sup>	66.20	56.45	± 1.13	± 0.99	59.71	54.41	74.81	60.14	3.92	2.42	5.93	4.30
NB/NP	%	42.80	34.89	± 0.55	± 1.72	39.70	26.53	47.56	37.79	1.90	4.21	4.44	12.06
UP	g/kg	84.21	66.40	± 1.19	± 2.71	74.71	58.00	89.23	73.30	4.13	6.71	4.91	10.03

<sup>1</sup>parameter, <sup>2</sup>units, <sup>3</sup>mean, <sup>4</sup>standard error, <sup>5</sup>standard deviation, <sup>6</sup>oats, <sup>7</sup>barley, <sup>8</sup>day

V. Diference v hodnotách ukazatelů krmné kvality zrna testovaných materiálů bezpluchého ovsa (Kroměříž, 1994–1996) – Differences in the values of feeding quality indicators of grain of tested hull-less oat materials (Kroměříž, 1994–1996)

Odrůda <sup>1</sup>	BE <sup>2</sup> MJ/kg	SE MJ/kg	KSE %	KSs %	BHB	NPU	NB mg/den	NB/NP %	UP g/kg
Abel	18.19a	17.13b	94.22b	85.52a	68.47a	58.60a	69.42a	44.43a	86.20a
KM187-92	18.14a	16.86ab	92.91ab	85.72a	67.61a	57.94a	65.76a	42.58a	81.5a
KM191-90	17.98a	16.57ab	92.14a	84.57a	67.39a	57.00a	65.70a	42.15a	83.12a
KM195-92	17.77a	16.39a	92.19a	84.49a	67.65a	57.15a	63.93a	42.22a	86.04a

<sup>\*</sup> rozdílná písmena ve sloupci značí průkaznou diferenci při  $P \leq 0.05$  – different letters in the column designate significant difference at  $P \leq 0.05$

<sup>1</sup>variety

VI. Produkce živin a energie z jednotky plochy u odrůd a linií jarního ječmene a bezpluchého ovsa (Kroměříž, 1994–1996) – Nutrient and energy production per unit area in spring barley and hull-less oat varieties and lines (Kroměříž, 1994–1996)

Odrůda <sup>1</sup>	Produkce z hektaru <sup>3</sup>							
	NL <sup>4</sup> kg	lyzin <sup>5</sup> kg	škrob <sup>6</sup> t	glukany <sup>7</sup> kg	tuk <sup>8</sup> kg	vláknina <sup>9</sup> kg	SE GJ	UP kg
Tolar	978.31c	38.12a	4.60b	326.99b	130.90a	376.16c	120.25c	507.59a
Krona	920.95bc	40.06a	4.56b	259.30ab	136.92a	346.46c	115.28bc	488.94a
Abel	787.51ab	35.23a	3.26a	261.17ab	368.30b	100.36a	91.30ab	459.45a
KM187-92	796.42ab	34.85a	3.28a	251.58ab	369.07b	204.41b	89.86ab	452.33a
KM191-90	797.79ab	31.69a	3.36a	233.94a	392.68b	179.19ab	88.32ab	462.98a
KM195-92	752.20a	28.40a	2.94a	223.35a	314.00b	178.65ab	87.36a	430.20a

<sup>\*</sup> rozdílná písmena ve sloupci značí průkaznou diferenci při  $P \leq 0.05$  – different letters in the column designate significant difference at  $P \leq 0.05$

<sup>1</sup>variety, <sup>2</sup>parameter, <sup>3</sup>per-hectare production, <sup>4</sup>proteins, <sup>5</sup>lysine, <sup>6</sup>starch, <sup>7</sup>glucans, <sup>8</sup>fat, <sup>9</sup>fiber

zrna obou druhů, avšak svoji roli hrála i výše obsahu živin a naměřených ukazatelů krmné hodnoty a rovněž variabilita v pokusných letech. Diference v produkci dusíkatých látek a stravitelné energie byly statisticky významné pouze mezi odrůdou ječmene Tolar a testovanými ovsy, odrůda Krona se průkazně lišila jen od linie KM 195. Produkce nutričně nepříznivých glukánů byla průkazně vyšší u odrůdy Tolar než u bezpluchých linií ovsa KM 191 a KM 195. V případě produkce ly-

zinu a využitelného proteinu z jednotky plochy nebyly mezi testovanými ječmeny a bezpluchými ovsy statisticky významné rozdíly, i když odrůdy Tolar a Krona vykázaly absolutně mírně vyšší hodnoty. Jednoznačně statisticky průkazné diference mezi odrůdami ječmene a testovanými materiály ovsa byly stanoveny pro produkci škrobu, tuku a vlákniny. Zatímco v případě produkce škrobu byla stanovena diference ve prospěch ječmenů (v průměru o cca 30 %), v případě produkce tuku

byly významně vyšší hodnoty zjištěny u ovsu (313,84–393,31 kg/ha, tedy o cca 63 % více než u ječmene). Statisticky významné rozdíly v produkci vlákniny byly nejen mezi ječmenem a studovanými ovsy, ale i například mezi odrůdou Abel a linií KM 187.

Vzájemné vztahy mezi studovanými hospodářskými znaky a kvalitativními ukazateli zrna bezpluchého ovsu znázorňuje tab. VII. Je zřejmé, že výnos zrna ani HTS nejsou významně negativně spojeny s žádným z ostatních parametrů. Nejvíce statisticky významných negativních vztahů k ostatním ukazatelům bylo pozorováno pro obsah N-láték v zrně. Vysoce průkazně negativní korelace byla vypočtena pro vztah s koncentrací lyzinu

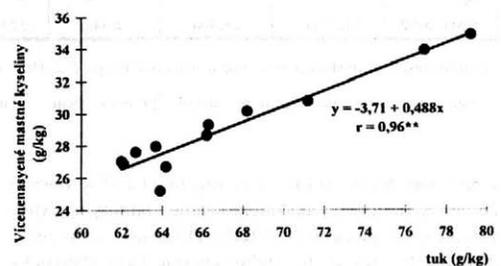
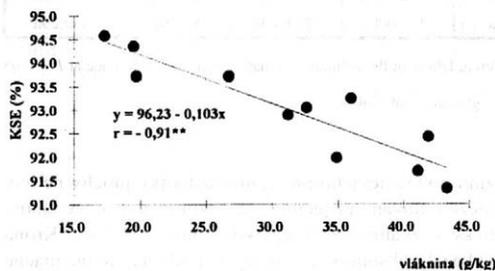
v N-látkách ( $r = -0,77^{**}$ ), obsahem tuku ( $r = -0,82^{**}$ ), ale i s hodnotami BHB ( $r = -0,75^{**}$ ) a NPU ( $r = -0,67^{*}$ ). Kladný vliv zvýšeného obsahu NL byl průkazný pouze v případě odvozeného ukazatele UP ( $r = 0,84^{**}$ ). Záporné vztahy k ostatním parametrům vykázal i obsah vlákniny, nejsilnější negativní vliv měla vláknina s KSE ( $r = -0,76^{**}$ ), kde po vyloučení jedné odlehle hodnoty dosáhl příslušný korelační koeficient hodnoty  $r = -0,91^{**}$ . Regresní závislost hodnot KSE na obsahu vlákniny potom vyjádřila rovnice  $y = 96,23 - 0,103x$  (obr. 1). Zvýšený obsah lyzinu v N-látkách a stejně i obsah tuku ovlivnily kladně všechny ukazatele krmné hodnoty zrna. Nejvýznamnější korelační vztahy byly

VII. Korelační matice mezi hospodářskými znaky, obsahem živin a ukazateli krmné kvality zrna bezpluchého ovsu – Correlation matrices between commercial traits, nutrient content and feeding quality indicators of hull-less oat grain

Parametry <sup>1</sup>	Výnos <sup>9</sup> (t/ha)	HTS <sup>2</sup>	N-látky <sup>3</sup>	Lyzin <sup>4</sup>	Lyzin (g/16 g N)	Škrob <sup>5</sup>	Glukany <sup>6</sup>	Tuk <sup>7</sup>	Vláknina <sup>8</sup>
HTS <sup>2</sup> (g)	0,01	1,00							
N-látky <sup>3</sup> (g/kg)	-0,24	-0,28	1,00						
Lyzin <sup>4</sup> (g/kg)	0,47	0,39	-0,52	1,00					
Lyzin (g/16 g N)	0,43	0,40	-0,77**	0,94**	1,00				
Škrob <sup>5</sup> (g/kg)	0,00	0,45	-0,56**	0,22	0,38	1,00			
Glukany <sup>6</sup> (g/kg)	0,60	0,36	-0,40	0,83**	0,77**	0,28	1,00		
Tuk <sup>7</sup> (g/kg)	0,35	0,12	-0,82**	0,73**	0,87**	0,38	0,48	1,00	
Vláknina <sup>8</sup> (g/kg)	0,08	-0,07	0,11	-0,31	-0,27	-0,58*	-0,34	-0,23	1,00
BE (MJ/kg)	0,42	0,28	-0,37	0,65*	0,62*	0,39	0,56*	0,40	-0,15
SE (MJ/kg)	0,30	0,30	-0,24	0,64*	0,56*	0,48	0,54	0,29	-0,46
KSE (%)	0,02	0,22	0,05	0,39	0,26	0,42	0,32	0,02	-0,76**
KSs (%)	-0,06	-0,08	-0,07	0,52	0,41	-0,22	0,08	0,31	-0,16
BHB	0,24	0,49	-0,75**	0,68**	0,81**	0,40	0,48	0,77**	-0,21
NPU	0,19	0,40	-0,67*	0,75**	0,83**	0,29	0,44	0,77**	-0,24
NB (mg/den)	0,02	0,07	-0,22	0,42	0,41	0,23	0,12	0,51	-0,50
NB/NP (%)	0,07	0,24	-0,30	0,49	0,49	0,20	0,16	0,53	-0,37
UP (g/kg)	-0,19	-0,07	0,84**	-0,16	-0,43	-0,54	-0,22	-0,54	-0,01

\*  $P \leq 0,05$ ; \*\*  $P \leq 0,01$

<sup>1</sup>parameters, <sup>2</sup>TGW, <sup>3</sup>proteins, <sup>4</sup>lysine, <sup>5</sup>starch, <sup>6</sup>glucans, <sup>7</sup>fat, <sup>8</sup>fiber, <sup>9</sup>yield



1. Regrese hodnot koeficientu bilanční stravitelnosti energie na obsah vlákniny v zrně bezpluchého ovsu – Regression of the values of energy digestibility coefficient on fiber content in hull-less oat grain  
vláknina = fiber

2. Regrese obsahu vícenenasycených mastných kyselin na obsah tuku v zrně bezpluchého ovsu – Regression of polyunsaturated fatty acid content on fat content in hull-less oat grain

vícenenasycené mastné kyseliny = polyunsaturated fatty acids; tuk = fat

stanoveny mezi koncentrací lyzinu a NPU ( $r = 0,83^{**}$ ), resp. BHB ( $r = 0,81^{**}$ ). Obdobný vztah byl nalezen i mezi obsahem tuku a oběma ukazateli (shodně  $r = 0,77^{**}$ ). Celkový obsah tuku v zrně bezpluchých ovsů kladně koreloval se sumou vícenenasycených mastných kyselin ( $r = 0,96^{**}$ ), přičemž příslušná regresní rovnice měla podobu  $y = -3,71 + 0,488x$  (obr. 2).

## DISKUSE

Hospodářský význam ovsu spočívá především ve vysokém obsahu nutričně cenných látek v zrně. I když jsou běžně pěstované odrůdy na jedné straně zdrojem biologicky hodnotných NL, tuku a vysoce stravitelné energie, na druhé straně obsahují i značné množství nepříznivě působící vlákniny (De Stefanis *et al.*, 1993). Zejména z tohoto důvodu je akcentována tvorba bezpluchých ovsů, a to i přesto, že mezi bezpluchými ovsy pěstovanými v různých geografických oblastech existují i značné rozdíly (Barr *et al.*, 1996). Zatímco například Flinn a Foot (1992) dokumentovali velmi nízký obsah NL v zrně australských ovsů (v průměru pod 9 %), v našich podmínkách patří oves rozhodně k obilninám bohatším na dusík. Ve všech letech překonal testované odrůdy ječmene v celkovém obsahu NL i v absolutním množství esenciální aminokyseliny lyzinu, ačkoliv právě z důvodu vyššího obsahu NL nebyl zjištěn vyšší podíl této aminokyseliny oproti ječmeni. Ostatně i v případě dalších živin jsme v našem pokuse nezaznamenali významnou variabilitu a difference vůči ječmeni. Nízká až střední úroveň proměnlivosti obsahu živin zrna testovaných odrůd ječmene, na rozdíl od střední až vyšší proměnlivosti, kterou jsme zjistili v našich dřívějších pokusech (Vaculová, Heger, 1998), zřejmě souvisí s volbou odrůd pro daný experiment. Na rozdíl od závěrů autora Campbell (1996b), který konstatuje, že oves obsahuje v průměru významně méně škrobu (46,8 %) než ječmen (60,4 %), byly naše materiály v podstatě s ječmenem v tomto znaku totožné. Pravděpodobně se na uvedené skutečnosti podílí i fakt, že se jedná o bezpluché genotypy. Průměrnými obsahy živin se testované ovsy blížily hodnotám, které např. Hampshire a Ganssmann (1996) uvádějí pro německé odrůdy, a to i hmotností zrna (bereme-li v potaz odpočet na obsah pluch). Campbell (1996a) se domnívá, že při současné roli, kterou oves hraje jako koncentrované krmivo, mají pluchy výrazně negativní postavení, neboť nejsou nositeli energie a naopak vykazují v důsledku svého složení tzv. „ředící efekt“. Zahraníční i naše současné a také dřívější výsledky (Hubík *et al.*, 1994) ukazují, že právě v odlišném obsahu vlákniny tkví nejvýznamnější rozdíl obou typů ovsu. Zatímco Hampshire a Ganssmann (1996) pozorovali kolísání obsahu vlákniny u pluchatých materiálů v rozsahu 23 % (německé odrůdy) až 29,6 % (australské materiály), bezpluché ovsy v našem pokuse vykazovaly v průměru 3,1 % vlákniny a minimální hodnota dokonce dosáhla pouze 1,73 %, což je o více než 35 % méně než u ječmene. Statisticky průkazné rozdí-

ly, které jsme pozorovali v případě obsahu vlákniny u odrůdy Abel a nových linií KM 187 a KM 195, mohou rovněž souviset se známými diferenciemi ve výskytu pluchatých zrn v rámci nekomplexní nebo proměnlivé exprese znaku nahozrnnosti (Barr *et al.*, 1996).

