

ÚSTAV ZEMĚDĚLSKÝCH A POTRAVINÁŘSKÝCH INFORMACÍ

*Czech Journal of*  
**ANIMAL SCIENCE**

ŽIVOČIŠNÁ VÝROBA

ČESKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD

6

VOLUME 44  
PRAGUE  
JUNE 1999  
ISSN 1212-1819

# CZECH JOURNAL OF ANIMAL SCIENCE

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. (Výzkumný ústav živočišnej výroby, Nitra, SR)

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

Prof. Dr. hab. Andrzej Filistowicz (Akademia rolnicza, Wrocław, 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 Louda, DrSc. (Česká zemědělská univerzita, Praha, ČR)

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

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

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

Ing. Ján Poltársky, DrSc. (Výzkumný 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. (Výzkumný ústav živočišné výroby, Praha-Uhřetěves, 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 oblastí 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.

# ZMĚNY HODNOT TĚLESNÝCH ROZMĚRŮ JAKO UKAZATELŮ RŮSTU BÝČKŮ A JALOVIC PLEMEN ČESKÉ STRAKATÉ A LIMOUSIN A JEJICH KŘÍŽENCŮ\*

## VARIATIONS OF BODY MEASUREMENTS AS GROWTH INDICATORS IN BULLOCKS AND HEIFERS OF CZECH PIED AND LIMOUSIN BREEDS AND THEIR CROSSBREDS

V. Nová, F. Louda

*Czech University of Agriculture, Faculty of Agronomy, Prague, Czech Republic*

**ABSTRACT:** Seventeen body measurements were investigated that characterize the growth and muscling of bullocks and heifers of Czech Pied (C) and Limousin (Li) breeds and their crossbreds. Measurements were determined at the age of 120, 210 and 365 days. The data were statistically processed by a linear model of SAS statistic program. It was demonstrated for most body measurements at the age of 120 days that the highest average values were recorded in bullocks and heifers of the same genotype. Bullocks and heifers of Limousin breed had the highest average values of front and middle width of pelvis, of front and rear width of loins measured with a pair of compasses and of front and rear width of loins measured with a tape. Taped length of leg, girth of chest at sacrum, direct and taped body length, height at withers and at sacrum and diagonal body length were highest in bullocks and heifers of C x Li crossbreds. The highest average values of rear width of pelvis, half-circumference of thighs and girth of chest were determined in C x Li bullocks and Li heifers; C x Li bullocks and C heifers had the largest metacarpal circumference. The lowest average values of all body measurements (except metacarpal circumference) were determined in bullocks of C breed. Heifers had the lowest average values of most body measurements in C breed, but the average values of direct, taped and diagonal body length and metacarpal circumference were lowest in Li breed. Bullocks and heifers were found to have the highest average values for the same genotype at 210 days of age. All body measurements determined on loins, taped leg length, girth of chest, girth of chest at sacrum, direct body length, taped body length, height at withers and at sacrum, diagonal body length and metacarpal circumference were largest in bullocks and heifers of C x Li crossbreds. The half-circumference of thighs in bullocks and heifers was largest in Li breed while the taped length of leg had the same value in Li bullocks and C x Li bullocks. The highest average values of front and middle width of pelvis were determined in C x Li bullocks and C heifers, the highest average value of rear width of pelvis was recorded in C x Li bullocks and Li heifers. Li breed had the lowest average values of most body measurements in bullocks and heifers. The circumference of thighs, taped length of leg and rear width of pelvis were smallest in bullocks and heifers of C breed. Front width of loins measured with a pair of compasses was smallest in C bullocks and Li heifers. Bullocks and heifers had the highest average values for different genotypes at 365 days of age. The highest average values of middle width of pelvis, rear width of loins measured with a pair of compasses, taped length of leg, girth of chest, girth of chest at sacrum, taped body length, height at withers and at sacrum, and diagonal body length were determined in C x Li bullocks and C heifers, the highest average values of rear width of pelvis were found in Li bullocks and C heifers. Front width of pelvis, direct body length and metacarpal circumference were largest in bullocks and heifers of C breed while front width of loins measured with a pair of compasses, front and rear width of loins measured with a tape and half-circumference of thighs were largest in C x Li bullocks and heifers. The lowest average values of most body measurements were determined in bullocks and heifers of Li breed. Half-circumference of thighs was smallest in bullocks and heifers of C breed, rear width of pelvis was smallest in C bullocks and Li heifers. The above results document heterosis effect at 120 and 210 days of age for the size of body frame in crossbred bullocks and heifers. Heterosis effect at 365 days of age was obvious mainly in C x Li bullocks, but not in C x Li heifers. It follows from statistical data processing that the highest growth rate was observed in crossbred bullocks and heifers until 120 days of age. Li breed had the higher growth rate than C breed in that period. The highest growth rate between 120 and 210 days of age was determined in crossbred bullocks and heifers. Li breed had the lowest growth rate of bullocks and heifers at the age of 210 to 365 days if compared with Czech Pied cattle and crossbreds – the lowest values of almost all body measurements were recorded in bullocks and heifers of Li breed. Only the half-circumference of thighs was smallest in bullocks and heifers of Czech Pied breed. The highest growth rate at that period was determined in bullocks-crossbreds and in heifers of C breed.

**Keywords:** beef cattle; crossbreds; growth; body measurements

\* Práce byla řešena v rámci grantového úkolu NAZV č. 7162 ve VÚCHS v Rapotíně.

**ABSTRAKT:** Sledovali jsme 17 tělesných rozměrů charakterizujících růst a osvalení u býčků a jaloviček plemen české strakaté (C) a limousin (Li) a jejich kříženců (C x Li). Měření probíhalo ve věku zvířat 120, 210 a 365 dní. Naměřené hodnoty tělesných rozměrů byly statisticky vyhodnoceny lineárním modelem statistického programu SAS. Bylo zjištěno, že ve věku 120 a 210 dní se u býčků i jaloviček C x Li projevil heterozní efekt ve velikosti tělesného rámce. Ve věku 365 dní se tento heterozní efekt projevil u býčků C x Li, ale již ne u jaloviček C x Li. Ve věku 365 dní dosáhly nejvyšších průměrných hodnot u většiny tělesných rozměrů jalovičky plemene C a býčci C x Li. Do věku 120 dní byla nejvyšší intenzita růstu zjištěna u býčků i jaloviček C x Li. V tomto období vykazovalo plemeno limousin vyšší intenzitu růstu než plemeno české strakaté. Ve věku 120 dní dosáhla u býčků i u jaloviček většina tělesných rozměrů vyšších hodnot u plemene Li než u plemene C. Poloobvod stehna a vnitřní délka kýty byly ve věku 120 dní nejmenší u býčků i jaloviček plemene C. Ve věku 120 až 210 dní byla nejvyšší intenzita růstu zjištěna opět u kříženců obou pohlaví. V tomto období byla u býčků i jaloviček vyšší intenzita růstu délkových tělesných rozměrů u plemene C než u plemene Li. Poloobvod stehna a vnitřní délka kýty byly ve věku 210 dní opět nejmenší u býčků i u jaloviček plemene C. Od věku 210 dní do věku 365 dní vykazovali býčci i jalovičky plemene Li ve srovnání s plemene C a s kříženci nejvyšší intenzitu růstu – u téměř všech sledovaných tělesných rozměrů byly zjištěny u býčků i u jaloviček plemene Li nejnižší hodnoty. Pouze poloobvod stehna byl nejnižší u býčků i u jaloviček plemene C. Od věku 210 dní do 365 dní byla zjištěna nejvyšší intenzita růstu u býčků u kříženců a u jaloviček u českého strakatého skotu.

**Klíčová slova:** masný skot; kříženci; růst; tělesné rozměry

## ÚVOD

Produkce masa je v podstatě funkcí růstu a plodnosti, proto se pozornost v celosvětovém měřítku obrací k procesům růstu (Příbyl *et al.*, 1984). Působení růstové křivky je závislé na plemeni a pohlaví.

Bartoň *et al.* (1996) porovnávali u plemene české strakaté a černostrakaté výšku v kohoutku a v kříži, obvod hrudi, šířku hrudníku, délku pánve, objem kýty, hloubku hrudníku a šířkové rozměry pánve. Ve věku 12 měsíců zjistili mezi oběma plemeny větší diference než před porážkou. Teslík *et al.* (1989) zjišťovali u býčků plemene české strakaté (C), herefordské (He) a jejich kříženců (C x He) těsně před porážkou sedm tělesných rozměrů. Uvádějí, že téměř všechny tělesné rozměry vykazují významné rozdíly mezi skupinou C na jedné straně a skupinami He a C x He na straně druhé. Z údajů usuzují na větší podobnost stavby těla kříženců a býčků He. Gálik a Páleník (1985) měřili těsně před porážkou křížence slovenského strakatého plemene se čtyřmi specializovanými masnými plemeny skotu. Býci-kříženci s plemeny Li patřili k nejdělským, jalovice téhož genotypu naopak k nejkratším zvířatům – největší mezipohlavní rozdíly činily 9,7 %. Teslík *et al.* (1995) zjistili u býčků C a u kříženců s C x Li před porážkou statisticky významné rozdíly pouze ve výšce v kříži. U jalovic C x He zjistili nejmenší tělesný rámec. Teslík *et al.* (1987) porovnávali na základě hodnot před porážkou růst českého strakatého skotu a jeho kříženců s plemem Li. Mezi býky nezjistili u žádného rozměru statisticky významné rozdíly. Býci skupiny C x Li měli menší tělesný rámec. Rovněž mezi jalovicemi nezaznamenali statisticky významné rozdíly. Problematikou tělesných rozměrů u býčků českého strakatého plemene – jedináčků i dvojčat ve věku 6 až 18 měsíců se zabývali Šmerha a Louda (1976, 1977).

## MATERIÁL A METODA

Cílem sledování bylo porovnat ve věku 120 až 365 dní změny hodnot tělesných rozměrů jako ukazatelů růstu mezi býčky a jalovičkami plemene C a Li a jejich kříženců a ověřit hypotézu, zda se projeví heterozní efekt ve velikosti tělesného rámce u kříženců C x Li.