Zvláštní místo mezi živinami zaujímají neškrobové polysacharidy typu beta-glukanů, které fungují jako potenciální antinutriční faktor. Podle řady výzkumných prací (Campbell, 1996b; Farrell *et al.*, 1992; Kalač, Míka, 1997) je u bezpluchých ovsů pozorována vyšší hladina BG, což se negativně odráží především při výkrmu citlivých monostrův, v prvé řadě drůbeže. V našem pokuse převyšil průměrný obsah BG u ovsu hodnoty získané pro ječmen; statisticky významné difference jsme pozorovali i mezi jednotlivými bezpluchými ovsy. Jako nejhorší z tohoto pohledu byla hodnocena odrůda Abel.

Výše diskutované difference v nutriční charakteristice zrna ovsu v porovnání s jarními ječmeny rezultovaly v bilančních pokusech v poměrně jednoznačné závěry. Námí sledované ovsy překonávaly obě odrůdy ječmene ve všech krmných ukazatelích, avšak mezi jednotlivými bezpluchými materiály ovsu byly zjištěny průkazné difference pouze v hodnotách stravitelnosti energie (KSE a SE). Minimální zjištěné rozdíly souvisí zřejmě opět s výběrem materiálů k testování, neboť Cuddeford *et al.* (1992) v pokusech s krmením koní došli k závěru, že bezpluchý oves má v porovnání s pluchatým ovsem o 28 % vyšší obsah stravitelné energie a může tedy plně nahradit dosud používanou kukuřici. Podle jejich propočtů může 0,78 kg zrna bezpluchého ovsu rovnocestně nahradit 1 kg zrna ovsu pluchatého, čímž lze významně zredukovat celkový objem zkrmované hmoty.

I když bylo výzkumně dokázáno, že na zvýšený obsah vlákniny a neškrobových polysacharidů nejvíce nepříznivě reaguje drůbež, existuje celá řada prací o jejich obdobném působení u prasat a koní (Barr *et al.*, 1996; Farrell *et al.*, 1992; Thomke 1988). Oproti slabému vlivu vlákniny na stravitelnost energie, zjištěnému v pokusech s ječmenem (Vaculová, Heger, 1998), v případě bilančních testů s bezpluchými ovsy byla mezi KSE a obsahem vlákniny vypočtena vysoce významná negativní korelace. Příslušný regresní vztah potvrdil tento vliv a demonstroval pokles hodnot KSE o 1,03 % s každým zvýšením obsahu vlákniny o 10 g/kg.

Uvedené bilanční pokusy s laboratorními potkany jsou méně vypovídající pro objasnění prezentované antinutriční úlohy BG. V daném pokuse byly zjištěné párové korelační koeficienty BG s ostatními živinami (kromě vlákniny) a krmnými ukazateli (s výjimkou UP) dokonce nepříkazně kladné a ani použití metody parciálních koeficientů neprokázalo jejich očekávaný statisticky významný negativní vliv (Vaculová, nepublikované údaje). Vycházíme-li z předpokladu podobného metabolismu laboratorních potkanů s prasaty, lze doporučit zařazení bezpluchých ovsů do krmných dávek pro prasata ve výkrmu bez větších omezení. K obdobným závěrům došli i Burrows *et al.* (1992), kteří uvádějí, že až 97% podíl bezpluchého ovsu rezultoval ve stejné přírůstky a obdobnou konverzi krmiva jako při použití

kukuřično-sójové směsi. Uvedení autoří dokonce konstatují, že z hlediska kvality masa byl oves lepší, neboť byla zjištěna lepší textura, vybarvení i struktura svaloviny. Odlišné výsledky byly však zjištěny při použití obilnin se zvýšeným obsahem BG ve výkrmu mláďat. Jak ve startérových dietách při výkrmu brojlerových kuřat, krůt nebo i selat, tak i při výkrmu nosnic byly přijatelné dávky bezpluchého ovsu limitované, protože při zvýšení podílu ovsu v krmivu docházelo k výše uvedené depresi růstu a snížené konverzi krmiva. A tak třebaže Burrows *et al.* (1992) došli k závěru, že obsah BG nižší než 2,3 % je uspokojivý, Cave *et al.* (1992 – cit. Burrows *et al.*, 1992) považují za přípustnou pro krmení kuřat pouze hladinu BG nižší než 1,6 %. Tomuto požadavku by mohly vyhovovat pouze některé bezpluché ječmeny (Vaculová, Heger, 1998).

Současná krmivářská praxe (Barr *et al.*, 1996; Campbell, 1996a) doporučuje u citlivých monogastrů použití enzymových preparátů, zejména beta-glukanázy a fosfatázy, které spolehlivě sníží nepříznivé antinutriční působení některých složek zrna a přitom zůstanou zachovány nutriční přednosti ovsu, jako je lepší AK profil zrna, vysoký obsah tuku s příznivým zastoupením nenasyčených MK apod.

Větší krmivářské uplatnění bezpluchých ovsů vypěstovaných v našich půdně-klimatických podmínkách vyžaduje zvážit reálné přednosti zrna z hlediska jeho krmné hodnoty s produkci jednotlivých živin a energie z jednotky plochy. Vysoké výnosy obou odrůd ječmene vedly k průkazně vyšší produkci NL a škrobu z hektaru, avšak současně byla statisticky průkazně vyšší i tvorba nežádoucí vlákniny a BG. Vzhledem k tomu, že s produkcí ovsu počítáme do lokalit s méně příznivými pěstitelskými podmínkami, neboť oves není citlivý k vyšším srážkám a nízkému pH půdy, jsou pro pěstitele přijatelné materiály bezpluchého ovsu s výnosovým potenciálem vyšším než 70 % standardních krmných obilnin (pluchatého ovsu nebo ječmene). Podle údajů, které uvádějí Barr *et al.* (1996), je výnosový potenciál bezpluchých ovsů 65–80 % pluchatých odrůd a z tohoto pohledu je zřejmě možné vést vhodně zaměřenou selekci na vyšší výnos zrna. Naše výsledky dokladují, že výnos zrna ani HTS nebyly nepříznivě spojeny s žádným z důležitých parametrů krmné kvality zrna a s výjimkou BG ani s obsahem sledovaných živin. Ačkoliv v našem případě byla zjištěna průkazná kladná korelace výnosu zrna s obsahem BG, jiní autoři nenašli mezi těmito parametry žádný vztah (Burrows *et al.*, 1992).

Lepší AK profil zrna ovsu (Campbell, 1996b) oproti ječmeni rezultoval v našem pokusu spolu s vyšším obsahem NL v porovnatelnou produkci využitelného proteinu. Vzhledem k tomu, že ovesný protein je charakterizován odlišným zastoupením jednotlivých frakcí ve prospěch globulinů a snížení prolaminů a glutelinů (Sanne, 1988), nedochází spolu se zvyšováním obsahu NL k tak výraznému snížení jeho biologické hodnoty jako u ječmene (Hubík *et al.*, 1994; Thomke, 1988). Námi sledované materiály bezpluchého ovsu ovšem tuto skutečnost plně nepotvrzovaly a obsah NL byl v zá-

porném vztahu k naměřeným hodnotám obsahu i koncentrace lyzinu.

K vysoké energetické hodnotě zrna ovsu přispívá vysoký obsah tuku, který je charakterizován poměrně vysokým zastoupením nenasyčených MK (Sanne, 1988; Thomke, 1988) Jednoznačně a obecně známé difference mezi oběma druhy potvrdilo i naše sledování. Je však zároveň třeba konstatovat, že v rámci daných bezpluchých ovsů bude výběr vzájemně odlišných materiálů v tomto znaku nebo zastoupení hlavních MK asi málo úspěšný. Produkce tuku z jednotky plochy u ovsu však v průměru 2,7krát převýšila hodnoty dosažené u ječmennů. Vyšší obsah a lepší skladba MK ovlivňují nejen přírůstek, ale i kvalitu konečných živočišných produktů. Jsou známy práce referující o průkazných diferencích ve složení tuku z vajec, získaných v chovech krmných ovsem, kde oproti dietě s pšenicí došlo k nárůstu obsahu kyseliny linolové z 10,7 na 15,7 % (Farrell *et al.*, 1992). Sanne (1988) uvádí pozitivní efekt ovesného tuku na kvalitu mléka ve smyslu zvýšení obsahu mono- a vícenenasycených MK. Je potěšující, že naše výsledky potvrzují nárůst obsahu vícenenasycených MK o zhruba 0,5 g/kg s každým zvýšením obsahu tuku o 1 g/kg. Je třeba zdůraznit, že i když jsme pracovali s malým souborem bezpluchých ovsů a v důsledku mezirodinné proměnlivosti nebyly zjištěné rozdíly v obsahu tuku mezi novými liniemi průkazné, v rámci světových kolekcí ovsu existují materiály s významně odlišným obsahem i složením tuku (Thomke, 1988), které mohou být využity ve šlechtění nových odrůd bezpluchého ovsu, vhodných pro diferencovaný výkrm hospodářských zvířat.

## LITERATURA

- Barr A. R., Pelham S. D., Zwer P. K. (1996): Hulless oat – Building a commercial future. Invited papers of the V IOC & VII IBGS, vol. I, University of Saskatchewan, Canada: 97–105.
- Burrows V. D., Cave N. A., Hamilton R. M. G. (1992): Breeding naked oat for food, feed and industrial purposes in Canada. In: Proc. of the IV IOC, vol. I "The changing role of oats in human and animal nutrition" (edited by Barr A. R.): 64–68.
- Campbell G. L. (1996a): Oat and barley as livestock feed – The future. Invited papers of the V IOC & VII IBGS, vol. I, University of Saskatchewan, Canada: 91–97.
- Campbell G. L. (1996b): Barley and oat improvement for non-ruminants. Invited papers of the V IOC & VII IBGS, vol. I, University of Saskatchewan, Canada: 71–81.
- Cuddeford D., Khan N., Muirhead R. (1992): Naked oats – An alternative energy source for performance horses. In: Proc. of the IV IOC, vol. I "The changing role of oats in human and animal nutrition" (edited by Barr A. R.): 42–50.
- De Stefanis E., Sgrulletta D., Pollini C. M. (1993): Chemical and technological characteristics of oat products. Ital. Food and Beverage Technol., 1: 25–28.
- Farrell D. J., Takhar B. S., Thomson E., Barr A. R. (1992): The nutritional value of naked oats in broiler, layer and

- duckling diets. In: Proc. of the IV IOC, vol. I, "The changing role of oats in human and animal nutrition" (edited by Barr A. R.): 54–59.
- Flinn P. C., Foot J. Z. (1992): Variation in the nutritive value of oat grain for ruminants, and its measurement by near infrared spectroscopy. In: Proc. of the IV IOC, vol. I "The changing role of oats in human and animal nutrition" (edited by Barr A. R.): 69–76.
- Hampshire J., Ganssmann W. (1996): Quality of German oats. In: Proc. of the V IOC & VII IBGS, vol. I, University of Saskatchewan, Canada: 117–119.
- Heger J., Salek M., Eggum B. O. (1990): Nutritional value of some Czechoslovak varieties of wheat, triticale and rye. *Anim. Feed Sci. Technol.*, 29: 89–100.
- Hubík K., Macháň F., Tichý F., Vaculová K., Váňová M. (1994): Oves setý (*Avena sativa* L.). Příručka pro pěstitele. Kroměříž. 32 s.
- Kalač P., Míka V. (1997): Přírodní škodlivé látky v rostlinných krmivech. Praha. ÚZPI. 317 s.
- Komberec S. (1998): Ekonomika pěstování vybraných plodin v ČR za sklizňový rok 1997. *Úroda*, 5: 24–25.
- Sanne S.: Oats for dairy cattle. In: Proc. of the III IOC, Lund, Sweden, July, 4–8: 176–179.
- Thomke S. (1988): Oats as an animal feed. In: Proc. of the III IOC, Lund, Sweden, July, 4–8: 164–175.
- Vaculová K., Heger J. (1988): Krmná kvalita zrna jarního a ozimého ječmene. *Rostl. Vyr.*, 44: 369–377.