Telata zařazená do pokusu byla rozdělena do šesti skupin podle genotypu a pohlaví takto:

Býčci: Li – 22 ks, C – 32 ks, C x Li – 20 ks  
Jalovičky: Li – 24 ks, C – 25 ks, C x Li – 21 ks

Růstová schopnost pokusných zvířat byla zjišťována ve věku 120, 210 a 365 dní vážením a měřením 17 tělesných rozměrů charakterizujících masnou užitkovost, růst a vývin.

Byly sledovány tyto rozměry: přední šířka pánve, střední šířka pánve, zadní šířka pánve, přední šířka beder měřená kružidlem, zadní šířka beder měřená kružidlem, přední šířka beder měřená páskou, zadní šířka beder měřená páskou, poloobvod stehna, vnitřní délka kýty, obvod hrudníku, křížový obvod hrudníku, přímá délka těla, vnitřní délka těla, výška v kohoutku, výška v kříži, šikmá délka těla, obvod holeně.

Naměřené hodnoty tělesných rozměrů byly statisticky vyhodnoceny ve statistickém programu SAS lineárním modelem podle rovnice:

$$y_{ij} = \mu + PL_i + POH_j + PLPOH_{ij} + e_{ij}$$

kde:  $y_{ij}$  – sledovaný ukazatel  
 $\mu$  – průměr souboru  
 $PL_i$  – vliv  $i$ -tého genotypu,  $i = 1, \dots, 3$   
 $POH_j$  – vliv  $j$ -tého pohlaví,  $j = 1, 2$   
 $PLPOH_{ij}$  – interakce genotypu a pohlaví  
 $e_{ij}$  – reziduum

Porovnání hodnot tělesných rozměrů bylo provedeno ve věku 120, 210 a 365 dní zvlášť u býčků a jaloviček

ček jednotlivých genotypů při vyloučení vlivu pohlaví a genotypu. Rozdíly mezi testovanými skupinami byly vyhodnoceny na hladině pravděpodobnosti  $P < 0,05$ ,  $P < 0,01$  a  $P < 0,001$ .

## VÝSLEDKY A DISKUSE

Ve věku 120 dní byly u býčků (tab. I) zjištěny statisticky významné ( $P < 0,001$ ) rozdíly mezi C a Li u střední šířky pánve, přední šířky beder měřené kružidlem, poloobvodu stehen a vinuté délky kýty, mezi C a C x Li u poloobvodu stehen, vinuté délky kýty, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, výšky v kohoutku a šikmé délky těla a na hladině významnosti  $P < 0,01$  rozdíly mezi C a Li u zadní šířky beder měřené kružidlem, křížového obvodu hrudníku, výšky v kohoutku a výšky v kříži, mezi Li a C x Li u přední šířky beder měřené kružidlem, přímé délky těla, šikmé délky těla a obvodu holeně, mezi C a C x Li u zadní šířky pánve, obvodu hrudníku, vinuté délky těla a výšky v kříži. Na hladině významnosti  $P < 0,05$  byly u býčků zjištěny rozdíly mezi C a Li u přední a zadní šířky pánve, přední šířky beder měřené páskou a obvo-

du hrudníku a mezi C a C x Li u střední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem a obvodu holeně.

U jaloviček ve věku 120 dnů (tab. II) byly na hladině významnosti  $P < 0,001$  zjištěny rozdíly mezi C a Li u přední šířky beder měřené kružidlem a u poloobvodu stehen, na hladině významnosti  $P < 0,01$  mezi Li a C x Li u přední šířky beder měřené kružidlem a na hladině významnosti  $P < 0,05$  mezi C a Li u střední a zadní šířky pánve, přímé délky těla a obvodu holeně, mezi Li a C x Li u přímé délky těla a mezi C a C x Li u poloobvodu stehen.

Ve věku 210 dnů byly u býčků (tab. III) zjištěny statisticky významné rozdíly ( $P < 0,001$ ) mezi C a Li u přední šířky pánve a poloobvodu stehen, mezi Li a C x Li u přední šířky pánve, obvodu hrudníku, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, výšky v kohoutku a v kříži a u šikmé délky těla a mezi C a C x Li u poloobvodu stehen, křížového obvodu hrudníku a výšky v kříži, na hladině významnosti  $P < 0,01$  mezi C a Li u přímé délky těla, mezi Li a C x Li u zadní šířky beder měřené kružidlem, mezi C a C x Li u zadní šířky pánve, přední a zadní šířky beder měřené kružidlem, obvodu hrudníku a výšky v kohoutku a na hladině význam-

I. Základní statistické charakteristiky tělesných rozměrů u býčků jednotlivých genotypů ve věku 120 dní – Basic statistical data on body measurements in bullocks of the particular genotypes at 120 days of age

|   | Býčci C <sup>18</sup> n = 32 |               | Býčci Li <sup>19</sup> n = 22 |               | Býčci C x Li <sup>20</sup> n = 20 |               | Rel. HE |     |
|---|------------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------|-----|
|   | $\bar{x}$ (cm)               | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ |         | %   |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 28,4 *                       | 0,32          | 29,4                          | 0,38          | 28,8                              | 0,40          |         | –   |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 33,6 ****                    | 0,38          | 36,1                          | 0,46          | 35,1 c*                           | 0,49          |         | –   |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 19,3 *                       | 0,34          | 20,7                          | 0,41          | 21,0 c**                          | 0,43          |         | 5,0 |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 19,8 ****                    | 0,29          | 22,0 b**                      | 0,35          | 20,5                              | 0,36          |         | –   |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 23,5 ***                     | 0,32          | 24,9                          | 0,38          | 24,5 c*                           | 0,40          |         | –   |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 28,0 *                       | 0,43          | 29,7                          | 0,52          | 29,0                              | 0,54          |         | –   |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 31,5                         | 0,43          | 32,6                          | 0,52          | 32,5                              | 0,54          |         | –   |
| Poloobvod stehen <sup>8</sup>             | 80,3 ****                    | 1,06          | 89,4                          | 1,28          | 90,7 c***                         | 1,34          |         | 6,9 |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 127,9 ****                   | 1,38          | 136,1                         | 1,66          | 140,2 c***                        | 1,74          |         | 6,2 |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 125,1 *                      | 1,32          | 130,1                         | 1,59          | 131,8 c**                         | 1,67          |         | 3,3 |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 136,7 ***                    | 1,57          | 143,1                         | 1,90          | 146,6 c***                        | 1,99          |         | 4,8 |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 56,0                         | 0,74          | 56,9 b**                      | 0,90          | 60,9 c***                         | 0,94          |         | 7,9 |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 122,5                        | 1,16          | 124,9                         | 1,40          | 127,7 c**                         | 1,47          |         | 3,2 |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 95,4 ***                     | 0,76          | 99,2                          | 0,92          | 99,9 c***                         | 0,97          |         | 2,7 |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 102,7 ***                    | 0,80          | 106,9                         | 0,97          | 107,0 c**                         | 1,02          |         | 2,1 |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 103,0                        | 1,12          | 105,5 b**                     | 1,35          | 110,7 c***                        | 1,42          |         | 6,2 |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 16,2                         | 0,21          | 15,7 b**                      | 0,25          | 16,9 c*                           | 0,26          |         | 6,0 |

Legenda k tabulkám I–VI – Legend to Tables I–VI:

a – statistické rozdíly mezi plemeny české strakaté a limousin – statistical differences between Czech Pied cattle and Limousin breed

b – statistické rozdíly mezi plemem limousin a kříženci – statistical differences between Limousin breed and crossbreeds

c – statistické rozdíly mezi českým strakatým plemem a kříženci – statistical differences between Czech Pied cattle and crossbreeds

Rel. HE – relativní heterozní efekt v % – relative heterosis effect in %

C = české strakaté plemeno – Czech Pied breed, Li = plemeno limousin – Limousin breed, C x Li = kříženci – crossbreeds

\*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$

<sup>1</sup>front width of pelvis, <sup>2</sup>middle width of pelvis, <sup>3</sup>rear width of pelvis, <sup>4</sup>front width of loins measured with a pair of compasses, <sup>5</sup>rear width of loins measured with a pair of compasses, <sup>6</sup>front width of loins measured by tape, <sup>7</sup>rear width of loins measured by tape, <sup>8</sup>half-circumference of thighs, <sup>9</sup>taped length of leg, <sup>10</sup>girth of chest, <sup>11</sup>girth of chest at sacrum, <sup>12</sup>direct body length, <sup>13</sup>taped body length, <sup>14</sup>height at withers, <sup>15</sup>height at sacrum, <sup>16</sup>diagonal body length, <sup>17</sup>metacarpal circumference, <sup>18</sup>C bullocks, <sup>19</sup>Li bullocks, <sup>20</sup>C x Li bullocks

II. Základní statistické charakteristiky tělesných rozměrů u jaloviček jednotlivých genotypů ve věku 120 dní – Basic statistical data on body measurements in heifers of the particular genotypes at 120 days of age

|   | Jalovičky C <sup>18</sup> n = 25 |               | Jalovičky Li <sup>19</sup> n = 24 |               | Jalovičky C x Li <sup>20</sup> n = 21 |               | Rel. HE |
|---|----------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------|---------|
|   | $\bar{x}$ (cm)                   | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                        | $s_{\bar{x}}$ | %       |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 29,0                             | 0,36          | 29,4                              | 0,37          | 29,1                                  | 0,39          | –       |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 34,5 <sup>a*</sup>               | 0,44          | 36,0                              | 0,44          | 35,0                                  | 0,47          | –       |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 20,6 <sup>a*</sup>               | 0,39          | 21,7                              | 0,39          | 20,9                                  | 0,42          | –       |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 20,2 <sup>****</sup>             | 0,33          | 21,9 <sup>b**</sup>               | 0,33          | 20,4                                  | 0,36          | –       |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 24,2                             | 0,36          | 24,7                              | 0,37          | 24,2                                  | 0,39          | –       |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 28,8                             | 0,49          | 29,6                              | 0,50          | 29,2                                  | 0,53          | –       |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 32,4                             | 0,49          | 32,7                              | 0,50          | 32,6                                  | 0,53          | –       |
| Poloobvod stehen <sup>8</sup>             | 82,8 <sup>****</sup>             | 1,20          | 88,8                              | 1,22          | 86,2 <sup>c*</sup>                    | 1,31          | –       |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 133,2                            | 1,56          | 135,7                             | 1,59          | 137,1                                 | 1,70          | 2,0     |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 128,9                            | 1,50          | 130,8                             | 1,53          | 130,4                                 | 1,63          | –       |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 141,9                            | 1,78          | 143,6                             | 1,82          | 144,5                                 | 1,94          | 1,2     |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 58,6 <sup>a*</sup>               | 0,84          | 56,2 <sup>b*</sup>                | 0,86          | 59,3                                  | 0,92          | 3,3     |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 124,8                            | 1,32          | 124,5                             | 1,34          | 126,6                                 | 1,44          | 1,6     |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 98,6                             | 0,86          | 99,1                              | 0,89          | 99,7                                  | 0,94          | 0,9     |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 106,3                            | 0,91          | 107,0                             | 0,93          | 107,0                                 | 0,99          | –       |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 107,9                            | 1,27          | 106,2                             | 1,30          | 108,1                                 | 1,39          | 1,0     |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 16,2 <sup>a*</sup>               | 0,24          | 15,6                              | 0,24          | 16,1                                  | 0,26          | –       |