Došlo 5. 10. 1998

Přijato k publikování 21. 1. 1999

**Kontaktní adresa:**

Ing. Kateřina Vaculová, CSc., Zemědělský výzkumný ústav Kroměříž, s. r. o., Havlíčkova 2787, 767 01 Kroměříž, Česká republika, tel.: 0634/31 71 12, fax: 0634/227 25, e-mail: VACULOVA@VUKROM.CZ

Oznamujeme čtenářům a autorům našeho časopisu,

že v návaznosti na časopis *Scientia agriculturae bohemoslovaca*, který až do roku 1992 vycházel v Ústavu vědeckotechnických informací Praha, vydává od roku 1994

Česká zemědělská univerzita v Praze

časopis

## **SCIENTIA AGRICULTURAE BOHEMICA**

Časopis si zachovává původní koncepci reprezentace naší vědy (zemědělství, lesnictví, potravinářství) v zahraničí a jeho obsahem jsou původní vědecké práce uveřejňované v angličtině s rozšířenými souhrny v češtině.

Časopis je otevřen nejširší vědecké veřejnosti a redakční rada nabízí možnost publikace pracovníkům vysokých škol, výzkumných ústavů a dalších institucí vědecké základny.

Příspěvky do časopisu (v angličtině, popř. v češtině či slovenštině) posílejte na adresu:

**Česká zemědělská univerzita v Praze  
Redakce časopisu *Scientia agriculturae bohemica*  
165 21 Praha 6-Suchbát**

# EFFECT OF THE COMPOSITION OF COMMERCIAL FEED MIXTURE ON TOTAL LIPID, CHOLESTEROL AND FATTY ACIDS CONTENT IN BROILER CHICKEN MEAT\*

## VLIV SLOŽENÍ KOMERČNÍ KRMNÉ SMĚSI NA OBSAH CELKOVÝCH LIPIDŮ, CHOLESTEROLU A MASTNÝCH KYSELIN V MASE KUŘECÍCH BROJLERŮ

T. Komprda<sup>1</sup>, J. Zelenka<sup>1</sup>, P. Tieffová<sup>2</sup>, M. Štohandlová<sup>2</sup>, J. Foltýn<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Mendel University of Agriculture and Forestry, Brno, Czech Republic

<sup>2</sup>State Plant Protection Administration, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** Four sets of chickens (10, 12, 20 and 12 birds, respectively) were included in four cycles of the commercial fattening. The fatty acid pattern of feed mixtures used in the cycles varied due to the different ratios of the feed mixture components. The linoleic : alpha-linolenic acid ratio in the diet varied in the range 5.2–41.0. Total lipid content in breast and thigh meat of the chickens was determined after the tissue extraction by a hexane/isopropanol mixture. Cholesterol was determined by liquid chromatography and fifteen fatty acids by gas chromatography. The different composition of the feed mixture did not influence cholesterol content in breast or thigh meat. However, cholesterol concentration in total lipids increased both in breast meat and thigh meat with decreasing linoleic acid content ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0.05$  and  $R^2 = 99\%$ ,  $P < 0.01$ , respectively) and with increasing palmitic acid content ( $R^2 = 96\%$ ,  $P < 0.01$  and  $R^2 = 97\%$ ,  $P < 0.01$ , respectively) in the diet. Linoleic acid and alpha-linolenic acid content differed significantly between the feeding cycles ( $P < 0.01$ ) both in breast and in thigh meat. Polyunsaturated fatty acid (PUFA) n6/n3 ratio of the diet influenced PUFA n6/n3 ratio in breast muscle ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0.05$ ) but not in thigh muscle ( $R^2 = 28\%$ ,  $P > 0.05$ ).

**Keywords:** cholesterol; fatty acids; PUFA n6/n3 ratio; chickens

**ABSTRAKT:** Soubory kuřat (10, 12, 20 a 12 kusů) pocházející ze čtyř zástavů byly odebrány vždy po ukončení komerčního výkrmu krmnou směsí BR.2. Použité krmné směsi se lišily poměrem mastných kyselin v lipidové frakci (tab. II) v důsledku různého zastoupení jednotlivých komponent dané krmné směsi (tab. I). Poměr kyseliny linolové a alfa-linolenové se měnil v rozsahu 5,2–41,0. V prsní a stehenní svalovině kuřat byl stanoven obsah celkových lipidů (po extrakci tkáně směsí hexan/izopropanol), obsah cholesterolu (kapalinovou chromatografií) a mastných kyselin (plynovou chromatografií). Odlišné složení krmné směsi neovlivnilo obsah cholesterolu v mase kuřat. Koncentrace cholesterolu v celkových lipidech prsní svaloviny (tab. III) i stehenní svaloviny (tab. IV) se však zvyšovala s poklesem obsahu kyseliny linolové v krmné směsi ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0,05$ , resp.  $R^2 = 99\%$ ,  $P < 0,01$ ) a se vzrůstem obsahu kyseliny palmitové v krmné směsi ( $R^2 = 96\%$ ,  $P < 0,01$ , resp.  $R^2 = 97\%$ ,  $P < 0,01$ ). Obsah kyseliny linolové i linolenové v prsní i stehenní svalovině se mezi výkrmovými cykly průkazně lišil ( $P < 0,01$ ). Poměr n6/n3 polynenasycených mastných kyselin v krmné směsi ovlivnil tento poměr v prsní svalovině ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0,05$ ), nikoliv ve stehenní svalovině ( $R^2 = 28\%$ ,  $P > 0,05$ ).

**Klíčová slova:** cholesterol; mastné kyseliny; PUFA n6/n3; kuřata

### INTRODUCTION

Chicken meat is currently considered a dietetically suitable food. Despite this fact, techniques are being developed to decrease cholesterol content (relatively high in the dark meat) or to increase proportion of PUFA n3, especially eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) (Leskanich, Noble, 1997).

Cholesterol content in chicken tissues is possible to influence by the source of dietary fat, which differs in FA composition (Ajuyah *et al.*, 1991) or by the copper content of the diet (Konjufca *et al.*, 1997).

As far as the fatty acid pattern of the lipid fraction of broiler chicken meat is concerned, the effect of the content in the diet of soybean oil, rapeseed oil (Hrdinka *et al.*, 1996), linseed (Ochrimenko *et al.*, 1997), canola

\* This work was financially supported by the Grant Agency of the Czech Republic (project No. 525/97/0095).

seeds or fish meal (Ajuyah *et al.*, 1992) is evaluated most frequently. The possibilities to manipulate the ratio of the individual fatty acids in chicken meat were summarized by Leskanich and Noble (1997): linoleic acid content is possible to increase by feeding soybean oil, PUFA<sub>3</sub> deposition is increased using fish oil or fishmeal in the diet.

Commercial feed mixtures have a relatively stable composition regarding crude protein, crude fat and crude fibre. However, due to the varying content and quality of the individual ingredients for production of these mixtures, changes in the fatty acid composition of a diet are possible to expect. The objective of the study was to find whether these, not purposefully done, changes are possible to influence cholesterol and fatty acid content in breast or thigh meat of commercially fattened broiler chickens.

## MATERIALS AND METHODS

**Chickens and their diet.** Cockerels of the hybrid ROSS 208 were included in four feeding cycles in 1997: February (10 chickens), April (12 chickens), June (20 chickens) and December (12 chickens). Chickens were always taken at the age of 42 days when a commercial fattening was finished. Stocking density (16 birds/m<sup>2</sup>) was constant within the whole experiment. The temperature in the broiler house was maintained according to the recommendations of the producer of ROSS 208 chickens within each feeding cycle.

Chickens received the commercial feed mixture BR2 within last two thirds of the fattening. Ingredient composition of mixtures within the experiment is shown in Table I. Nutrient composition, including the fatty acid pattern, is presented in Table II.

Chickens were slaughtered at the commercial slaughter. Breast meat and thigh meat was separated after

cooling. Muscle tissue was rid of skin and visible external fat, intermuscular fat was left in the muscle.

The separated tissues were weighed, and dry matter, protein and total lipids after extraction with diethyl ether were determined immediately. The remaining parts of the tissues were frozen and stored at -20 °C in dark glass powder bottles until successive analyses of cholesterol and FA, including total lipid after extraction with hexane/isopropanol, were performed.

**Chemical analyses.** Following analytes were determined:

- dry matter (Czech standard ČSN 57 0185);
- total nitrogen (according to Kjeldahl; crude protein calculated using the factor 6.25, ČSN 57 0185);
- total lipids in the diet (extraction with diethyl ether under the reflux 5 hours, ČSN 57 0185; this extraction was also used for the determination of total lipids in the chicken tissues as a comparative value for the hexane/isopropanol, HIP, extract);
- total lipids (HIP extract) in the chicken tissues (modification of the method of Hara and Radin, 1978); HIP extract was also used for cholesterol (HPLC) and FA (GLC) determination;
- total cholesterol (modification of the procedure of Arneith and Al-Ahmad, 1995);
- FA in the diet and in the chicken tissues (modification of the methods of Morrison and Smith, 1964; Bannon *et al.*, 1982; Ichihara *et al.*, 1996; Sattler *et al.*, 1996).

Extraction of **total lipids** from chicken tissues. 50 g (breast meat) or 15 g (thigh meat) of the sample was extracted 1 minute with 180 ml HIP (hexane : 2-propanol 3 : 2, v/v) in the Ultra-Turrax homogenizer. The mix-

II. Nutrient composition, including fatty acid pattern, of the commercial feed mixture used in four feeding cycles (means of two measurements)

### I. Ingredients of the commercial feed mixture within the experiments

Ingredient <sup>1)</sup>	Collection			
	I	II	III	IV
Maize meal	457	150	150	300
Wheat meal	280	621	621	398
Soybean meal	143	71	71	150
Rapeseed meal	-	-	-	50
Meat-and-bone meal	59	65	65	30
Torula yeast	-	50	50	15
Animal fat	20	-	-	-
Sunflower oil	9	-	-	-
Rapeseed oil	-	25	25	30
Supplementary premix	12	12	12	12
Dicalcium phosphate	10	2	2	6
Calcium carbonate	8	3	3	7
Sodium chloride	2	1	1	2

1) g/kg (on air dry basis)

Nutrient component	Feeding cycle			
	I	II	III	IV
Dry matter (%)	90	89	89	90
Crude fibre <sup>1</sup> (g/kg)	20	18	19	28
Crude protein <sup>1</sup> (g/kg)	176	191	173	175
Total lipid <sup>1,2</sup> (g/kg)	49	48	50	48
C14:0 <sup>3</sup> (%)	0.8	0.2	0.2	0.2
C16:0 <sup>3</sup> (%)	19.9	11.1	11.6	11.2
C16:1 <sup>3</sup> (%)	1.3	0.8	0.7	0.9
C18:0 <sup>3</sup> (%)	8.7	3.1	3.9	3.3
C18:1 <sup>3</sup> (%)	33.5	42.8	33.1	38.7
C18:2n6 <sup>3</sup> (%)	32.8	33.7	45.1	38.8
C18:3n3 <sup>3</sup> (%)	0.8	6.5	4.1	5.0
C18:2n6/C18:3n3	41.0	5.2	11.0	7.8
C20:1 <sup>3</sup> (%)	2.2	1.8	1.3	1.9

1 - on air dry basis

2 - ether extract

3 - on sum of fatty acids basis

ture was filtered through the Büchner funnel. 120 ml of the aqueous solution of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (1 g of anhydrous salt in 15 ml of water) was added. After shaking and separation of the layers in the separation funnel, the hexane layer was filtered through anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  to 200 ml volumetric flask. Water layer was reextracted with 50 ml of HIP (7 : 2, v/v), the hexane layer after reextraction was (after drying with anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) added to 200 ml volumetric flask and the volume (200 ml) was completed with hexane. The 30 ml aliquot was taken into the test tube with stopper for the GC analysis. The rest was transferred to the 250 ml round-bottom flask and the content was evaporated on a rotary vacuum evaporator at 40 °C. Evaporation was finished under nitrogen, total lipids were determined gravimetrically. The residue was used for the cholesterol HPLC determination.

**Cholesterol determination.** The solid residue after the HIP extraction was redissolved in 30 ml HIP (3 : 2, v/v). 1 ml of the redissolved sample was pipetted to the separation funnel. 10 ml of sodium methoxide (3.2 g of NaOH dissolved in 48 ml  $\text{CH}_3\text{OH}$ , added 32 ml of diethyl ether and 0.012 g of phenolphthalein) was added and the sample was left at the room temperature for 30 minutes. Methanolic HCl (150 ml of HCl and 675 ml of methanol) was added, sample was shaken with 30 ml of hexane, filtered through anhydrous  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  and evaporated to dryness. 2 ml of acetonitril: 2-propanol (8 : 2, v/v) mixture was added to the solid residue. The sample was analysed by HPLC on Spherisorb C8 column (5  $\mu\text{m}$ , 250 x 4.6 mm, Pye-Unicam, England). Injection volume was 10  $\mu\text{l}$ . Mobile phase was acetonitril : water (96 : 4, v/v), flow rate 1.5 ml/min (PU 4010 pump, Pye-Unicam, England). Cholesterol was detected using UV detector (SPD-6A, Shimadzu, Japan) at 210 nm.

**Fatty acids determination.** The aliquot (40–60 mg) of the cleaned HIP extract was evaporated to dryness under nitrogen, solid residue was weighed in the reaction flask and 2 ml of isooctane with the internal standard (2.5 mg  $\text{C}_{15:0}$ /ml isooctane) and 1 ml of BHT (butylated hydroxytoluen, 1% solution in  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; Sigma) to prevent oxidation were added. 2 ml of 0.5N methanolic solution of  $\text{CH}_3\text{ONa}$  (1.15 g Na/100 ml  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) was added after ultrasonic homogenization and the mixture was boiled 5 minutes under the reflux. 14% solution of  $\text{BF}_3$  in  $\text{CH}_3\text{OH}$  was added through the condenser and the mixture was refluxed for further 5 minutes. The heating was removed, 2 ml of isooctane was added, sample was shaken and left to stand 1 minute. 5 ml of saturated aqueous solution of NaCl were added and the mixture was shaken vigorously 15 seconds while tepid. Organic layer was transferred into the test tube and 2  $\mu\text{l}$  were injected into the GLC (gas liquid chromatography) column.