For 1–17 see Table I; <sup>18</sup>C heifers, <sup>19</sup>Li heifers, <sup>20</sup>C x Li heifers

III. Základní statistické charakteristiky tělesných rozměrů u býčků jednotlivých genotypů ve věku 210 dní – Basic statistical data on body measurements in bullocks of the particular genotypes at 210 days of age

|   | Býčci C <sup>18</sup> n = 32 |               | Býčci Li <sup>19</sup> n = 22 |               | Býčci C x Li <sup>20</sup> n = 20 |               | Rel. HE |
|---|------------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------|
|   | $\bar{x}$ (cm)               | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ | %       |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 35,2 <sup>****</sup>         | 0,36          | 33,1 <sup>b****</sup>         | 0,44          | 35,5                              | 0,45          | 4,0     |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 39,0                         | 0,41          | 38,7 <sup>b*</sup>            | 0,51          | 40,2                              | 0,52          | 3,5     |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 23,1 <sup>a*</sup>           | 0,46          | 24,9                          | 0,57          | 25,1 <sup>c**</sup>               | 0,59          | 4,6     |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 23,2                         | 0,37          | 23,3 <sup>b*</sup>            | 0,45          | 25,0 <sup>c**</sup>               | 0,46          | 7,5     |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 27,7                         | 0,34          | 27,6 <sup>b**</sup>           | 0,42          | 29,3 <sup>c**</sup>               | 0,43          | 3,8     |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 30,2                         | 0,52          | 30,1                          | 0,64          | 31,5                              | 0,65          | 4,5     |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 33,8                         | 0,54          | 33,1 <sup>b*</sup>            | 0,67          | 35,3                              | 0,69          | 5,5     |
| Poloobvod stehen <sup>8</sup>             | 88,7 <sup>****</sup>         | 1,24          | 99,7                          | 1,53          | 95,9 <sup>c****</sup>             | 1,57          | –       |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 145,5                        | 1,84          | 150,8                         | 2,28          | 150,8                             | 2,33          | –       |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 145,8                        | 1,56          | 142,8 <sup>b****</sup>        | 1,93          | 153,0 <sup>c**</sup>              | 1,98          | 6,0     |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 160,4                        | 1,96          | 156,0 <sup>b****</sup>        | 2,42          | 169,3 <sup>c****</sup>            | 2,48          | 7,0     |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 64,7 <sup>a**</sup>          | 0,88          | 60,4 <sup>b****</sup>         | 1,09          | 65,8                              | 1,12          | 5,2     |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 136,7                        | 1,39          | 135,3                         | 1,71          | 139,3                             | 1,75          | 2,4     |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 108,5 <sup>a*</sup>          | 0,78          | 105,5 <sup>b****</sup>        | 0,97          | 112,5 <sup>c**</sup>              | 0,99          | 5,1     |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 114,4                        | 0,82          | 112,9 <sup>b****</sup>        | 1,01          | 119,0 <sup>c****</sup>            | 1,04          | 4,7     |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 119,4 <sup>a*</sup>          | 1,22          | 114,5 <sup>b****</sup>        | 1,50          | 124,1 <sup>c*</sup>               | 1,54          | 6,1     |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 17,2                         | 0,18          | 16,8 <sup>b*</sup>            | 0,23          | 17,4                              | 0,23          | 2,4     |

For 1–20 see Table I

nosti  $P < 0,05$  mezi C a Li u zadní šířky pánve, výšky v kohoutku a šikmé délky těla, mezi Li a C x Li u střední šířky pánve, přední šířky beder měřené kružidlem, zadní šířky beder měřené páskou a obvodu holeně, mezi C a C x Li u šikmé délky těla.

Zjištěné hodnoty tělesných rozměrů jsou nepatrně vyšší, než uvádějí Šmerha a Louda (1997) u býků plemene C.

U jaloviček ve věku 210 dnů (tab. IV) byly zjištěny statistické rozdíly na hladině významnosti  $P < 0,001$

IV. Základní statistické charakteristiky tělesných rozměrů u jaloviček jednotlivých genotypů ve věku 210 dní – Basic statistical data on body measurements in heifers of the particular genotypes at 210 days of age

|   | Jalovičky C <sup>18</sup> n = 25 |               | Jalovičky Li <sup>19</sup> n = 24 |               | Jalovičky C x Li <sup>20</sup> n = 21 |               | Rel. HE |
|---|----------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------|---------|
|   | $\bar{x}$ (cm)                   | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                        | $s_{\bar{x}}$ |         |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 37,2 <sup>****</sup>             | 0,40          | 34,3 <sup>b****</sup>             | 0,42          | 37,0                                  | 0,44          | –       |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 40,9 <sup>a*</sup>               | 0,47          | 39,4                              | 0,49          | 40,7                                  | 0,51          | –       |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 24,4 <sup>a*</sup>               | 0,52          | 26,0                              | 0,55          | 25,4                                  | 0,57          | –       |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 25,9 <sup>a*</sup>               | 0,42          | 24,4 <sup>b****</sup>             | 0,43          | 27,0                                  | 0,45          | 7,4     |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 30,1 <sup>****</sup>             | 0,38          | 27,8 <sup>b****</sup>             | 0,40          | 31,0                                  | 0,42          | 7,1     |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 34,1 <sup>****</sup>             | 0,58          | 30,3 <sup>b****</sup>             | 0,61          | 35,8                                  | 0,64          | 11,2    |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 38,0 <sup>****</sup>             | 0,62          | 33,3 <sup>b****</sup>             | 0,64          | 39,4                                  | 0,67          | 10,5    |
| Poloobvod steh <sup>8</sup>               | 93,0 <sup>****</sup>             | 0,41          | 101,3                             | 1,47          | 97,7 <sup>c*</sup>                    | 1,53          | –       |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 152,2                            | 2,09          | 157,7                             | 2,18          | 157,7                                 | 2,28          | –       |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 150,1                            | 1,77          | 146,5 <sup>b**</sup>              | 1,84          | 154,7                                 | 1,93          | 4,3     |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 160,5                            | 2,22          | 162,5                             | 2,32          | 167,8 <sup>c**</sup>                  | 2,43          | 3,9     |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 67,3 <sup>****</sup>             | 1,00          | 62,0 <sup>b****</sup>             | 1,04          | 67,6                                  | 1,09          | 4,6     |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 139,0                            | 1,57          | 138,3 <sup>b****</sup>            | 11,63         | 140,4                                 | 1,71          | 1,3     |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 110,1 <sup>a*</sup>              | 0,89          | 106,7                             | 0,93          | 111,7                                 | 0,97          | 3,0     |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 117,0                            | 0,93          | 114,5 <sup>b**</sup>              | 0,97          | 118,3                                 | 1,02          | 2,2     |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 124,0 <sup>****</sup>            | 1,38          | 115,0 <sup>b****</sup>            | 1,44          | 126,1                                 | 1,50          | 5,5     |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 17,0                             | 0,21          | 16,8                              | 0,22          | 17,1                                  | 0,23          | 1,2     |

For 1–17 see Table I; <sup>18</sup>C heifers, <sup>19</sup>Li heifers, <sup>20</sup>C x Li heifers

V. Základní statistické charakteristiky tělesných rozměrů u býčků jednotlivých genotypů ve věku 365 dní – Basic statistical data on body measurements in bullocks of the particular genotypes at 365 days of age

|   | Býčci C <sup>18</sup> n = 32 |               | Býčci Li <sup>19</sup> n = 22 |               | Býčci C x Li <sup>20</sup> n = 20 |               | Rel. HE |
|---|------------------------------|---------------|-------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------|
|   | $\bar{x}$ (cm)               | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ |         |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 40,9 <sup>****</sup>         | 0,46          | 36,9 <sup>b****</sup>         | 0,52          | 40,8                              | 0,49          | –       |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 44,8 <sup>****</sup>         | 0,41          | 41,4 <sup>b****</sup>         | 0,46          | 45,0                              | 0,43          | 4,4     |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 28,4                         | 0,41          | 28,7                          | 0,47          | 28,6                              | 0,44          | –       |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 27,8 <sup>a*</sup>           | 0,39          | 26,4 <sup>b**</sup>           | 0,44          | 28,1                              | 0,41          | 3,7     |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 32,9 <sup>****</sup>         | 0,40          | 30,4 <sup>b****</sup>         | 0,45          | 33,2                              | 0,42          | 4,9     |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 35,1                         | 0,49          | 34,9                          | 0,55          | 35,7                              | 0,51          | 2,0     |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 40,2 <sup>a*</sup>           | 0,52          | 38,4 <sup>b*</sup>            | 0,59          | 41,0                              | 0,56          | 4,3     |
| Poloobvod steh <sup>8</sup>               | 98,9                         | 1,35          | 100,3 <sup>b*</sup>           | 1,53          | 105,6 <sup>c*</sup>               | 1,43          | 6,0     |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 164,4 <sup>****</sup>        | 1,80          | 154,9 <sup>b****</sup>        | 2,04          | 169,7 <sup>c*</sup>               | 1,91          | 6,3     |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 166,6 <sup>****</sup>        | 1,51          | 156,9 <sup>b****</sup>        | 1,72          | 170,1                             | 1,61          | 5,2     |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 182,0 <sup>****</sup>        | 1,94          | 167,0 <sup>b****</sup>        | 2,20          | 187,6 <sup>c**</sup>              | 2,06          | 7,5     |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 73,4 <sup>****</sup>         | 0,73          | 62,6 <sup>b****</sup>         | 0,83          | 71,9                              | 0,78          | –       |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 155,0 <sup>****</sup>        | 1,50          | 145,1 <sup>b****</sup>        | 1,70          | 158,5                             | 1,59          | 5,6     |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 118,5 <sup>***</sup>         | 0,85          | 114,7 <sup>b****</sup>        | 0,97          | 120,6                             | 0,90          | 3,4     |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 124,1 <sup>***</sup>         | 0,84          | 120,7 <sup>b****</sup>        | 0,95          | 127,1 <sup>c*</sup>               | 0,89          | 3,8     |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 137,5 <sup>****</sup>        | 1,15          | 129,3 <sup>b****</sup>        | 1,31          | 137,6                             | 1,22          | 3,1     |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 19,1 <sup>****</sup>         | 0,19          | 17,8 <sup>b****</sup>         | 0,21          | 19,0                              | 0,20          | –       |

For 1–20 see Table I

mezi C a Li u přední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem, přední a zadní šířky beder měřené páskou, poloobvodu steh, přímé délky těla a šikmé délky těla, mezi Li a C x Li u přední šířky pánve, přední a zadní šířky beder měřené kružidlem i páskou, při-

mé délky těla, vinuté délky těla a šikmé délky těla, na hladině významnosti  $P < 0,01$  mezi Li a C x Li u obvodu hrudníku a výšky v kříži a na hladině významnosti  $P < 0,05$  mezi C a Li u střední a zadní šířky pánve, přední šířky beder měřené kružidlem a výšky v kohout-

|   | Jalovičky C <sup>18</sup> n = 25 |               | Jalovičky Li <sup>19</sup> n = 24 |               | Jalovičky C x Li <sup>20</sup> n = 21 |               | Rel. HE |
|---|----------------------------------|---------------|-----------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------|---------|
|   | $\bar{x}$ (cm)                   | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                    | $s_{\bar{x}}$ | $\bar{x}$ (cm)                        | $s_{\bar{x}}$ |         |
| Přední šířka pánve <sup>1</sup>           | 42,9 a****                       | 0,44          | 38,7 b****                        | 0,44          | 41,7 c*                               | 0,44          | –       |
| Střední šířka pánve <sup>2</sup>          | 44,8 a****                       | 0,39          | 41,7 b**                          | 0,37          | 43,5 c*                               | 0,39          | –       |
| Zadní šířka pánve <sup>3</sup>            | 29,8                             | 0,39          | 28,9                              | 0,39          | 29,3                                  | 0,39          | –       |
| Přední šířka beder kružidlem <sup>4</sup> | 27,4                             | 0,37          | 26,9 b**                          | 0,37          | 28,6 c*                               | 0,37          | 5,3     |
| Zadní šířka beder kružidlem <sup>5</sup>  | 33,9 a****                       | 0,38          | 31,4 b****                        | 0,38          | 33,6                                  | 0,38          | –       |
| Přední šířka beder páskou <sup>6</sup>    | 35,5 a****                       | 0,46          | 33,7 b****                        | 0,46          | 36,1                                  | 0,46          | 4,3     |
| Zadní šířka beder páskou <sup>7</sup>     | 40,3 a****                       | 0,50          | 37,7 b****                        | 0,50          | 41,2                                  | 0,50          | 5,6     |
| Poloobvod stehen <sup>8</sup>             | 93,8                             | 1,28          | 96,5                              | 1,28          | 96,9                                  | 1,28          | 1,8     |
| Vinutá délka kýty <sup>9</sup>            | 170,6 a****                      | 1,71          | 160,4 b*                          | 1,71          | 166,3                                 | 1,71          | –       |
| Obvod hrudníku <sup>10</sup>              | 167,8 a****                      | 1,44          | 157,4 b****                       | 1,44          | 166,4                                 | 1,44          | –       |
| Křížový obvod hrudníku <sup>11</sup>      | 183,9 a****                      | 1,84          | 171,8 b****                       | 1,84          | 182,0                                 | 1,84          | –       |
| Přímá délka těla <sup>12</sup>            | 71,9 a****                       | 0,69          | 67,1 b****                        | 0,69          | 71,8                                  | 0,69          | –       |
| Vinutá délka těla <sup>13</sup>           | 155,5 a****                      | 1,42          | 145,8 b****                       | 1,42          | 153,4                                 | 1,42          | –       |
| Výška v kohoutku <sup>14</sup>            | 119,3 a****                      | 0,81          | 114,2 b**                         | 0,81          | 117,7                                 | 0,81          | –       |
| Výška v kříži <sup>15</sup>               | 125,1 a****                      | 0,79          | 120,5 b**                         | 0,79          | 123,6                                 | 0,79          | –       |
| Šikmá délka těla <sup>16</sup>            | 136,3 a****                      | 1,10          | 129,0 b****                       | 1,10          | 134,3                                 | 1,10          | –       |
| Obvod holeně <sup>17</sup>                | 19,3 a****                       | 0,18          | 17,9 b**                          | 0,18          | 18,6 c**                              | 0,18          | –       |

For 1–17 see Table I; <sup>18</sup>C heifers, <sup>19</sup>Li heifers, <sup>20</sup>C x Li heifers

ku a mezi C a C x Li u poloobvodu stehen a křížového obvodu hrudníku.

Ve věku 365 dnů byly u býčků (tab. V) zjištěny statistické rozdíly na hladině významnosti  $P < 0,001$  mezi C a Li u přední a střední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem, vinuté délky kýty, obvodu hrudníku, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, vinuté délky těla, šikmé délky těla a obvodu holeně, mezi Li a C x Li u přední a střední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem, vinuté délky kýty, obvodu hrudníku, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, vinuté délky těla, výšky v kohoutku a v kříži, šikmé délky těla a obvodu holeně, na hladině významnosti  $P < 0,01$  mezi C a Li u výšky v kohoutku a v kříži, mezi Li a C x Li u přední šířky beder měřené kružidlem a na hladině významnosti  $P < 0,05$  mezi C a Li u přední šířky beder měřené kružidlem a zadní šířky beder měřené páskou, mezi Li a C x Li u zadní šířky beder měřené páskou a poloobvodu stehen a mezi C a C x Li u poloobvodu stehen, vinuté délky kýty, křížového obvodu hrudníku a výšky v kříži.

Ve věku 365 dnů byly sledované tělesné rozměry charakterizující osvalení kýty a beder větší, než uvádějí Šmerha a Louda (1997) u býků C, výška v kohoutku a obvod hrudníku byly shodné.

U jaloviček ve věku 365 dnů (tab. VI) byly zjištěny statistické rozdíly na hladině významnosti  $P < 0,001$  mezi C a Li u přední a střední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem, přední a zadní šířky beder měřené páskou, vinuté délky kýty, obvodu hrudníku, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, vinuté dél-

ky těla, výšky v kohoutku a v kříži, šikmé délky těla a obvodu holeně, mezi Li a C x Li u přední šířky pánve, zadní šířky beder měřené kružidlem, přední a zadní šířky beder měřené páskou, obvodu hrudníku, křížového obvodu hrudníku, přímé délky těla, vinuté délky těla a šikmé délky těla, na hladině významnosti  $P < 0,01$  mezi Li a C x Li u střední šířky pánve, přední šířky beder měřené kružidlem, výšky v kohoutku a v kříži a obvodu holeně, mezi C a C x Li u obvodu holeně a na hladině významnosti  $P < 0,05$  mezi Li a C x Li u vinuté délky kýty a mezi C a C x Li u přední a střední šířky pánve a přední šířky beder měřené kružidlem.

U ostatních tělesných rozměrů nebyly rozdíly mezi jednotlivými genotypy statisticky významné.

Námi uvážené rozměry pánve byly větší, než uvádí Teslík (1994) u starších býků ve věku 1,5 roku. Ostatní tělesné rozměry, které zjistil Teslík (1986, 1987, 1989, 1994) u býků C a Li při porážkové hmotnosti od 530 do 570 kg ve věku od 500 do 540 dnů, byly větší než námi zjištěné rozměry u býků plemene C, Li a kříženců.

Z uvedených výsledků vyplývá, že ve věku 210 dní se u býčků i jaloviček u kříženců projevil heterozní efekt ve velikosti tělesného rámce (tab. III a IV). Ve věku 120 dní a 365 dní se tento heterozní efekt projevil u býčků C x Li, ale již ne u jaloviček C x Li (tab. I, II, V, VI). U jaloviček ve všech věkových kategoriích nebyly u většiny tělesných rozměrů zjištěny statisticky významné rozdíly mezi C a C x Li. U býčků byl tento trend zjištěn pouze ve věku 365 dní. Jalovičky ve věku 120 dní dosáhly nejvyšších průměrných hodnot u většiny tělesných rozměrů u plemene limousin a ve věku

365 dní dosáhly nejvyšších průměrných hodnot u většiny tělesných rozměrů u plemene české strakaté. Býčci ve věku 120 a 365 dní dosáhli nejvyšších průměrných hodnot u většiny tělesných rozměrů u kombinace C x Li. Ze statistického vyhodnocení výsledků vyplývá, že do věku 120 dní byla nejvyšší intenzita růstu zjištěna u býčků-kříženců a u jaloviček plemene Li. V tomto období vykazalo plemeno Li vyšší intenzitu růstu než plemeno C. Ve věku 120 dní dosáhla u býčků i u jaloviček většina tělesných rozměrů vyšších hodnot u plemene Li než u plemene C. Poloobvod stehen a vinutá délka kýty byly ve věku 120 dní nejmenší u býčků i u jaloviček plemene C. Od věku 120 až 210 dní byla nejvyšší intenzita růstu u býčků i u jaloviček C x Li. V tomto období byla u býčků i jaloviček pozorována vyšší intenzita růstu délkových tělesných rozměrů u plemene C oproti plemeni Li. Ve věku 210 dní dosáhly hodnoty většiny délkových tělesných rozměrů u býčků i u jaloviček vyšších hodnot u plemene C než u plemene Li. Poloobvod stehen a vinutá délka kýty byly ve věku 210 dní opět nejmenší u býčků i jaloviček u plemene C. Od věku 210 dní do 365 dní vykazalo plemeno Li u býčků i jaloviček ve srovnání s plemenem C a kříženci nejnižší intenzitu růstu. Téměř u všech sledovaných tělesných rozměrů byly zjištěny u býčků i u jaloviček plemene Li nejnižší hodnoty. Pouze poloobvod stehen byl u býčků i jaloviček nejnižší u plemene C. Od věku 210 dní do 365 dní byla zjištěna nejvyšší intenzita růstu u býčků-kříženců a u jaloviček českého strakatého skotu.