GLC analysis of FA methyl esters (FAME) was performed on HRGC 5300 MEGA chromatograph (CE Instruments, Italy) with FID and integrator C-R4A Chromatopac (Shimadzu, Japan). The capillary column with PEG bound phase 25 m x 0.32 mm x 0.2  $\mu\text{m}$  (CP-WAX

52 CB, Chrompack, Holland) was used with the following temperature programme: 175/200/240 °C, temperature was held 7/2/10 minutes, rate of heating was 20/10 °C/min; injector temperature was 270 °C, detector temperature 250 °C. Carrier gas was  $\text{N}_2$ , flow rate 0.6 ml/min.

PUFA no. 2 (Animal Source, Supelco) and Oil Reference Standard no. 6 (Sigma) were used in FAMES identification in addition to the internal standard. The following FA were determined in chicken tissues:  $\text{C}_{14:0}$ ,  $\text{C}_{16:0}$ ,  $\text{C}_{18:0}$ ,  $\text{C}_{16:1}$ ,  $\text{C}_{18:1}$ ,  $\text{C}_{20:1}$ ,  $\text{C}_{18:2n6}$ ,  $\text{C}_{18:3n6}$ ,  $\text{C}_{20:4n6}$ ,  $\text{C}_{22:4n6}$ ,  $\text{C}_{22:5n6}$ ,  $\text{C}_{18:3n3}$ ,  $\text{C}_{20:5n3}$ ,  $\text{C}_{22:5n3}$ ,  $\text{C}_{22:6n3}$ . The content of the single FA was expressed as a per cent of the sum of all analysed FA.

### Statistical evaluation

The differences in the content of individual analytes within a given chicken tissue between four collections were tested by means of the one-way classification of the variance ratio test, including a mutual comparison of the means using Duncan test.

The dependences of the selected twenty-one analytes determined in the chicken tissues on the nutrient components of the diet were tested using regression analysis. Seven nutrient components of the diet (those that substantially differed between four collections, Table II) were used as the independent variables (7 x 21 relationships were evaluated within the given chicken tissue). Significance of the terms of linear and polynomial regression were tested, coefficients of determination were evaluated.

### RESULTS

Total lipid content of the diet (Table II) was relatively constant in four modifications of the feeding mixture. The most substantial differences ( $P < 0.01$ ) in the composition of the lipid fraction of the diet regarded oleic acid ( $\text{C}_{18:1n9}$ , its ratio fluctuated in the range 33.1–42.8% of the sum of fatty acids), linoleic acid ( $\text{C}_{18:2n6}$ , 32.8–45.1%) and alpha-linolenic acid ( $\text{C}_{18:3n3}$ , 0.8–6.5%). The ratio  $\text{C}_{18:2n6}/\text{C}_{18:3n3}$  differed in the range 5.2–41.0 in the diet (Table II).

The content of crude protein, total lipids (HIP extract), cholesterol and fatty acids in breast meat and thigh meat of the chickens within four feeding cycles is presented in Table III and IV, respectively.

Total lipid content in breast meat and thigh meat was in the range 1.1–2.4% and 4.7–8.6% of fresh matter, respectively, and differed between the feeding cycles ( $P < 0.01$ ). However, the influence of the single components of the diet on total lipid content was proved only in thigh muscle in the case of myristic acid ( $R^2 = 87\%$ ,  $P < 0.05$ ), palmitic acid ( $R^2 = 99\%$ ,  $P < 0.01$ ) and linoleic acid ( $R^2 = 95\%$ ,  $P < 0.01$ ).

III. Breast muscle composition of broiler chickens fed commercial feed mixtures

Trait	Mean $\pm$ standard error of the mean			
	FC I <i>n</i> = 10	FC II <i>n</i> = 12	FC III <i>n</i> = 20	FC IV <i>n</i> = 12
Crude protein <sup>1</sup> (%)	22.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.21	23.9 <sup>b</sup> $\pm$ 0.20	23.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.13	23.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.17
Total lipid <sup>1,2</sup> (%)	1.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.07	1.8 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.29	2.4 <sup>c</sup> $\pm$ 0.21	1.4 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.15
Cholesterol <sup>1</sup> (mg/100 g)	44.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.81	42.9 <sup>a</sup> $\pm$ 3.29	43.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.91	39.2 <sup>a</sup> $\pm$ 2.19
Cholesterol <sup>3</sup> (%)	4.2 <sup>c</sup> $\pm$ 0.12	2.5 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.28	1.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	2.9 <sup>b</sup> $\pm$ 0.20
C14:0 <sup>4</sup> (%)	0.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	0.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	0.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
C16:0 <sup>4</sup> (%)	24.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.41	22.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	22.9 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.20	21.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.21
C18:0 <sup>4</sup> (%)	7.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.24	6.5 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.19	6.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	7.0 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.19
$\Sigma$ SFA <sup>4,5</sup> (%)	32.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.35	29.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	29.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.23	29.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15
C16:1 <sup>4</sup> (%)	6.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.31	5.7 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.25	5.6 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.16	5.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.25
C18:1 <sup>4</sup> (%)	35.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.33	41.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.57	40.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.42	36.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58
C20:1 <sup>4</sup> (%)	0.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	0.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
$\Sigma$ MUFA <sup>4,6</sup> (%)	42.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.57	48.0 <sup>b</sup> $\pm$ 0.65	46.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.50	42.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.81
C18:2n6 <sup>4</sup> (%)	18.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.50	15.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.31	18.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.42	21.3 <sup>c</sup> $\pm$ 0.43
C18:3n6 <sup>4</sup> (%)	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
C20:4n6 <sup>4</sup> (%)	3.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.21	1.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15	1.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.09	2.9 <sup>b</sup> $\pm$ 0.30
C22:4n6 <sup>4</sup> (%)	1.0 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.07
C22:5n6 <sup>4</sup> (%)	0.3 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
$\Sigma$ PUFA <sup>4,6</sup> (%)	23.2 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.72	17.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.41	20.3 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.47	25.3 <sup>c</sup> $\pm$ 0.70
C18:3n3 <sup>4</sup> (%)	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	2.2 <sup>d</sup> $\pm$ 0.06	1.7 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	0.9 <sup>d</sup> $\pm$ 0.03
C20:5n3 <sup>4</sup> (%)	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
C22:5n3 <sup>4</sup> (%)	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	0.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	0.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.06
C22:6n3 <sup>4</sup> (%)	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	1.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.13	0.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.04	1.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.11
$\Sigma$ PUFA <sup>4,7</sup> (%)	1.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08	4.5 <sup>c</sup> $\pm$ 0.19	3.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08	3.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16
$\Sigma$ PUFA <sup>4,7</sup> (%)	24.9 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.78	22.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.56	23.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.55	28.5 <sup>b</sup> $\pm$ 0.82
PUFA <sub>n6</sub> /PUFA <sub>n3</sub>	13.6 <sup>d</sup> $\pm$ 0.49	3.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.13	6.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.10	7.9 <sup>c</sup> $\pm$ 0.22
PUFA/SFA	0.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	0.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.0 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03
PUFA/MUFA	0.6 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.03	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	0.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03
MUFA/SFA	1.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.6 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	1.6 <sup>b,c</sup> $\pm$ 0.02	1.5 <sup>a,b</sup> $\pm$ 0.03

For Tables III and IV:

1 – on fresh matter basis

2 – hexane/isopropanol extract

3 – on total lipid basis

4 – on sum of fatty acids basis

a, b, c, d – means with different superscripts in the lines differ significantly ( $P < 0.01$ )

5 – saturated fatty acids

6 – monounsaturated fatty acids

7 – polyunsaturated fatty acids

FC = feeding cycle

Cholesterol content (in mg/100 g of the fresh matter) did not differ between the feeding cycles ( $P > 0.05$ ) either in breast meat or in thigh meat. However, significant differences ( $P < 0.01$ ) among collections were found in the cholesterol concentration in total lipids both in breast muscles (the range of the values 1.9–4.2% of total lipid, Table III) and in thigh muscles (0.7–1.6%, Table IV). Cholesterol concentration in total lipids of the chicken tissues increased with the increasing palmitic acid content in the diet ( $R^2 = 96\%$  and  $R^2 = 97\%$  for breast meat and thigh meat,  $P < 0.01$ ) and with the decreasing linoleic acid content in the diet ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0.05$  and  $R^2 = 99\%$ ,  $P < 0.01$  for breast and thigh meat, respectively).

The sum of saturated fatty acids (SFA) differed ( $P < 0.01$ ) between the collections in breast meat (29.1–32.2% of total fatty acids) and in thigh meat (28.0–32.3%). SFA ratio in the chicken meat was influenced by myristic acid ( $R^2 = 95\%$  and  $95\%$  for breast meat and thigh meat,  $P < 0.01$ ), and stearic acid content in the diet ( $R^2 = 96\%$  and  $98\%$  for breast and thigh meat, respectively,  $P < 0.01$ ).

The sum of monounsaturated fatty acids (MUFA) and polyunsaturated fatty acids (PUFA) both in breast and in thigh meat differed significantly ( $P < 0.01$ ) between the feeding cycles.

The ratio of PUFA<sub>n6</sub>/PUFA<sub>n3</sub> in breast meat (3.9–13.6) and thigh meat (4.9–19.2) differed very con-

IV. Thigh muscle composition of broiler chickens fed commercial feed mixtures

Trait	Mean $\pm$ standard error of the mean			
	FC I <i>n</i> = 10	FC II <i>n</i> = 12	FC III <i>n</i> = 20	FC IV <i>n</i> = 12
Crude protein <sup>1</sup> (%)	19.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.10	19.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.16	19.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	19.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.23
Total lipid <sup>1,2</sup> (%)	4.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.24	7.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.39	8.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.30	7.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.33
Cholesterol <sup>1</sup> (mg/100 g)	71.4 <sup>a</sup> $\pm$ 1.67	76.2 <sup>a</sup> $\pm$ 6.83	62.3 <sup>a</sup> $\pm$ 1.56	63.2 <sup>a</sup> $\pm$ 2.18
Cholesterol <sup>3</sup> (%)	1.6 <sup>c</sup> $\pm$ 0.09	1.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.10	0.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	0.9 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.05
C14:0 <sup>4</sup> (%)	0.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	0.6 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.02	0.6 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.02	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
C16:0 <sup>4</sup> (%)	25.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.46	22.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.38	22.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.26	21.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.25
C18:0 <sup>4</sup> (%)	6.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.19	5.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.1	6.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.17	5.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15
$\Sigma$ SFA <sup>4,5</sup> (%)	32.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.41	28.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.39	29.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.38	28.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.23
C16:1 <sup>4</sup> (%)	8.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.54	6.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.28	6.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.14	6.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.17
C18:1 <sup>4</sup> (%)	38.3 <sup>a</sup> $\pm$ 0.60	44.1 <sup>c</sup> $\pm$ 0.51	41.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.38	40.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.46
C20:1 <sup>4</sup> (%)	0.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
$\Sigma$ MUFA <sup>4,6</sup> (%)	47.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.59	51.4 <sup>b</sup> $\pm$ 0.50	48.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.47	47.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.68
C18:2n6 <sup>4</sup> (%)	17.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.81	15.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.41	18.9 <sup>b</sup> $\pm$ 0.40	21.6 <sup>c</sup> $\pm$ 0.64
C18:3n6 <sup>4</sup> (%)	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
C20:4n6 <sup>4</sup> (%)	1.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.09	0.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.07	0.8 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	1.0 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.10
C22:4n6 <sup>4</sup> (%)	0.4 <sup>c</sup> $\pm$ 0.02	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
C22:5n6 <sup>4</sup> (%)	0.1 <sup>c</sup> $\pm$ 0.01	0.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	0.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.00	0.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01
$\Sigma$ PUFAn6 <sup>4</sup> (%)	19.2 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.84	16.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.49	20.0 <sup>b</sup> $\pm$ 0.46	23.2 <sup>c</sup> $\pm$ 0.73
C18:3n3 <sup>4</sup> (%)	0.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	2.4 <sup>d</sup> $\pm$ 0.04	1.9 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	1.1 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
C20:5n3 <sup>4</sup> (%)	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01
C22:5n3 <sup>4</sup> (%)	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
C22:6n3 <sup>4</sup> (%)	0.1 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.4 <sup>c</sup> $\pm$ 0.03	0.3 <sup>b</sup> $\pm$ 0.01	0.2 <sup>b</sup> $\pm$ 0.02
$\Sigma$ PUFAn3 <sup>4</sup> (%)	1.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05	3.4 <sup>d</sup> $\pm$ 0.12	2.5 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04	1.6 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05
PUFA <sup>4,7</sup> (%)	20.2 <sup>a</sup> $\pm$ 0.88	20.0 <sup>a</sup> $\pm$ 0.58	22.5 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.49	24.8 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.76
PUFAn6/PUFAn3	19.2 <sup>d</sup> $\pm$ 0.36	4.9 <sup>a</sup> $\pm$ 0.18	8.0 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08	4.5 <sup>c</sup> $\pm$ 0.04
PUFA/SFA	0.6 <sup>a</sup> $\pm$ 0.04	0.7 <sup>a</sup> $\pm$ 0.03	0.8 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.02	0.9 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03
PUFA/MUFA	0.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.4 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.01	0.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02
MUFA/SFA	1.5 <sup>a</sup> $\pm$ 0.02	1.8 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	1.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03	1.7 <sup>b</sup> $\pm$ 0.03

spicuously ( $P < 0.01$ ) between the four feeding cycles. This ratio was influenced ( $P$ ) in breast muscles by the linolenic acid content and 18:2n6/18:3n3 ratio in the diet ( $R^2 = 90\%$  and  $85\%$ , respectively) and in thigh muscles by the alpha-linolenic acid content in the diet ( $R^2 = 88\%$ ).

Despite the fact that in the breast and thigh meat, respectively, the linoleic acid content (15.6–21.3% and 15.6–21.6% of the sum of fatty acids) and alpha-linolenic acid content (0.5–2.2 and 0.6–2.4%, respectively) differed significantly between the feeding cycles ( $P < 0.01$ ), the influence of no particular component of the diet was found using the regression analysis.

Also the content of the individual PUFA of the n6 group in breast meat and thigh meat differed ( $P < 0.01$ ) between the feeding cycles, with the exception of gamma-linolenic acid (18:3n6). Linoleic acid content in the diet did not influence any PUFAn6 in breast or thigh meat.

As far as the content of the individual PUFAn3 is concerned, differences ( $P < 0.01$ ) between the feeding cycles were found in EPA (C20: 5n3) and DHA (C22:6n3) both in breast muscle and in thigh muscle.

Alpha-linolenic acid content in the diet influenced only DHA in thigh muscle ( $R^2 = 90\%$ ,  $P < 0.05$ ).

## DISCUSSION

### Total lipids

Total lipid content (HIP extract) both in breast meat (1.1–2.4%, Table III) and thigh meat (4.7–8.6%, Table IV) is substantially higher in comparison with average values in chickens fed a standard diet according to Ratnayake *et al.* (1989): 0.9% and 2.2%, respectively. One possible reason is using of different solvents for the extraction of total lipids from the muscle tissue: ethyl ether (Hrdinka *et al.*, 1996); chloroform/methanol, CM (Phillips *et al.*, 1997); hexane/isopropanol, HIP (present paper). HIP is less toxic and releases less of the nonlipid coextractives in comparison with CM (Hara, Radin, 1978). Ether releases the phospholipid fraction inefficiently, which is important regarding not only cholesterol determination, but also determination of long chain PUFA: EPA and DHA are at highest

concentrations in the phosphatidylethanolamine fraction (Leskanich, Noble, 1997).

### Cholesterol content

Despite the great extent of the measured values of the cholesterol content in the fresh matter, especially in thigh meat (62–76 mg/100 g, Table IV), the influence of the diet composition was not found. The reason is not only great variance of the values measured within a given collection, but also the fact that the organism strictly maintains cholesterol homeostasis (Harris *et al.*, 1993).

The comparison of cholesterol content in breast muscles (39–44 mg/100 g of the fresh matter) or thigh muscles with the literature data is difficult. The reason is not only the above mentioned different extraction methods, but also different methods of cholesterol determination: enzymatic (Konjufca *et al.*, 1997), gas chromatography (Ajuyah *et al.*, 1991), HPLC (present study). The cholesterol content values measured by various methods in the same matrix can differ more than fifteen times according to Arneith and Al-Ahmad (1995). The data of Konjufca *et al.* (1997) and Ajuyah *et al.* (1991), respectively, are higher in comparison with our experiments regarding both breast meat (55 and 63–67 mg/100 g of the fresh matter) and thigh meat (149 and 79–86 mg/100 g, respectively). On the other hand, cholesterol content values expressed in per cent of the total lipid fraction (in breast meat 1.9–4.2%, Table III, and in thigh meat 0.7–1.6%, Table IV) are in agreement with the average values according to Ratnayake *et al.* (1989): 2% and 1% for breast and thigh meat, respectively.

From the data of Ajuyah *et al.* (1992) it is possible to derive a close relationship between linoleic acid in the spent hens diet and cholesterol content in thigh meat of these hens, and nonexistence of this relationship in the case of breast meat. This relationship was found both in thigh meat ( $R^2 = 99\%$ ,  $P$ ) and in breast meat ( $R^2 = 85\%$ ,  $P < 0.05$ ) in the present study, but it was, similarly, closer in the case of thigh meat. However, no relationship was found between alpha-linolenic acid (LNA) in the diet and cholesterol content in breast or thigh meat in our experiment, which is different from data derived from the paper of Ajuyah *et al.* (1992): close relationship between LNA in the diet and cholesterol content in thigh muscles of the spent hens and no relationship in the case of breast muscles.

### Fatty acids ratio

SFA content was lower, MUFA content substantially higher, total PUFA content lower and PUFAn6/PUFAn3 ratio less favourable both in breast meat and in thigh meat in our experiments in comparison with an average fatty acid composition of chicken muscle tissues according to Leskanich and Noble (1997).

The possibility to influence the fatty acid ratios in the chicken tissues is easier in thigh meat in comparison with breast meat according to Hrdinka *et al.* (1996). It was confirmed in the present study: only 6% from 147 tested regression relationships were statistically significant within breast meat. It was more than 11% within thigh meat.

Ajuyah *et al.* (1991) did not find a clear relationship between SFA in the diet and in the chicken meat. The possible reason is the de novo SFA synthesis in the muscle irrespectively of the SFA composition of the diet. However, we have found a close dependence ( $P < 0.01$ ) of the SFA content in breast meat and thigh meat on the myristic or stearic acid content in the diet.

The main target of the manipulation of fatty acid content in the chicken meat is the increase of the PUFAn3/PUFAn6 ratio. Leskanich and Noble (1997) summarized that linoleic acid (LA) content in the chicken meat is possible to increase by the addition of soybean meal (LA content nearly 50% of the sum of fatty acids) to the diet. However, according to Ajuyah *et al.* (1992), the influence of the LA content in the diet on its ratio in breast meat of the spent hens was obscured because LA content in the animal tissues determines the ratios of other members of the PUFAn6 group. Similarly, linoleic acid content in thigh meat of spent hens decreased and content of its metabolites increased with the increasing linoleic acid content in the diet. In our experiments an increased linoleic acid content in the diet decreased ( $P < 0.05$ ) PUFAn6/PUFAn3 ratio in thigh meat.

Hrdinka *et al.* (1996) did not find the effect of linoleic acid content in the diet on LA content in the chicken tissues, which is in accordance with the results of the present study.

The data of Hrdinka *et al.* (1996) and the present study also agree as far as an insignificant effect of the alpha-linolenic acid (LNA) content in the diet on its ratio in the chicken tissues is concerned. Nitsan *et al.* (1998) analogously found the negligible increase of PUFAn3 in the thigh meat of chickens fed the mantur oil, rich in LNA. On the other hand, higher content of linseed (high LNA content) in the diet significantly increased the LNA ratio in breast muscles and thigh muscles of broiler chickens in the study of Ochrimenko *et al.* (1997). Also Ajuyah *et al.* (1991) found the relationship between LNA content in the diet and in the chicken meat. On the other hand, the results of Ajuyah *et al.* (1991) and the present study are in agreement regarding the significant influence of the PUFAn3 in the chicken meat by the alpha-linolenic acid content in the diet.

### CONCLUSIONS

Commercial feed mixtures for broiler chickens usually have a stable composition regarding the basic nutrients (crude protein, crude fibre, crude fat). However,

the ratio of the single fatty acids can vary in the diet due to the varying content and/or quality of the individual ingredients used for the feed mixture preparation.

Consequently it is probable to expect changes in the total lipid content of chicken meat, changes in the composition of the lipid fraction of chicken muscle tissue, such as oleic, linoleic and alpha-linolenic acid content, nutritionally important PUFAn6/PUFAn3 ratio, and even the changes in the cholesterol proportion of the total lipid fraction.

On the other hand, cholesterol content in the white and dark chicken meat, respectively, is stable despite of the varying composition of the finisher.

## REFERENCES

- Ajuyah A. O., Lee K. H., Hardin R. T., Sim J. S. (1991): Influence of dietary full-fat seeds and oils on total lipid, cholesterol and fatty acid composition of broiler meats. *Can. J. Anim. Sci.*, 71: 1011-1019.
- Ajuyah A. O., Hardin R. T., Cheung K., Sim J. S. (1992): Yield, lipid, cholesterol and fatty acid composition of spent hens fed full-fat oil seeds and fish meal diets. *J. Food Sci.*, 57: 338-341.
- Arneht W., Al-Ahmad H., (1995): Cholesterol. Bestimmung in Muskel- und Fettgewebe sowie in Innereien mittels HPLC. *Fleischwirtschaft*, 75: 185-187.
- Bannon C. D., Breen G. J., Craske J. D., Hai N. T., Harper N. L., O'Rourke L. (1982): Analysis of fatty acid methyl esters with high accuracy and reliability. III. Literature review of and investigations into the development of rapid procedures for the methoxide-catalysed methanolysis of fats and oils. *J. Chromatogr.*, 247: 71-89.
- CSN 57 0185. Testing methods for meat and meat products. Prague, 1985.
- Hara A., Radin N. S. (1978): Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. *Anal. Biochem.*, 90: 420-426.
- Harris K. B., Cross H. R., Pond W. G., Mersmann H. J. (1993): Effect of dietary fat and cholesterol level on tissue cholesterol concentrations of growing pigs selected for high or low serum cholesterol. *J. Anim. Sci.*, 77: 807-810.
- Hrdinka C., Zollitsch W., Knaus W., Lettner F. (1996): Effects of dietary fatty acid pattern on melting point and composition of adipose tissue and intramuscular fat of broiler carcasses. *Poultry Sci.*, 75: 208-215.
- Ichihara K., Shibahara A., Yamamoto K., Nakayama T. (1996): An improved method for rapid analysis of the fatty acids of glycerolipids. *Lipids*, 31: 535-539.
- Konjufca V. H., Pesti G. M., Bakalli R. I. (1997): Modulation of cholesterol levels in broiler meat by dietary garlic and copper. *Poultry Sci.*, 76: 1264-1271.
- Leskanich C. O., Noble R. C. (1997): Manipulation of the n-3 polyunsaturated fatty acid composition of avian eggs and meat. *World Poult. Sci. J.*, 53: 155-183.
- Morrison W. R., Smith L. M. (1964): Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. *J. Lipid Res.*, 5: 600-608.
- Nitsan Z., Sukenik A., Mokady S. (1998): Poultry products as sources for omega3 fatty acids. In: Proc. 10th Eur. Poultry Conf. The Poultry Industry Towards the 21st Century, Jerusalem, Israel: 688-690.
- Ochrimenko W. I., Richter G., Rudolph B., Bargholz J., Reichardt W., Lübke F., Lemser A. (1997): Einfluss von Leinsaat auf Mastleistung und Fettqualität der Broiler. *Arch. Geflügelkde*, 67: 181-185.
- Phillips K. M., Tarragó-Trani M. T., Grove T. M., Grün I., Lugogo R., Harris R. F., Steward K. K. (1997): Simplified gravimetric determination of total fat in food composites after chloroform-methanol extraction. *JAOCS*, 74: 137-142.
- Ratnayake W. M. N., Ackman R. G., Hulan H. W. (1989): Effect of redfish meal enriched diets on the taste and n-3 PUFA of 42-day-old broiler chickens. *J. Sci. Food Agric.*, 49: 59-74.
- Sattler W., Reicher H., Ramos P., Panzenboeck U., Hayn M., Esterbauer H., Malle E., Kostner G. M. (1996): Preparation of fatty acid methyl esters from lipoprotein and macrophage lipid subclasses on thin-layer plates. *Lipids*, 31: 1303-1310.

Received for publication on October 5, 1998

Accepted for publication on January 21, 1999

## Contact Address:

Tomáš Komprda, Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: 05/45 13 32 61, fax: 05/45 21 20 44

# **INSTITUTE OF AGRICULTURAL AND FOOD INFORMATION**

**Slezská 7, 120 56 Praha 2, Czech Republic**

**Fax: (00422) 24 25 39 38**

---

In this institute scientific journals dealing with the problems of agriculture and related sciences are published on behalf of the Czech Academy of Agricultural Sciences. The periodicals are published in the Czech or Slovak languages with long summaries in English or in English language with summaries in Czech or Slovak.