## LITERATURA

- Bartoň L., Teslík V., Urban F., Řehák D. (1996): Jatečná hodnota býků českého strakatého a černostrakatého skotu při výkrmu do hmotnosti 620 kg. *Živoč. Vyr.*, 41: 467–472.
- Gálik J., Páleník Š. (1985): Rozdiely v raste výkrmových býkov a jalovic různých genotypov. *Živoč. Vyr.*, 30: 71–78.
- Příbyl J., Váchal J., Hrubý M., Bulánková H. (1984): Zhodnocení růstu a vývinu u býčků českého strakatého plemene. [Dílčí závěrečná zpráva.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV. 40 s.
- Šmerha J., Louda F. (1976): Růst a pohlavní dospívání býčků českého strakatého plemene. *Živoč. Vyr.*, 21: 81–94.
- Šmerha J., Louda F. (1977): Růst, pohlavní dospělost a aktivita býčků do věku 18 měsíců při střídavé úrovni výživy. *Živoč. Vyr.*, 22: 401–416.
- Teslík V., Urban F., Bouška J., Burda J. (1987): Výkrmnost býčků plemene české strakaté a herefordské a jejich kříženců. *Živoč. Vyr.*, 32: 367–375.
- Teslík V., Urban F., Bartoň L., Šafář P. (1995): Masná užitkovost extenzivně vykrmených býků různých genotypů. *Živoč. Vyr.*, 40: 471–477.
- Teslík V., Burda J., Urban F., Bartoň L., Řehák D. (1995): Masná užitkovost býčků českého strakatého a černostrakatého skotu při intenzivním výkrmu do hmotnosti 530 kg. *Živoč. Vyr.*, 40: 227–232.
- Teslík V. et al. (1986): Masná užitkovost býčků skotu českého strakatého, herefordského a kříženců těchto plemen. [Dílčí závěrečná zpráva etapy P-06-329-804-02-03.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV. 52 s.
- Teslík V. et al. (1987): Využití býků plemene limousin pro zlepšení masné užitkovosti. [Dílčí závěrečná zpráva etapy P 06-329-804-02-03.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV. 53 s.
- Teslík V. et al. (1989): Využití býků plemene fleckvieh a hereford pro zlepšení masné užitkovosti českého strakatého skotu. [Závěrečná zpráva etapy Ú 02-03/89.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV. 31 s.
- Teslík V. et al. (1994): Výkrmnost a jatečná hodnota býků různých genotypů. [Dílčí závěrečná zpráva úkolu AA 0930950143.] Praha-Uhřetěves, VÚŽV. 27 s.

Došlo 14. 7. 1998

Přijato k publikování 9. 3. 1999

## Kontaktní adresa:

Ing. Veronika Nová, Česká zemědělská univerzita, Agronomická fakulta, katedra chovu skotu a mlékařství, Kamýcká 129, 165 21 Praha 6-Suchbát, Česká republika, tel.: 02/24 38 30 66, fax: 02/20 92 03 12

**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 žádank 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).

# A HISTOLOGICAL STUDY OF GREYING OF WRZOSÓWKA LAMBS

## HISTOLOGICKÁ STUDIE ŠEDNUTÍ SRSTI U JEHŇAT PLEMENE WRZOSÓWKA

K. Janik<sup>1</sup>, B. Patkowska-Sokola<sup>2</sup>, W. Kiec<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Zootechnical Institute, Smardzów, Poland

<sup>2</sup>Agricultural University, Department of Sheep and Fur Animals Breeding, Wrocław, Poland

<sup>3</sup>Zootechnical Institute, Kraków, Poland

**ABSTRACT:** The rate of hair turning grey in 2 groups of Wrzosówka lambs: younger lambs – 7 days and 3/5 months old and older lambs – 5/5 months and 7/5 months old, increases respectively, from approximately 44% to 74% and from 75% to 88%. This was confirmed by highly significant or significant statistical differences in the ratio of primary and secondary light fibres, in fleeces of lambs of different ages. Greying of fleece in younger lambs occurred because of development of mostly light coloured secondary fibres and a loss of pigment in dark primary coarse fibres. In older lambs, greying is due to the loss of pigment in different dark fibres. The fleece of ram lambs turned grey earlier than that of ewe lambs, but at 7 months of age, the greying was similar.

**Key words:** sheep; Wrzosówka breed; fleece; fibres; greying

**ABSTRAKT:** Rozsah šednutí srsti u dvou skupin jehňat plemene wrzosówka, a to u mladších jehňat ve věku 7 dnů a 3,5 měsíců a u starších jehňat ve věku 5,5 měsíců a 7,5 měsíců, se zvyšuje od 44 % do 74 %, resp. od 75 % do 88 %. Tuto skutečnost potvrdily zjištěné vysoce významné a významné statistické rozdíly v poměru primárních a sekundárních světlých vláken v rounu mladších i starších jehňat. K bleďnutí rouna u mladších jehňat dochází tak, že z chlupových váčků vyrůstají většinou světlá sekundární vlákna (podsada) a že dochází ke ztrátě pigmentu u tmavých primárních hrubých vláken. U beránků dochází k šednutí rouna o něco dříve než u jehniček, ale ve věku 7 měsíců jsou rouna beránků i jehniček srovnatelně šedivá.

**Klíčová slova:** ovce; plemeno wrzosówka; rouno; vlákno; šednutí

### INTRODUCTION

The process of turning grey the black fleece in Wrzosówka lambs has not been studied and explained so far and was usually considered similar to Romanov sheep greying model (Czaja, 1937; Prawocheński, 1937; Szymiski, 1957). Lambs of Romanov sheep are also born black, due to dark fibres developing from hair follicles. Later, their fleece turns grey with the development of light secondary fibres. Thus, the coat of adult Romanov sheep consists of dark outercoat and light-coloured undercoat (Mozhajewa, 1952), whereas in Wrzosówka sheep, it consists of both, light-coloured and dark, outercoat and undercoat (Kaczkowski, 1929; Kotler, 1936; Janik, 1980; Fiszdon, Niżnikowski, 1996).

The existence of Wrzosówka sheep is endangered and it became necessary to explain the mechanisms of their fleece turning grey. The knowledge of the rate of greying of Wrzosówka lambs of different ages should help the lambs skin and wool production.

### MATERIAL AND METHODS

Skin sections with hair follicles and associated glands, from growing Wrzosówka lambs were analysed histologically. Skin samples were collected, using biopsy, from the flank, 4 collections from each of the 32 ram and ewe lambs from the central flock of Zootechniczny Zakład Doświadczalny in Czechnica, near Wrocław.

The samples were fixed in formalin and embedded in paraffin. After slicing transfer, the slides were stained with haematoxyline and eosin (Bażyński, 1965). Transverse cross-sections of raw fibres examined under microscope did not absorb any of applied staining agents, and remained naturally dark, or were optically transparent, light. Two types of quantity analysis of light-coloured and dark fibres were performed. Fibres within 10 microscopic fields were analysed (magnification of the objective – 10x, eyepiece – 16x, Table I), as well as fibres from 30 groups, distinguishing between primary fibres (P) – coarse and semi-coarse (Table II) and sec-

I. Quantity analysis of light-coloured and dark Wrzosówka fibres observed in 10 microscopical fields

| Fibres                          | Statistical index | Age and sex of lambs |                    |                     |                    |                      |                    |                      |                    |                     |                    |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------------------|--------------------|----------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
|                                 |                   | 7 days               |                    | 3.5 months          |                    | 5.5 months           |                    | 7 months             |                    |                     |                    |
|                                 |                   | male<br>n = 16       | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16      | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16       | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16       | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16      | + female<br>n = 16 |
| Total – light-coloured and dark | $\bar{x}$         | 567.5 <sup>A</sup>   |                    | 477.0 <sup>BC</sup> |                    | 397.2 <sup>BDe</sup> |                    | 333.3 <sup>BDr</sup> |                    |                     |                    |
|                                 | v%                | 16.1                 |                    | 21.7                |                    | 26.7                 |                    | 21.8                 |                    |                     |                    |
| Light-coloured                  | $\bar{x}$         | 575.3 <sup>aA</sup>  |                    | 496.6 <sup>bC</sup> |                    | 368.3 <sup>BDe</sup> |                    | 305.3 <sup>BDr</sup> |                    | 359.6 <sup>BD</sup> |                    |
|                                 | v%                | 18.2                 |                    | 22.1                |                    | 21.5                 |                    | 15.2                 |                    | 23.2                |                    |
| Dark                            | $\bar{x}$         | 247.5 <sup>B</sup>   |                    | 363.8 <sup>Aa</sup> |                    | 290.9 <sup>b</sup>   |                    | 295.7 <sup>b</sup>   |                    |                     |                    |
|                                 | v%                | 61.0                 |                    | 40.6                |                    | 43.4                 |                    | 29.1                 |                    |                     |                    |
| Semi-coarse                     | $\bar{x}$         | 269.1 <sup>aA</sup>  |                    | 404.9 <sup>Aa</sup> |                    | 307.1 <sup>B</sup>   |                    | 265.3 <sup>B</sup>   |                    | 324.1               |                    |
|                                 | v%                | 57.5                 |                    | 31.4                |                    | 24.2                 |                    | 23.3                 |                    | 30.0                |                    |
| Dark                            | $\bar{x}$         | 318.6 <sup>A</sup>   |                    | 110.7 <sup>BC</sup> |                    | 84.4 <sup>B</sup>    |                    | 37.4 <sup>BD</sup>   |                    |                     |                    |
|                                 | v%                | 60.0                 |                    | 80.8                |                    | 85.7                 |                    | 99.2                 |                    |                     |                    |
| Semi-coarse                     | $\bar{x}$         | 306.1 <sup>A</sup>   |                    | 86.5 <sup>B</sup>   |                    | 60.1 <sup>B</sup>    |                    | 39.5 <sup>B</sup>    |                    | 35.3 <sup>BDr</sup> |                    |
|                                 | v%                | 72.8                 |                    | 77.7                |                    | 88.0                 |                    | 114.6                |                    | 81.2                |                    |
| Semi-coarse                     | $\bar{x}$         | –                    |                    | 2.6                 |                    | 3.9                  |                    | 0.3                  |                    |                     |                    |
|                                 | v%                | –                    |                    | 346.4               |                    | 347.4                |                    | 325.2                |                    |                     |                    |
| Semi-coarse                     | $\bar{x}$         | –                    |                    | 5.2                 |                    | 1.1                  |                    | 0.4                  |                    | 0.2                 |                    |
|                                 | v%                | 2.62                 |                    | 0.12                |                    | 6.60                 |                    | 280.3                |                    | 394.7               |                    |