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

---

<b>Periodical</b>	<b>Number of issues per year</b>
Rostlinná výroba (Plant Production)	12
Czech Journal of Animal Science (Živočišná výroba)	12
Veterinární medicína (Veterinary Medicine – Czech)	12
Zemědělská ekonomika (Agricultural Economics)	12
Journal of Forest Science	12
Zemědělská technika (Agricultural Engineering)	4
Plant Protection Science (Ochrana rostlin)	4
Czech Journal of Genetics and Plant Breeding (Genetika a šlechtění)	4
Zahradnictví (Horticultural Science)	4
Czech Journal of Food Sciences (Potravinařské vědy)	6

---

# VPLYV PRÍDAVKU SYNTETICKÝCH FARBÍV DO KRMIVA NA SFARBENIE ŽLTKA SLEPAČÍCH VAJEC

## THE EFFECT OF SYNTHETIC PIGMENT ADDITION TO FEED ON THE COLOR OF HEN EGG YOLK

M. Halaj<sup>1</sup>, P. Halaj<sup>1</sup>, F. Valášek<sup>2</sup>, F. Moravčík<sup>2</sup>, M. Melen<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Slovak University of Agriculture, Nitra, Slovak Republic

<sup>2</sup>TEKRO, s.r.o., Dvory nad Žitavou, Slovak Republic

**ABSTRACT:** Synthetic pigment Carophyll I, II and III was added to feed with the content of 10.24 MJ/ME, 17.19% protein and 3.62% calcium in a trial on laying hens of Shaver Starcross 288 hybrid at 42 weeks of age. Groups of 15 laying hens received experimental diets for a fortnight, followed by a fortnight interruption and repeated application of experimental diets. Pigmentation intensity increased within 7–10 days, remaining at the same level in the next period: control 6.54 degrees of the color circle Hoffman La Roche, C-I 8.46, C-II 9.37 and C-III 10.09. After the use of experimental diet was terminated, a great decrease in yolk pigmentation occurred in 5–7 days. Positive effects of Carophyll addition were reflected in the laying intensity of experimental hens that increased by 2.22% in, egg weight higher by 4.7%, egg content production per feeding day higher by 7.49%, and in a decrease in the percentage of nonstandard eggs.

**Keywords:** laying hen; egg; yolk; Carophyll; color

**ABSTRAKT:** V pokuse so sliepkami Shaver Starcross 288 vo veku 42 týždňov sme použili prídavky syntetického pigmentačného prípravku Carophyll I, II a III do krmnej zmesi s obsahom 10,24 MJ/ME, 17,19 % NL a 3,62 % vápnika. Skupiny po 15 sliepkach sme 14 dní krmili pokusnými zmesami so 14dňovým prerušením a opätovným kŕmením pokusnými zmesami. Intenzita pigmentácie sa zvyšovala do 7 až 10 dní a potom ostala na rovnakej úrovni: kontrolná 6,54 stupňov farebného vejára Hoffman La Roche, C-I 8,46, C-II 9,37 a C-III 10,09. Po vyradení pokusnej zmesi nastal prudký pokles pigmentácie žltka po 5 až 7 dňoch. Priaznivý efekt prídavku Carophyllu sa prejavil u pokusných sliepok aj vo vyššej intenzite znášky o 2,22 %, hmotnosti vajca o 4,7 %, produkcie vaječnej hmoty na kŕmny deň o 7,49 % a v znížení podielu neštandardných vajec.

**Kľúčové slová:** sliepka; vajce; žltok; Carophyll; sfarbenie

### ÚVOD

Spotrebiteľia vo väčšine krajín dávajú prednosť vajciam s intenzívne sfarbeným vaječným žltkom. Preto má pigmentácia veľký vplyv na predajnosť vajec. Pigmentáciu vaječného žltka usmerňuje prívod karotenoidov do organizmu, ktorý ho ukladá do pohlavnej bunky – žltka (Fučíková *et al.*, 1997). Významný je beta-karotén, ktorý je provitamínom A, ale má aj ďalšie významné funkcie. Pôsobí ako antioxidant, priaznivo účinkuje vo vzťahu s reprodukciou zvierat, znižuje embryonálnu úmrtnosť, stimuluje činnosť lipoproteínov vysokej hustoty (HDL) a má význam v prevencii cievných ochorení. Olson (1996) navrhol karotenoidy a im účinkom podobné látky nazvať „fyziologické modulatory“.

Sfarbenie vaječného žltka je podmienené rôznymi špecifickými faktormi ako výživa, choroby, genetika, chovateľské prostredie, spracovateľské postupy, ale závisí aj od vlastnej chemickej štruktúry pigmentačných látok, t.j. od chemickej štruktúry karotenoidov. Pig-

mentačný účinok jednotlivých karotenoidov je závislý od ich schopnosti ukladať sa do žltka, ako aj od ich farebného odteňa.

Mechanizmus pigmentácie žltka popisuje Wells (1966). Intenzita sfarbenia – farebný tón – závisí od absorpcie v zažívacom trakte (Karunajeewa *et al.*, 1984) a tiež od strát pri látkovej premene, ich schopnosti premeny na vitamín A (Fletcher, 1980), ako aj schopnosti transformovať sa do vaječného žltka (De Groot, 1970).

Firma Hoffman La Roche vyrába pre hydinu Carophyll Red, Carophyll Yellow a firma BASF vyrába Lucation. Carophyll červený (Red) obsahuje 10 % kanthaxantínu – červeno farbiaceho karotenoidu.

Carophyll žltý (Yellow) obsahuje 10 % beta-apo-8'etylésteru kyseliny karoténovej – žltá farbiaci karotenoid, ktorý má vyššiu pigmentačnú účinnosť ako natívne xantofyly.

Červený a žltý Carophyll sú kŕmne prípravky so špeciálnou receptúrou.

Pigmentácia vaječného žltka závisí od vlnovej dĺžky – odtiene od žltej po červenú, sýtosť farby – koncentrácie farbiva a od odrazu, lebo jasnosti – intenzita svetla a prenikavosť farby.

Posudzuje sa buď spektrofotometricky, alebo vizuálne za použitia farebnej škály vejára Hoffman La Roche. Podrobný postup a podmienky hodnotenia farby žltka uvádza Vuilleumier (1969).

Rôzna intenzita sfarbenia vaječného žltka sa dosiahne miešaním Carophyllu červeného a žltého v určitom pomere. Tak firma Roche v propagačnom materiáli uvádza ich pomery pre rôznu intenzitu sfarbenia vaječného žltka podľa škály vejára Hoffman La Roche. Firma TEKRO, s. r. o., pripravila prídavky označené ako Carophyll I, II a III pre intenzitu sfarbenia žltka 8–9, 10–11, 11–12.

Pinchasov *et al.* (1992), ktorí pridávali odstupňované dávky Carophyllu Red (0, 10, 20, 30 mg.kg<sup>-1</sup>) do krmiva sliepkam, zistili lineárnu závislosť prídavku Carophyllu Red na intenzitu sfarbenia vaječného žltka, ako aj behákov. Sfarbenie bolo intenzívnejšie, ak bola do zmesi pridaná glutenová múčka z kukuričného zrna.

Priaznivý efekt *n*-3 mastných kyselín v krmive na sfarbenie a využitie karotenoidov sliepkami popisuje Hammershoj (1995). Sullivan a Hellemann (1962) sa domnievajú, že tuky vplyvajú priaznivo na absorpciu a nepriaznivo na stabilitu karotenoidov.

Burley a Vadehra (1989) uvádzajú štruktúru karotenoidov v žltku slepačích vajec takto: Lutein A – 40 %, Zeaxanthin – 19,8 %, Canthaxanthin – 17,9 %, Cryptoxanthin – 17,3 %, karoteny – 5 %. Úroveň beta-karoténu v žltku závisí od zásob vitamínu A v pečeni.

Mechanizmus prirodzených listových karotenoidov v organizme sliepky a ich ukladanie do vajčička popisujú Tanagi *et al.* (1991).

Bartov a Borstein (1964) zistili pri kukurici hodnoty xantofilov v zrne kukurice 17 mg.kg<sup>-1</sup>, u lucernejvej múčky 229 mg.kg<sup>-1</sup>. De Groote (1970) uvádza u kukurice 20 mg.kg<sup>-1</sup> a u lucernejvej múčky 140 mg.kg<sup>-1</sup> xantofilu zloženého z luteínu a zeaxantínu. Tieto farbivá však skladovaním strácajú pôvodné zloženie, a preto sú nestabilným zdrojom pigmentov. Borstein a Bartov (1966) zistili 15–22% utilizáciu karotenoidov lucernej a 26–31% utilizáciu zrna kukurice.

V práci hodnotíme výsledky pri použití pigmentačného prídavku Carophyll I, II, III u sliepok nosivého typu Starcross 288 vo vrchole znášky.

## MATERIÁL A METÓDA

K pokusu sme použili sliepky nosivého hybridu Shaver Starcross 288 vo veku 42 týždňov. Sliepky boli individuálne umiestnené v klietkovej trojetážovej batérii v hale s oknami. Bioklimatické podmienky sme zabezpečili podľa požiadaviek technologického postupu pre tohto hybridu. Ku kŕmeniu sme použili kompletnú kŕmnu zmes HYD-10 s obsahom živín zisteným analýzou a prepočtom: ME 10,24 MJ.kg<sup>-1</sup>, ML 17,19 %,

metionín + cystín 6,99 mg, lyzín 8,24 mg, tuk 2,34 %, vláknina 3,42 %, vápnik 3,62 %, fosfor 0,74 %.

Sliepky v každej etáži predstavovali skupinu, t.j. 15 sliepok, ktoré boli podľa znášky od 150. dňa (pohlavná dospelosť) do 294. dňa veku rozdelené rovnomerne do týchto skupín:

Kontrolná – kŕmená kompletnou kŕmnu zmesou HYD-10 (ZKZ)

- I. pokusná – ZKZ + Carophyll I 0,5 % – C-I
- II. pokusná – ZKZ + Carophyll II 0,5 % – C-II
- III. pokusná – ZKZ + Carophyll III 0,5 % – C-III.

Sliepky boli vážené pri začiatku pokusu, pri striedaní krmiva a pri ukončení pokusu. Zloženie kŕmnych zmesí, ich obsah živín a zloženie Carophyllov I, II a III uvádzame v tab. I a II.

Pokusné obdobie bolo členené na tieto etapy:

- I. etapa – kŕmenie zmesami s prídavkom CI, CII, CIII – 1. až 14. deň
- II. etapa – kŕmenie ZKZ – 15. až 28. deň
- III. etapa – kŕmenie zmesami s prídavkom CI, CII, CIII – 29. až 42. deň

Boli sledované tieto ukazovatele:

1. živá hmotnosť, spotreba krmiva
2. znáška, hmotnosť vajec, štandardnosť vajec, úhyn a zdravotný stav (denne)
3. analýza vajec z každej skupiny od 5 sliepok, denne znesené vajcia v počte: K – 184 ks, CI – 179 ks, CII – 178 ks, CIII – 185 ks; spolu 726 ks vajec.

Vajcia boli analyzované v trojdňových intervaloch metodikou, ktorú popísal Halaj (1976a, b). Hodnotené boli: hmotnosť vajec, hmotnosť žltka, hmotnosť škrupiny. Farba vaječného žltka bola posudzovaná jednou osobou počas pokusu. Posudzovanie sa robilo za denného svetla pri vážení žltka. Listy vejára sa držali nad žltkom a vizuálne sa hodnotila farba vertikálnym pohľadom zhora.

Získané výsledky boli štatisticky spracované (Snedecor, Cochran, 1980) na personálnom počítači.

## VÝSLEDKY

Hodnotili sme vplyv syntetického pigmentačného prídavku Carophyll do kompletnej kŕmnej zmesi na úžitkovosť sliepok (tab. III) a na sfarbenie vaječného žltka (tab. IV, obr. 1).

Zo získaných ukazovateľov môžeme vyvodit pozitívny vplyv prídavku Carophyllu na znášku za sledované obdobie. V porovnaní s kontrolnou skupinou zniesli sliepky v pokusných skupinách CI o 2,76 %, CII o 3,97 % a CIII o 0,91 % viac vajec. V jednotlivých etapách pokusu odpovedá dynamika intenzity znášky jej postupnému zvyšovaniu v tejto fáze znášky. Hmotnosť sliepok sa počas pokusu nemenila, čo znamená, že ich rast bol ukončený a boli vo vrchole znášky.

Spotreba krmiva bola všeobecne úsporná, čo prezentuje 166 g u kontrolnej skupiny a 134–152 g u pokus-

I. Zloženie kompletnej kŕmnej zmesi pre slepky HYD I (MV RM-1) – Formulation of complete feed mixture for laying hens HYD I (MV RM-1)

Komponent <sup>1</sup>	Podiel <sup>12</sup> (%)	Orientačný obsah živín <sup>13</sup>	Minerálne látky <sup>14</sup>	
Kukurica <sup>2</sup> (8 % NL)	39,56	NL	16,51 %	Ca (g) 35,99
Pšenica kŕmna <sup>3</sup> (11 % NL)	25,00	tuk	3,89 %	P (g) 6,04
Kŕmna múka pšeničná <sup>4</sup>	2,00	vláknina	2,84 %	Na (g) 1,71
Sójový extrahovaný šrot <sup>5</sup> (45 % NL)	19,00	popol	10,10 %	Cu (mg) 18,96
Mäsokostná múčka <sup>6</sup> (MK-II)	2,00	ME/MJ	11,617 MJ/kg <sup>-1</sup>	Fe (mg) 169,70
Rybia múka <sup>7</sup> II	1,00	aminokyseliny	g/kg <sup>-1</sup>	Mn (mg) 88,34
Repkový olej <sup>8</sup>	1,30	lyzín	8,24	Zn (mg) 97,84
MKP-2	1,80	metionín + cystín	6,99	Se (mg) 0,09
Kŕmna soľ <sup>9</sup>	0,30	threonín	6,01	CaCO <sub>3</sub> (%) 8,08
Kŕmny vápenec <sup>10</sup>	7,20	tryptofan	1,92	
Aliment <sup>11</sup>	0,14	vitamíny <sup>15</sup>		
P x SK var. C (5 %)	0,50	A (m.j./kg <sup>-1</sup> )	102 196	
		D <sub>3</sub> (m.j./kg <sup>-1</sup> )	2 000	
		E (m.j./kg <sup>-1</sup> )	18,31	
		B <sub>2</sub> (m.j./kg <sup>-1</sup> )	5,46	
		B <sub>12</sub> (m.j./kg <sup>-1</sup> )	13,66	
	100,00	kyselina linoenová (g)	14,89	

<sup>1</sup>ingredient, <sup>2</sup>corn, <sup>3</sup>feeding wheat, <sup>4</sup>feeding wheat flour, <sup>5</sup>soybean meal, <sup>6</sup>meat-bone meal, <sup>7</sup>fish meal, <sup>8</sup>rapeseed oil, <sup>9</sup>feeding salt, <sup>10</sup>feeding limestone, <sup>11</sup>aliment, <sup>12</sup>percentage amount, <sup>13</sup>tentative nutrient content, <sup>14</sup>minerals, <sup>15</sup>vitamins

II. Zloženie prípravku Carophyll I, II a III v premixe (1 000 g) TKP-N-A – Composition of the pigment Carophyll I, II, III in premix (1,000 g) TKP-N-A

	Carophyll		
	I	II	III
Sfarbenie stupnice vejára Hoffman La Roche <sup>1</sup>	7–8	9–10	11
Carophyll Yellow (mg)	2 000	4 000	6 000
Carophyll Red (mg)	2 000	2 500	5 000

Premix sa pridáva v 0,5 % podiele do kŕmnej zmesi – Premix is added to the feed mixture at a 0.5% level

<sup>1</sup>pigmentation degree in the color circle Hoffman La Roche

ných skupín na vajce. To predstavuje úsporu na vajce v skupinách CI – 13,8 g, CII – 31,5 g a CIII – 26,6 g v porovnaní s kontrolou. Pri prepočte konverzie krmiva a jeho účinnosti sme zistili pozitívny vplyv prídavku Carophyllu na produkciu vajec slepkou z 1 kg krmiva. U skupín to predstavovalo: K – 6,02 ks, CI – 6,57 ks, CII – 7,43 ks, CIII – 7,22 ks vajec.

V prepočte na vaječnú hmotu sme dostali tieto pomery: Z 1 kg zmesi HYD 10 vyrobili slepky nasledovnú masu vaječnej hmoty: K – 371,7 g, CI – 416,9 g, CII – 482,5 g, CIII – 472,5 g.

Za obdobie pokusu (42 dní) vyprodukovala každá slepka toto množstvo vaječnej hmoty: K – 2 180 g, CI – 2 310 g, CII – 2 390 g, CIII – 2 360 g.

Výskyt neštandardných vajec bol u skupiny CI-2 o 1,65 % vyšší ako v kontrolnej skupine. U pokusných skupín CI-1 a CIII-3 bol podiel neštandardných vajec o 3,57 a 4,75 % nižší ako u slepek kontrolnej skupiny. Úhyn slepiek počas pokusu nebol zaznamenaný.

Sfarbenie vaječného žltka vplyvom prídavku Carophyllu v 0,5% podiele do kŕmnej zmesi sa prejavil v tendenciách a hladinách deklarovaných výrobcem. Ukázali sa výrazné rozdiely medzi skupinami (tab. IV), pričom štatisticky významné rozdiely boli len medzi skupinami s prídavkami CI, CII ku CIII, a to 8,46, resp. 9,37 ku 10,09 stupňom farebnej škály vejára Hoffman La Roche.

Sumárne hodnotené etapy za všetky skupiny nevykazujú v sfarbení žltka výrazné rozdiely. Preukazné ( $P < 0,05$ ) sú medzi 1. a 2. týždňom po podaní prídavku, alebo jeho vyradení z kŕmenia.

Dynamika pigmentácie žltka po pridaní Carophyllu sa prejavila po 7 až 10 dňoch a potom si túto hladinu udržala na približne rovnakej úrovni (obr. 1). Po náhrade krmiva základnou zmesou (ZKZ) sme pozorovali postupné znižovanie intenzity sfarbenia žltka, výrazné po 5 až 7 dňoch. Po opätovnom zaradení krmiva s prídavkom pigmentačných látok sa opäť postupne zvyšuje

III. Ukazovatele úžitkovosti sliepok kŕmených kompletnými zmesami s prídavkom Carophyllu – Performance indicators of laying hens receiving complete feed mixtures with Carophyll addition

Ukazovateľ <sup>1</sup>	Skupina <sup>12</sup>			
	kontrolná <sup>13</sup> ZKZ	C-I ZKZ + Carophyll I	C-II ZKZ + Carophyll II	C-III ZKZ + Carophyll III
Znáška vajec <sup>2</sup>	(ks / %)			
I. etapa <sup>3</sup>	160 / 71,10	186 / 82,67	174 / 77,33	175 / 77,77
II. etapa	187 / 95,89	186 / 85,38	195 / 100,0	180 / 92,31
III. etapa	183 / 93,85	174 / 89,23	174 / 94,36	180 / 92,31
Celkom <sup>4</sup>	530 / 90,60	546 / 93,33	553 / 94,53	535 / 91,45
Spotreba krmiva na 1 vajec <sup>5</sup>	(g / g/g)			
I. etapa	166,0 / 2,83	152,2 / 2,43	134,5 / 2,09	139,4 / 2,14
II. etapa	133,7 / 2,13	133,8 / 2,07	147,3 / 2,26	181,6 / 2,74
III. etapa	125,2 / 1,97	124,7 / 1,96	144,5 / 2,21	142,2 / 2,19
Spolu <sup>4</sup>	138,6 / 2,16	137,2 / 2,16	142,3 / 2,19	154,4 / 2,36
Živá hmotnosť sliepok na začiatku pokusu <sup>6</sup> (g)	1 598	1 816	1 701	1 719
Prírastok za 42 dní <sup>7</sup> (g)	1,03	1,02	1,02	1,03
Hmotnosť vajca <sup>8</sup> (g)				
I. etapa	44,68	55,34	53,34	54,28
II. etapa	55,86	57,00	60,28	56,81
III. etapa	55,56	52,65	57,40	55,77
Spolu priemer <sup>9</sup>	51,91	55,00	57,00	55,61
Produkcia vaječnej hmoty <sup>10</sup>	(g/KD)			
I. etapa	44,68	55,34	55,34	54,28
II. etapa	55,86	57,00	60,28	56,81
III. etapa	55,56	52,65	57,4	55,77
Celkom	51,91	55,00	57,00	55,61
Podiel neštandardných vajec – celkom <sup>11</sup> (%)	8,11	4,58	9,76	3,36

<sup>1</sup>indicator, <sup>2</sup>egg production, <sup>3</sup>stage I, <sup>4</sup>total, <sup>5</sup>feed consumption per egg, <sup>6</sup>live weight of hens at the beginning of trial, <sup>7</sup>weight gain over 42 days, <sup>8</sup>egg weight, <sup>9</sup>total average, <sup>10</sup>egg content production, <sup>11</sup>proportion of nonstandard eggs – total, <sup>12</sup>group, <sup>13</sup>control

vala intenzita pigmentácie žltka a jej ustálenie sme pozorovali po 7 až 10 dňoch.

Rozdiely v dynamike intenzity sfarbenia žltka po pridaní či vyradení Carophyllu boli medzi skupinami približne rovnaké, viac podmienené intenzitou znášky sliepok.

## DISKUSIA

Pigmentácia vaječného žltka zaujíma výrobcov konzumných vajec pre ich lepšie speňažovanie a spracovateľov pre rozšírenú škálu ich využitia v potravinárskom priemysle najmä pri výrobe cestovín.

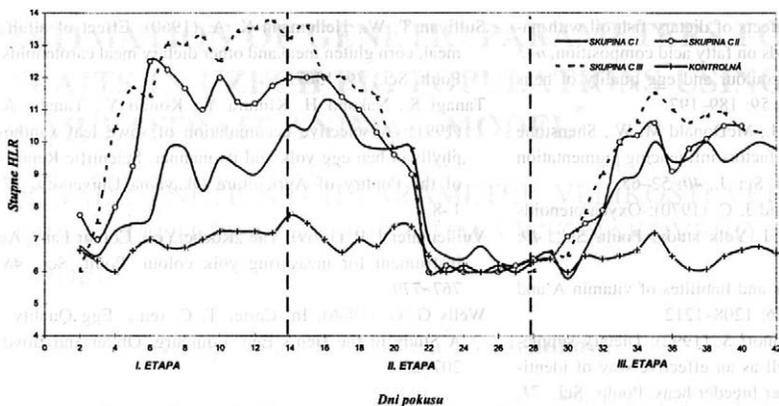
Využitie natívných zdrojov pigmentačných látok, ktoré popísali Bartov a Borstein (1974), je opodstatnené, no ich výroba a zapracovanie do kŕmnych zmesí je nákladné.

Používané syntetické farbivá, v prípade firmy Hoffman La Roche vyrábaný Carophyll Red a Carophyll Yellow, v určitom pomere zabezpečia požadovanú intenzitu sfarbenia žltka slepačieho vajca pri 0,5% podiele v kŕmnej zmesi (Anonym, 1986).

V pokuse sa zistila účinnosť Carophyllu I, II a III v deklarovanej škále fy TEKRO, s. r. o., Dvory nad Žitavou. Potvrzuje to pigmentačný účinok jednotlivých pigmentov, ako udávajú Pinchasov *et al.* (1992), a tiež dynamiku ukladania do žltka v následnosti, ktorú popísali Tanagi *et al.* (1991). Kým v kontrolnej skupine pri kŕmení štandardnou kŕmou zmesou sa dosiahlo sfarbenie žltka 6,5 stupňov farebnej škály vejára Hoffman La Roche, v skupinách s prídavkom Carophyll to bolo u CI – 8,5, CII – 9,4 a CIII – 10,1 °HLR.

Sfarbenie vaječného žltka sliepok použitím či prirodzených, alebo syntetických pigmentačných látok zvyšuje náklady na ich výrobu a zvyšuje ich nutričnú hodnotu. Sfarbenie vaječného žltka by malo byť prijaté do štandardu konzumných vajec a podľa intenzity sfarbenia žltka by mali byť upravované nákupné ceny vajec. Preto zvýraznenie účinku katorenoidov ako „fyziologické modulátory“ (Olson, 1996) je odpovedajúce pre ich široký pozitívny vplyv na látkový metabolizmus a zdravie sliepok i cez vajcia pre ich spotrebiteľov.

Vplyv beta-apo-8-carotenalu na pigmentáciu žltka je v odbornej literatúre obširne popísaný. Avšak jeho vplyv ako provitamínu A na úžitkovosť sliepok nie je



I. Dynamika sfarbenia vaječného žltka u sliepok kŕmených s prídavkom Carophyllu – Dynamics of egg yolk coloration in hens receiving Carophyll additive

skupina = group, kontrolná = control, etapa = stage, Dni pokusu = days of experiment, Stupne HLR = HLR degrees

IV. Štatistická charakteristika sfarbenia žltka sliepok kŕmených zmesou s prídavkom Carophyllu (stupne Hoffman La Roche) – Statistical characteristics of the yolk color in laying hens receiving feeds with Carophyll addition (Hoffman La Roche degrees)

Ukazovateľ <sup>1</sup>	Štatistická charakteristika <sup>9</sup>		
	$\bar{x}$	$s_x$	v (%)
Skupiny <sup>2</sup>			
Kontrolná <sup>3</sup> (ZKZ)	6,54 <sup>a</sup>	0,33	5,99
C-I – ZKZ + Carophyll I	8,46 <sup>b</sup>	0,35	7,91
C-II – ZKZ + Carophyll I	9,37 <sup>b</sup>	0,32	8,83
C-III – ZKZ + Carophyll I	10,09 <sup>c</sup>	0,36	9,54
Etapy <sup>4</sup>			
I. (1.–15. deň <sup>5</sup> )	8,72 <sup>a</sup>	0,29	8,24
II. (16.–28. deň)	8,59 <sup>a</sup>	0,31	8,12
III. (29.–42. deň)	8,54 <sup>a</sup>	0,28	8,06
Týždne (všetky skupiny etapy) <sup>6</sup>			
Prvý <sup>7</sup>	8,33 <sup>a</sup>	0,23	7,95
Druhý <sup>8</sup>	8,90 <sup>b</sup>	0,25	8,52

Rôzne písmená (a, b, c) predstavujú preukaznosť  $P < 0,05$  – Different letters (a, b, c) indicate significance  $P < 0,05$

<sup>1</sup>indicator, <sup>2</sup>groups, <sup>3</sup>control, <sup>4</sup>stages, <sup>5</sup>days, <sup>6</sup>weeks (all groups of the stage), <sup>7</sup>first, <sup>8</sup>second

rozvádzaný. I keď bol náš pokus modelový, pri odpovedajúcej početnosti vajec môžeme podľa našich výsledkov poukázať na priaznivý efekt Carophyllu na užitočnosť sliepok. Efekty karotenoidov obširne popísané v práci autorov Fučíková *et al.* (1997) sa v pokuse potvrdili.

Pri porovnávaní výsledkov pokusu sa prídavok 0,5 % Carophyllu prejavil takto: znáška bola o 2,22 % vyššia, spotreba krmiva na 1 vajce o 0,89 % nižšia, hmotnosť vajca o 4,73 % vyššia, produkcia vaječnej hmoty na kŕmny deň bola v kontrolnej skupine 51,91 g a v pokusných skupinách 55,87 g. Podiel neštandardných vajec bol u pokusných skupín nižší o 27 % v porovnaní s kontrolnou skupinou. Najpriaznivejší efekt na znášku, hmotnosť vajec a produkciu vaječnej hmoty mala skupina s prídavkom Carophyllu II.