A–B, B..; C–D, D... –  $P \leq 0.01$

e–f, f.., a–b, b... –  $P < 0.05$

Mean values designated by the same letter are not significantly different

$\bar{x}$  – mean value, v% – coefficient of variability

II. Quantity analysis of light-coloured and dark primary fibres observed in 30 fibre groups of growing Wrzosówka lambs

| Primary hair fibres – P         | Statistical index | Age and sex of lambs |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |                    |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                                 |                   | 7 days               |                    | 3.5 months         |                    | 5.5 months         |                    | 7 months           |                    |                    |                    |
|                                 |                   | male<br>n = 16       | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16     | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16     | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16     | + female<br>n = 16 | male<br>n = 16     | + female<br>n = 16 |
| Total – light-coloured and dark | $\bar{x}$         | 85.4                 |                    | 86.1               |                    | 86.8               |                    | 85.3               |                    |                    |                    |
|                                 | v%                | 2.8                  |                    | 2.5                |                    | 2.7                |                    | 3.7                |                    |                    |                    |
| P – light-coloured              | $\bar{x}$         | 85.5                 |                    | 85.9               |                    | 86.5               |                    | 85.4               |                    | 85.1               |                    |
|                                 | v%                | 3.0                  |                    | 3.2                |                    | 3.3                |                    | 3.7                |                    | 3.8                |                    |
| P – light-coloured              | $\bar{x}$         | 11.7 <sup>A</sup>    |                    | 28.5 <sup>BD</sup> |                    | 29.3 <sup>BD</sup> |                    | 50.8 <sup>BC</sup> |                    |                    |                    |
|                                 | v%                | 163.5                |                    | 82.1               |                    | 77.6               |                    | 50.5               |                    |                    |                    |
| P – dark                        | $\bar{x}$         | 17.0 <sup>aA</sup>   |                    | 34.3 <sup>b</sup>  |                    | 36.4 <sup>b</sup>  |                    | 46.7 <sup>B</sup>  |                    | 54.6 <sup>BC</sup> |                    |
|                                 | v%                | 146.6                |                    | 71.7               |                    | 62.3               |                    | 65.1               |                    | 37.6               |                    |
| P – dark                        | $\bar{x}$         | 73.1 <sup>A</sup>    |                    | 57.0 <sup>BD</sup> |                    | 56.9 <sup>BD</sup> |                    | 34.0 <sup>BC</sup> |                    |                    |                    |
|                                 | v%                | 26.6                 |                    | 41.3               |                    | 39.1               |                    | 76.1               |                    |                    |                    |
| P – semi-coarse                 | $\bar{x}$         | 68.3 <sup>aA</sup>   |                    | 50.5 <sup>b</sup>  |                    | 49.3 <sup>b</sup>  |                    | 38.0 <sup>B</sup>  |                    | 30.2 <sup>BC</sup> |                    |
|                                 | v%                | 35.0                 |                    | 48.4               |                    | 41.7               |                    | 82.4               |                    | 65.3               |                    |
| P – semi-coarse                 | $\bar{x}$         | 0.68                 |                    | 0.55               |                    | 0.57               |                    | 0.52               |                    |                    |                    |
|                                 | v%                | 423.5                |                    | 555.1              |                    | 328.0              |                    | 171.1              |                    |                    |                    |
| P – semi-coarse                 | $\bar{x}$         | 0.13                 |                    | 1.13               |                    | 0.86               |                    | 0.73               |                    | 0.31               |                    |
|                                 | v%                | 397.2                |                    | 208.5              |                    | 308.8              |                    | 141.5              |                    | 227.1              |                    |

A–B, B..; C–D, D... –  $P \leq 0.01$

e–f, f.., a–b, b... –  $P < 0.05$

Mean values designated by the same letter are not significantly different

$\bar{x}$  – mean value, v% – coefficient of variability

## III. Quantity analysis of light-coloured and dark secondary fibres observed in 30 fibre groups of growing Wrzosówka lambs

| Secondary hair fibres – S       | Statistical index | Age and sex of lambs |                    |                    |                     |                    |                    |                    |                     |          |        |  |
|---------------------------------|-------------------|----------------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|----------|--------|--|
|                                 |                   | 7 days               |                    | 3.5 months         |                     |                    | 5.5 months         |                    |                     | 7 months |        |  |
|                                 |                   | male                 | female             | male               | female              | male               | female             | male               | female              | male     | female |  |
|                                 |                   | n = 32               |                    | n = 32             |                     | n = 32             |                    | n = 32             |                     | n = 32   |        |  |
|                                 |                   | n = 16               | n = 16             | n = 16             | n = 16              | n = 16             | n = 16             | n = 16             | n = 16              | n = 16   |        |  |
| Total – light-coloured and dark | $\bar{x}$         |                      | 153.1 <sup>A</sup> |                    | 318.1 <sup>B</sup>  |                    | 332.9 <sup>B</sup> |                    | 319.4 <sup>B</sup>  |          |        |  |
|                                 | v%                |                      | 40.7               |                    | 20.8                |                    | 20.7               |                    | 18.9                |          |        |  |
|                                 |                   | 162.4 <sup>A</sup>   | 144.3 <sup>A</sup> | 312.3 <sup>B</sup> | 323.6 <sup>B</sup>  | 332.1 <sup>B</sup> | 333.6 <sup>B</sup> | 314.9 <sup>B</sup> | 323.7 <sup>B</sup>  |          |        |  |
|                                 |                   | 32.9                 | 48.6               | 18.1               | 23.4                | 20.5               | 21.6               | 17.4               | 20.7                |          |        |  |
| S – light-coloured              | $\bar{x}$         |                      | 96.6 <sup>A</sup>  |                    | 265.2 <sup>Bd</sup> |                    | 282.8 <sup>B</sup> |                    | 303.1 <sup>Bc</sup> |          |        |  |
|                                 | v%                |                      | 64.3               |                    | 32.6                |                    | 34.2               |                    | 20.5                |          |        |  |
|                                 |                   | 103.8 <sup>A</sup>   | 89.9 <sup>A</sup>  | 281.1 <sup>B</sup> | 250.2 <sup>B</sup>  | 312.5 <sup>B</sup> | 256.7 <sup>B</sup> | 298.4 <sup>B</sup> | 307.6 <sup>B</sup>  |          |        |  |
|                                 |                   | 53.7                 | 76.4               | 21.6               | 41.9                | 24.2               | 41.8               | 18.4               | 22.7                |          |        |  |
| S – dark                        | $\bar{x}$         |                      | 56.1 <sup>a</sup>  |                    | 50.3 <sup>d</sup>   |                    | 46.0               |                    | 16.3 <sup>bc</sup>  |          |        |  |
|                                 | v%                |                      | 138.0              |                    | 162.2               |                    | 163.4              |                    | 177.3               |          |        |  |
|                                 |                   | 58.5 <sup>a</sup>    | 53.9               | 25.8               | 73.1                | 19.1 <sup>b</sup>  | 69.4               | 16.5 <sup>b</sup>  | 16.1                |          |        |  |
|                                 |                   | 35.0                 | 17.3               | 48.4               | 34.3                | 41.7               | 34.8               | 82.4               | 65.3                |          |        |  |
| S – intermediate                | $\bar{x}$         |                      | 0.35               |                    | 2.6                 |                    | 4.1                |                    | –                   |          |        |  |
|                                 | v%                |                      | 469.8              |                    | 424.3               |                    | 431.4              |                    | –                   |          |        |  |
|                                 |                   | 0.13                 | 0.6                | 5.5                | –                   | 0.43               | 7.4                | –                  | –                   |          |        |  |
|                                 |                   | 397.3                | 401.8              | 291.6              | –                   | 198.0              | 329.1              | –                  | –                   |          |        |  |

A–B, B..; C–D, D... –  $P \leq 0.01$

e–f, f., a–b, b... –  $P < 0.05$

Mean values designated by the same letter are not significantly different

$\bar{x}$  – mean value, v% – coefficient of variability

ondary fibres (S) – undercoat (Table III). Only developed fibres were analysed, hair follicles were omitted. Samples of wool were also collected for visual assessment of fleece colour (on a 5 point scale).

Histological analysis performed in wool laboratory of Czechina Experimental Centre in Smardzów and in the laboratory of Department of Sheep Breeding, Agricultural University of Wrocław.

The results obtained from particular analyses, were evaluated statistically. Mean values, percentages, coefficients of variability and significant differences were estimated using analysis of variance (Ruszczyc, 1970). General inter-age differences for lambs and separately for rams and ewes were estimated. Inter-sex differences for particular age groups were also evaluated.

## RESULTS

In 10 microscopical fields, skin of growing lambs contained decreasing numbers of hair fibres – light-coloured and dark with similar variability within their mean values (Table I). The amount of light-coloured fibres increased only in younger lambs (from 7 days to 3.5 months of age) whereas there were less light-coloured fibres in older lambs or their number remained constant. The changes took place, accompanied by a decreasing of coefficient of variability of light-coloured hair number.

In the same life periods the amount of dark fibres decreased, while their variability increased. So called 'semi-coarse fibres', with some small pigmentation, were observed at different ages, but seldom and only in individual animals.

At all ages and in all 30 fibre groups, stable number of primary fibres, both dark and light-coloured, were observed (Table II). In growing lambs, the number of light-coloured primary fibres increased, while the numbers of dark fibres decreased, except for the period from 3/5 to 5/5 months. In ram lambs at the age of 7 days, 3/5 months and 5/5 months, we noticed higher numbers of primary light-coloured fibres and lower numbers of dark fibres, compared with ewes lambs. However, the differences were not statistically significant.

As to the secondary: primary fibres ratio in the 30 fibre groups, there were on average 1.8 developed secondary fibres per 1 primary fibre (Tables II and III). In older lambs (3.5 and 5.5 months old) the ratio was double that and quite stable at the level of 3.7 developed secondary fibres per 1 primary fibre. In younger lambs (7 days to 3.5 months old), approximately 165 secondary fibres, light-coloured and dark, developed from hair follicles. At older ages (3.5 to 7 months), the total number of secondary fibres was stable: the number of light-coloured fibres increased by (of approximately 38) and that of the dark fibres decreased (of approximately 34).

IV. The rate of greying of growing Wrzosówka lambs, based on the percentage of light-coloured fibres, observed in:

a) 10 microscopical fields

b) 30 fibre groups

| Hair fibres:<br>P – primary,<br>S – secondary | Age and sex of lambs |                    |                  |                |                    |                  |                |                    |                  |                |                    |                  |
|---|----------------------|--------------------|------------------|----------------|--------------------|------------------|----------------|--------------------|------------------|----------------|--------------------|------------------|
|   | 7 days               |                    |                  | 3.5 months     |                    |                  | 5.5 months     |                    |                  | 7 months       |                    |                  |
|   | male<br>n = 16       | + female<br>n = 32 | female<br>n = 16 | male<br>n = 16 | + female<br>n = 32 | female<br>n = 16 | male<br>n = 16 | + female<br>n = 32 | female<br>n = 16 | male<br>n = 16 | + female<br>n = 32 | female<br>n = 16 |
| a) light-coloured                             | 46.78                | 43.62              | 40.57            | 80.54          | 76.26              | 70.90            | 83.40          | 76.71              | 70.78            | 86.91          | 88.71              | 90.31            |
| b) light-coloured, total –<br>P + S           | 48.73                | 45.41              | 42.05            | 79.21          | 72.60              | 66.70            | 83.35          | 74.36              | 66.6             | 85.71          | 87.45              | 88.60            |
| b <sup>1</sup> ) light-coloured – P           | 19.89                | 13.70              | 7.90             | 39.88          | 33.13              | 26.83            | 42.03          | 33.73              | 25.51            | 56.64          | 59.55              | 16.17            |
| b <sup>2</sup> ) light-coloured – P           | 63.92                | 63.12              | 62.28            | 89.99          | 83.35              | 77.34            | 94.11          | 84.95              | 76.97            | 97.77          | 94.90              | 95.02            |

Percentage data in Table IV were based on mean numbers of light-coloured fibres within mean numbers of fibres, considering the age of lambs (Tables I, II, III). The ratio of light-coloured fibres in the fleece of growing lambs increased from 44% to 74 % and from approximately 75% to 88% (Table IV – a, b). The increase of light-coloured fibres was approximately 30% for younger lambs (7 days to 3.5 months old), and 13% in older lambs (5.5 to 7 months old). At the age of 3.5 to 5.5 months, the degree of fleece greying did not change significantly. Separately analysed primary and secondary fibres turned grey in a similar way (Table IV – b<sup>1</sup>, b<sup>2</sup>). Exceptionally, only secondary fibres of ram lambs turned grey and principally at younger ages.

Sensory analysis of wool samples from the flank concluded, that 50% of 7-days-old Wrzosówka lambs' fleece was black and the rest started turning grey or was already dark grey or grey (Fig. 1).

Lambs with black fibres developed into adults with dark grey or grey pigmentation on the flank. Lambs, which in the 7th day of life had black fibres – turning grey, dark grey or grey fleeces, became young adults with light grey or grey flanks.

The results of flank wool sample analyses at different ages were compared to the proportion of primary light-coloured fibres to secondary light-coloured fibres in 30 hair groups in each individual animal (Table V). The conclusion was that fleece colour depended mostly on the ratio of primary light-coloured fibres to secondary light-coloured fibres. The data from Table V showed, that differentiating darker fleece colour (black, black turning grey and dark grey) was affected by the ratio of light-coloured fibres (both secondary and primary) however grey and light grey colours was affected mostly by the ratio of light-coloured primary fibres. It should be underlined, that in spite of large differences in the numbers of all light-coloured fibres (Table I) and dark secondary fibres (Table III), no statistically significant differences were determined in growing ewes,

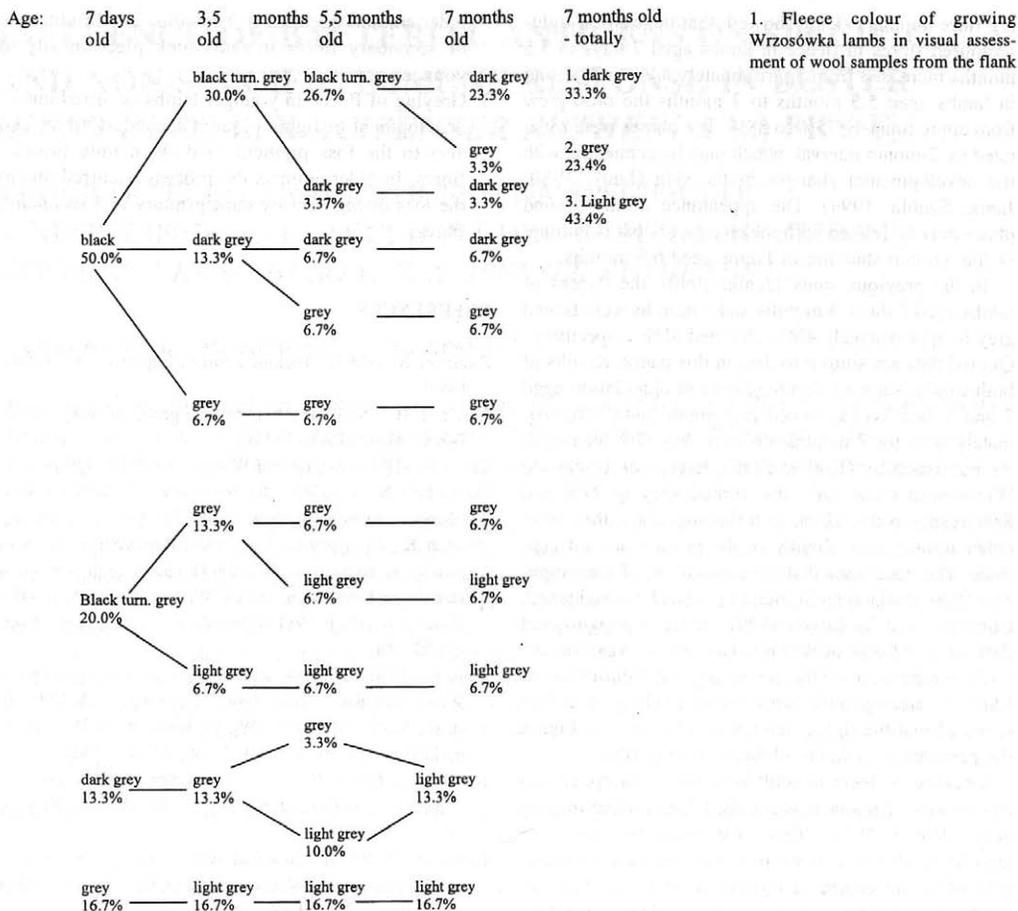
probably due to a high individual variability, which was supported by high coefficients of variability. It was concluded is that fleece colour depended mostly on the ratio of primary light-coloured fibres to dark secondary fibres.

## DISCUSSION

Decreasing numbers of fibres, observed in 10 microscopical fields of the skin of growing Wrzosówka lambs showed natural reduction in coat density in growing animals, in which the distances between hair roots get larger as the animals grow (Janik, 1980). Skin growth in 3.5-months-old lambs is so significant, that even the development of new fibres from hair follicles (Czaja, 1937), resulting in increasing numbers of fibres was not noticeable. The method can not explain the character of the greying process, but it is useful for an evaluation of the ratio of light-coloured fibres in the fleece, in certain ages of lambs.

The presence of fibres with medial pigment content in Wrzosówka fleece was explained by appearance of brown fibres (Kotler, 1936). In our work, they were considered as dark, pigment-losing fibres, and the scarcity of their presence was connected with the short period of the disappearance of pigment.

Coarse and semi-coarse fibres, called primary – P, develop in full amount from hair follicles during the foetal period of sheep (Diomidova, 1961). Individual hair groups consist, most frequently, of three primary fibres (Carter, 1955). Their stable number in 30 hair groups of growing Wrzosówka lambs indicated, that even in 7-days-old lambs, they are developed fully from hair follicles. Their permanent and stable numbers in every period of life made it possible to describe precisely the process of greying. In growing Wrzosówka lambs, the increase in primary light-coloured fibres took place due to the loss of pigment by primary dark fibres. Greying



V. Evaluation of coat colour in the process of greying of Wrzosówka lambs based on the ratio of light-coloured primary and secondary fibres in 30 fibre groups

| Visual assessment of colour | Ratio of % of light-coloured primary fibres to % of light-coloured secondary fibres |
|-----------------------------|---|
| Black                       | 0-10 / 0-75   |
| Black-turning grey          | 0-20 / 20-75  |
| Dark grey                   | 10-40 / 75-98   |
| Grey                        | 30-65 / 90-100  |
| Light-coloured grey         | 50-97 / 98-100  |

occurred in both, young and old lambs, but there was interval in the process between 3.5 and 5.5 months of age. Greying of primary fibres in ram lambs and ewe lambs was similar, but it was more intensive in younger rams.