## LITERATÚRA

- Anonym (1987): Carophyll – Barvení vaječného žloutku. Uživatelská příručka. Firemní materiál fy Roche.
- Bartov I., Borstein S. (1967): Studies on egg yolk pigmentation. 3. The effect of origin and storage conditions of yellow corn the utilization of its xanthophyll. *Poult. Sci.*, 46: 799.
- Borstein S., Bartov I. (1966): Studies on egg yolk pigmentation. I. A comparison between visual scoring of the yolk color and colorimetric assay of yolk carotenoids. *Poult. Sci.*, 45: 284.
- Burley R. W., Vadehra V. D. (1989): The avian egg chemistry and biology. New York, John Wiley and Sons.
- Cole D. J., Haresing W. (1989): Recent Developments in Poultry Nutrition. London, Butterworths: 239–260.
- De Groote D. (1970): Egg yolk pigmentation. *Wld's Poult. Sci.*, 26: 435.
- Fletcher D. L. K. (1980): An evaluation of the A.O.A.C. method of yolk color analysis. *Poult. Sci.*, 59: 1059–1066.
- Fučíková A., Mader P., Vodičková H. (1997): Význam karotenoidů pro živočišný organismus. *Zivoč. Vyr.*, 42: 229–239.
- Halaj M. (1976a): Zmeny technologických vlastností vajec hybridu Shaver Starcross 288 počas znášky. I. Dynamika vlastností celého vajca počas znáškového cyklu. *Poľnohospodárstvo*, 22: 854–862.
- Halaj M. (1976b): Zmeny technologických vlastností vajec hybridu Shaver Starcross 288 počas znášky. II. Dynamika vlastností bielka, žltka a škrupiny. *Poľnohospodárstvo*, 22: 1058–1070.
- Halaj M., Macko A., Halajová T. (1976): Vplyv prídavku biokoloru v kŕmnej dávke nosnic na sfarbenie žltka. *Acta zootechn. Univ. agric. (Nitra)*, 32: 125–130.
- Halaj M., Kyselovič I. (1993): Vplyv prirodzených zdrojov pigmentačných látok na sfarbenie vaječného žltka. In: Zbor. ved. Konf. Výživná hodnota krmív a ich vplyv na kvalitu živočišných produktov, VŠP Nitra: 147–151.
- Hall M. G., Waldroup W. P., Fry J. L., Ammer-Man C. B., Harms R. H. (1966): A comparison of the pigmentation value of alfalfa meal differing in protein and xanthophyll content. *Poult. Sci.*, 45: 639.

- Hammershoj, M. (1995): Effects of dietary fish oil with natural content of carotenoids on fatty acid composition, *n*-3 fatty acid content, yolk colour and egg quality of hens eggs. *Arch. Geflügelkde*, 59: 189-197.
- Karunajewa H., Huges R. J., McDonald M. W., Shenstone F. S. (1984): A review of factors influencing pigmentation of egg yolk. *World Poult. Sci. J.*, 40: 52-65.
- Marusich, W. L., Bauernfeind J. C. (1970): Oxycarotenoids in poultry pigmentation. I. Yolk study. *Poult. Sci.*, 49: 1555-1566.
- Olson J. A. (1966): Benefits and liabilities of vitamin A and carotenoides. *J. Nutr.*, 126: 1208-1212.
- Pinchasov V., David G., Zahori S. (1992): Dietary supplementation with xanthophyll as an effective way of identifying low-producing broiler breeder hens. *Poult. Sci.*, 71: 1436-1441.
- Snedecor G. W., Cochran W. G. (1980): *Statistical Methods*. 7th ed. Ames, Iowa, USA, Iowa State Univ. Press: 521.
- Sullivan T. W., Hellemann K. A. (1960): Effect of alfalfa meal, corn gluten meal and other dietary meal carotenoids. *Poult. Sci.*, 39: 1307.
- Tanagi S., Nakano H., Kimura Y., Kondo Y., Tanabe A. (1991): A selective accumulation of some leaf xanthophylls in hen egg yolk and its manner. *Scientific Reports of the Poultry of Agriculture Okayama University*, 77: 1-8.
- Vuilleumier J. P. (1969): The „Roche Yolk Colour Fan“. An instrument for measuring yolk colour. *Poult. Sci.*, 48: 767-779.
- Wells G. G. (1966): In: Carter T. C. (ed.): *Egg Quality - A Study of the Hen's Egg*. Edinburg, Oliver and Boyd: 207-250.

Došlo 23. 3. 1998

Prijaté k publikovaniu 10. 11. 1998

---

**Kontaktná adresa:**

Prof. Ing. Martin Halaj, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita, A. Hlinku 2, 949 76 Nitra, Slovenská republika, tel.: 087/51 17 51, fax: 087/41 14 51

---

## INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Original scientific papers, short communications, and selectively reviews, that means papers based on the study of technical literature and reviewing recent knowledge in the given field, are published in this journal. Published papers are in Czech, Slovak or English. Each manuscript must contain a short and a longer summary (including key words).

The author is fully responsible for the originality of his paper, for its subject and formal correctness. The author shall make a written declaration that his paper has not been published in any other information source.

The board of editors of this journal will decide on paper publication, with respect to expert opinions, scientific importance, contribution and quality of the paper.

The paper extent shall not exceed 15 typescript pages, including tables, figures and graphs.

**Manuscript layout:** quarto, 30 lines per page, 60 strokes per line, double-spaced typescript. A PC diskette should be provided with the paper and graphical documentation. Tables, figures and photos shall be enclosed separately. The text must contain references to all these annexes.

If any abbreviation is used in the paper, it is necessary to mention its full form at least once to avoid misunderstanding. The abbreviations should not be used in the title of the paper nor in the summary.

The title of the paper shall not exceed 85 strokes. Subtitles of the papers are not allowed either.

**Abstract** is an information selection of the subject and conclusions of the paper, it is not a mere description of the paper. It must present all substantial information contained in the paper. It shall not exceed 170 words. It shall be written in full sentences, not in form of keynotes, and comprise basic numerical data including statistical data. It must contain key words. It should be submitted in English and if possible also in Czech or Slovak.

**Introduction** has to present the main reasons why the study was conducted, and the circumstances of the studied problems should be described in a very brief form.

**Review of literature** should be a short section, containing only literary citations with close relation to the treated problem.

Only original method shall be described, in other cases it is sufficient enough to cite the author of the used method and to mention modifications of this method. This section shall also contain a description of experimental material.

In the section **Results** figures and graphs should be used rather than tables for presentation of quantitative values. A statistical analysis of recorded values should be summarized in tables. This section should not contain either theoretical conclusions or deductions, but only factual data should be presented here.

**Discussion** contains an evaluation of the study, potential shortcomings are discussed, and the results of the study are confronted with previously published results (only those authors whose studies are in closer relation with the published paper should be cited). The sections Results and Discussion may be presented as one section only.

The section **References** should preferably contain reviewed periodicals. The citations are arranged alphabetically according to the surname of the first author. References in the text to these citations comprise the author's name and year of publication. Only the papers cited in the text of the study shall be included in the list of references. All citations shall be referred to in the text of the paper.

The author shall give his full name (and the names of other collaborators), academic, scientific and pedagogic titles, full address of his workplace and postal code, telephone and fax number or e-mail.

**The manuscript will not be accepted to be filed by the editorial office if its formal layout does not comply with the instructions for authors.**

## POKYNY PRO AUTORY

Časopis uveřejňuje původní vědecké práce, krátká sdělení a výběrově i přehledné referáty, tzn. práce, jejichž podkladem je studium literatury a které shrnují nejnovější poznatky v dané oblasti. Práce jsou uveřejňovány v češtině, slovenštině nebo angličtině. Rukopisy musí být doplněny krátkým a rozšířeným souhrnem (včetně klíčových slov).

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

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu a kvalitě práce.

Rozsah vědeckých prací nesmí přesáhnout 15 strojopisných stran včetně tabulek, obrázků a grafů. V práci je nutné používat jednotky odpovídající soustavě měrových jednotek SI (ČSN 01 1300).

**Vlastní úprava rukopisu:** formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, mezi řádky dvojité mezery. K rukopisu je třeba přiložit disketu s prací pořízenou na PC a s grafickou dokumentací. Tabulky, grafy a fotografie se dodávají zvlášť, nepodlepují se. Na všechny přílohy musí být odkazy v textu.

Pokud autor používá v práci zkratky jakéhokoliv druhu, je nutné, aby byly alespoň jednou vysvětleny (vypsány), aby se předešlo omylům. V názvu práce a v souhrnu je vhodné zkratky nepoužívat.

**Název práce** (titul) nemá přesáhnout 85 úhozů. Jsou vyloučeny podtitulky článků.

**Krátký souhrn (Abstrakt)** je informačním výběrem obsahu a závěru článku, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, a má obsahovat základní číselné údaje včetně statistických hodnot. Musí obsahovat klíčová slova. Nemá překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl napsán celými větami, nikoliv heslovitě. Je uveřejňován a měl by být dodán ve stejném jazyce jako vědecká práce.

**Rozšířený souhrn (Abstract)** je uveřejňován v angličtině, měly by v něm být v rozsahu cca 1–2 strojopisných stran komentovány výsledky práce a uvedeny odkazy na tabulky a obrázky, popř. na nejdůležitější literární citace. Je vhodné jej (včetně názvu práce a klíčových slov) dodat v angličtině, popř. v češtině či slovenštině jako podklad pro překlad do angličtiny.

**Úvod** má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce realizována, a velmi stručnou formou má být popsán stav studované otázky.

**Literární přehled** má být krátký, je třeba uvádět pouze citace mající úzký vztah k problému.

**Metoda** se popisuje pouze tehdy, je-li původní, jinak postačuje citovat autora metody a uvádět jen případné odchylky. Ve stejné kapitole se popisuje také pokusný materiál.

**Výsledky** – při jejich popisu se k vyjádření kvantitativních hodnot dává přednost grafům před tabulkami. V tabulkách je třeba shrnout statistické hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické závěry.

**Diskuse** obsahuje zhodnocení práce, diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, jejichž práce mají k publikované práci bližší vztah). Je přípustné spojení v jednu kapitolu spolu s výsledky.

**Literatura** by měla sestávat hlavně z literovaných periodik. Citace se řadí abecedně podle jména lektorů autorů. Odkazy na literaturu v textu uvádějí jméno autora a rok vydání. Do seznamu se zařadí jen práce citované v textu. Na práce v seznamu literatury musí být odkaz v textu.

Na zvláštním listě uvádí autor plné jméno (i spoluautorů), akademické, vědecké a pedagogické tituly a podrobnou adresu pracoviště s PSČ, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

**Rukopis nebude redakcí přijat k evidenci, nebude-li po formální stránce odpovídat pokynům pro autory.**

## CONTENTS

**Genetics and Breeding**

- Groeneveld E., Peškovičová D.: Simultaneous estimation of the covariance structure of field and station test traits in Slovakian pig populations (in English) ..... 145

**Physiology and Reproduction**

- Kaštel R., Tučková M., Bartík M.: The effect of soya protease inhibitors on the activity of chymotrypsin in small intestine of farm animals (in Slovak) ..... 151
- Marounek M., Fievez V., Mbanzamihigo L., Demeyer D., Maertens L.: Age effects on *in vitro* caecal fermentation in rabbits (in English) ..... 157

**Nutrition and Feeding**

- Jalč D., Baran M., Siroka P.: Use of grain amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) for feed and its effect on rumen fermentation *in vitro* (in English) ..... 163
- Vaculová K., Heger J., Macháň F.: Economic aspects of feeding hull-less oat grain (in Czech) ..... 169

**Animal Products**

- Komprda T., Zelenka J., Tieffová P., Štohandlová M., Foltýn J.: Effect of the composition of commercial feed mixture on total lipid, cholesterol and fatty acids content in broiler chicken meat (in English).... 179
- Halaj M., Halaj P., Valášek F., Moravčík F., Melen M.: The effect of synthetic pigment addition to feed on the color of hen egg yolk (in Slovak)..... 187

## OBSAH

**Genetika a šlechtění**

- Groeneveld E., Peškovičová D.: Simultánný odhad kovariančnej štruktúry ukazovateľov meraných v poľnom a staničnom teste ošípaných na Slovensku ..... 145

**Fyziológia a reprodukce**

- Kaštel R., Tučková M., Bartík M.: Účinok inhibítorov proteáz v sóji na aktivitu chymotrypsínu v tenkom čreve hospodárskych zvierat ..... 151
- Marounek M., Fievez V., Mbanzamihigo L., Demeyer D., Maertens L.: Vliv věku na *in vitro* fermentaci v slepém střevě králíků ..... 157

**Výživa a krmení**

- Jalč D., Baran M., Siroka P.: Využitie amarantových zrn (*Amaranthus hypochondriacus*) ako krmiva a ich vplyv na bacherovú fermentáciu *in vitro* ..... 163
- Vaculová K., Heger J., Macháň F.: Hospodárske aspekty zkrmování zrna bezpluchého ovsu ..... 169

**Živočišné produkty**

- Komprda T., Zelenka J., Tieffová P., Štohandlová M., Foltýn J.: Vliv složení komerční krmné směsi na obsah celkových lipidů, cholesterolu a mastných kyselin v mase kuřecích brojlerů ..... 179
- Halaj M., Halaj P., Valášek F., Moravčík F., Melen M.: Vplyv prídavku syntetických farbív do krmiva na sfarbenie žltka slepačích vajec ..... 187