Secondary fibres – S, develop from hair follicles during postnatal life (Carter, 1955). The 3.7 ratio nS/nP of secondary fibres in 3.5 months old Wrzosówka lambs showed, that they were almost fully developed. The

changes in the number of secondary fibres, light-coloured and dark, and light-coloured only with no changes in the number of dark fibres, showed, that in younger lambs (7 days to 3.5 months), only light-coloured secondary fibres developed from hair follicles. Unpublished data indicated, that between the 2nd day and the 2nd month of age, few dark secondary fibres also developed in Wrzosówka lambs. These fibres or the earlier developed dark fibres probably lost their pigment at 3.5 months of age. This conclusion is supported by the existence of so called semi-coarse secondary fibres. Thus, the greying of secondary fibres in younger lambs took place mainly because of light-coloured fibres development, and only partly because of the loss of pigment by dark fibres. The developed secondary light-coloured fibres in older animals (5.5–7 months) turned grey merely because of the loss of pigment. In ram lambs the greying of secondary fibres took place mostly at younger ages, whereas in ewe lambs the process occurred at all ages.

Two phases of greying of Wrzosówka fleece are documented by data resulting from two methods of evaluat-

ing fibre numbers. They showed, that the ratio of light-coloured fibres in fleece in lambs aged 7 days to 3.5 months increased from approximately 44% to 74% and in lambs aged 5.5 months to 7 months the ratio grew from approximately 75% to 88%. The phases were separated by 2-month interval, which may be connected with the developmental changes in the skin (Janik, 1980; Janik, Szabla, 1994). The appearance of the second phase may be related with the change of coat in autumn or the autumn shearing of lambs aged 6.5 months.

In the previous study (Janik, 1990), the fleeces of lambs aged 2 days, 3 months and 8 months were turned grey in approximately 40%, 76% and 85%, respectively. Quoted data are similar to data in this paper. Results of both studies showed, that the fleece of older lambs aged 7 and 8 months) has turned grey significantly (approximately 90% for 7 months-old ewes and 87% for rams). As published by (Kotler, 1936), fleeces of 1-year-old Wrzosówka ewes and rams turned grey in 77% and 88% respectively. Then, in following years, they were either turning grey slightly or the process did not continue. The data show that the coat colour of contemporary Wrzosówka type in foundation flock is brightened. Contrary to this, Szych (1997) noticed a significant darkening of fleece of Wrzosówka ewes at 3 years of age.

A comparison of the percentage of light-coloured fibres in fibre groups with visual grading of colour revealed that the lighter the colour of fleece the higher the percentage of light-coloured primary fibres.

Greying of fleece in adult Wrzosówka sheep, caused by the loss of pigment was called 'age-related turning grey' (Kotler, 1936). This term would be acceptable also for lamb fleece if we presume that each organism gets older since birth. Brightening of black fleece in lambs, which occurs because of the development of light-coloured secondary fibres as well as because of the loss of pigment in the developed dark primary and secondary fibres is one of the characteristics of individual development of Wrzosówka sheep.

## CONCLUSIONS

1. The level of greying in Wrzosówka lambs aged 7 days, 3.5 months, 5.5 months and 7 months was approximately 44, 74, 75 and 88% respectively. As lambs grew older, the individual variability of the process decreased.
2. Primary fleece fibres turned grey in young ewe and ram lambs aged 7 days to 3.5 months as well as in

older animals aged 5.5 to 7 months. The brightening of secondary fibres in rams took place mostly at younger ages.

3. Greying of fleece in younger lambs occurred due to development of light-coloured secondary fibres and also to the loss pigment in dark, mainly primary fibres. In older animals the process occurred due to the loss of pigment by dark primary and secondary fibres.

## REFERENCES

- Bagiński S. (1965): Technika mikroskopowa. Warszawa, PWN.
- Carter H. B. (1955): The hair follicle group in sheep. *Anim. Breed. Abstr.*, 23: 101-116.
- Czaja M. (1937): Studia nad Wrzosówka. *PTZ.* 119 p.
- Diomidova N. A. (1961): Razvitie kozi i siersti u owiec. Moskwa, Akademiya Nauk SSSR. 151 p.
- Fiszdon K., Niżnikowski R. (1996): Porównanie wyników pomiarów zoometrycznych i wybranych cech pokroju w stadzie podstawowym matek Wrzosówkowych w DFO Żelazna w latach 1981-1996. *Zesz. Nauk. Przegł. Hod.*, 23: 93-101.
- Janik K. (1980): Właściwości okrywy włosowej jagniat owcy Wrzosówki. *Rocz. Nauk. Zoot., Mon. i Rozp.*, 18: 183-202.
- Janik K., Szabla W. (1994): Wpływ wieku owcy Wrzosówki na jakość skór. *Rocz. Nauk. Zoot.*, 21: 275-293.
- Kaczkowski B. (1929): Studia nad wełną owiec ras i odmian miejscowych polskich. *Rozp. Wydz. Mat.-Przyrod.*, Kraków, 28 (2): 29-183.
- Kotler B. (1936): Badania nad składem i stopniem szlachetności wełny w runie Wrzosówki. *Rozp. Biol. Z zakresu Med. Wet., Roln. i Hod.*, Lwów, XIX (1-4): 43-130.
- Mozhajewa E. S. (1952): Rost i razvitie yagniat pri razlichnom pitanii. *Moskovskoe Obshestvo Ispytatelej Prirody.* 123 p.
- Prawocheński R. (1937): Hodowla owiec. I; II. Warszawa, Tow. Ośw. Roln., Księgarnia Rolna.
- Ruszczyc Z. (1970): Metodyka doświadczeń zootechnicznych. Warszawa, PWRiL.
- Szych D. (1997): Porównanie właściwości wybranych cech okrywy włosowej matek Wrzosówkowych w WFO Żelazna w latach 1986-1996. Rola i znaczenie hodowlane chronionych przed wyniszczeniem ras i odmian owiec. *Wydz. Zoot. SGGW Warszawa:* 65-69.
- Szymiski J. (1957): Owca białostocka. *Przegł. Hod.*, 9: 121-124.

Received for publication on August 17, 1998

Accepted for publication on March 9, 1999

---

### Contact Address:

Dr hab., prof. nadzw. Bożena Patkowska-Sokolá, Katedra hodowli owiec i zwierząt futerkowych, Akademia rolnicza, ul. Kozuchowska 7, 51-631 Wrocław, Polska, tel.: 3205 779, fax: 3205 781

---

# INFLUENCE OF BACTERIAL ANTIGENS ON SPECIFIC AND NON-SPECIFIC IMMUNE RESPONSE IN BESTER (*HUSO HUSO* L. X *ACIPENSER RUTHENUS* L.) FRY F<sub>3</sub>

VLIV BAKTERIÁLNÍCH ANTIGENŮ NA SPECIFICKOU A NESPECIFICKOU REAKCI U PLŮDKU BESTĚRA, HYBRIDA F<sub>3</sub> GENERACE *HUSO HUSO* L. X *ACIPENSER RUTHENUS* L.

Halina Kolman<sup>1</sup>, R. Kolman<sup>2</sup>, A. K. Siwicki<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Institute of Biology and Environment Protection, Division of General Biology, Olsztyn, Poland

<sup>2</sup>Institute of Inland Fishery, Division of Lake Fisheries, Olsztyn-Kortowo, Poland

<sup>3</sup>Faculty of Veterinary Medicine, Division of Microbiology, Olsztyn-Kortowo, Poland

**ABSTRACT:** The present study demonstrates the effects of antigens on specific and non-specific immune response in bester (*Huso huso* L. x *Acipenser ruthenus* L.). The examinations were carried out on bester F<sub>3</sub>, age 0+ and initial mean b. w. 100 g, reared in aquacultural conditions. The experimental fishes were intraperitoneally injected: *Aeromonas salmonicida* (outer membrane antigen) bacterin at a dose of 10 mg in 0.2 ml PBS/fish as well as Furovac vaccine at a dose of 0.2 ml/fish, the control fishes were injected with PBS. During 6 weeks after antigen application the fishes were bled and analytical studies were conducted. The statistical significance of differences between average levels of assayed indices in experimental and control fishes confirmed in NBT-test, titres of natural and specific antibodies as far as  $\gamma$ -globulin levels and total protein content, lysozyme activity and phagocytar index of the neutrophile granulocytes. It was found that bacterins at the administered dose stimulated non-specific and specific immunity. The Furovac vaccine was more immunogenic for bester than O-antigen bacterin.

**Keywords:** aquaculture; sturgeon; vaccines; *Aeromonas salmonicida*; Furovac; cellular and humoral defence mechanism

**ABSTRAKT:** V práci jsou demonstrovány účinky antigenů na specifickou a nespecifickou imunitní reakci u hybrida vyzy velké (*Huso huso* L.) x jesetera malého (*Acipenser ruthenus* L.) Sledování byli hybridi F<sub>3</sub> generace ve věku 0+ o počáteční individuální hmotnosti kolem 100 g, původem z chovu. Pokusným rybám byl intraperitoneálně aplikován bakterin z *Aeromonas salmonicida* (antigen získán z vnější membrány) v dávce 10 mg v 0,2 ml PBS na kus a dále vakcína Furovac v dávce 0,2 ml na kus. Kontrolním rybám byl stejným způsobem aplikován PBS. Za šest týdnů po aplikaci antigenu byl u ryb proveden totální odběr krve a její vyšetření. Statisticky významné rozdíly mezi průměrnými hodnotami sledovaných ukazatelů u pokusných i kontrolních ryb byly potvrzeny v testu NBT, u titru přirozených a specifických protilátek, v koncentraci gamaglobulinu a celkových bílkovin, v lysozymové aktivitě a ve fagocytárním indexu neutrofilních granulocytů. Bylo zjištěno, že bakteriny v podávané dávce stimulovaly nespecifickou i specifickou imunitu. Vakcína Furovac byla pro bestěra více imunogenní než antigen bakterinu.

**Klíčová slova:** akvakultura; jeseter; vakcíny; *Aeromonas salmonicida*; Furovac; celulární a humorální obranný mechanismus

## INTRODUCTION

Intensive studies have been conducted in the past twenty years on the mechanisms of immunological processes in teleost fish. Their results have been taken advantage of in, among others, preparing effective vaccines against many diseases, this resulting in definite benefits in form of lower fish mortalities in aquaculture operations and lower use of antibiotics. The vaccines are usually produced from dead microorganisms *Yersinia ruckeri*, *Vibrio* sp., *Aeromonas salmonicida*, or from antigens obtained from their walls (Risue,

Baudin-Laurencin, 1987; Kaca, 1991; Prost, 1991; Rózal-ski, 1991). As regards chondrostom fishes, the only such studies described the effect of O-antigen of *A. salmonicida* on the immune response in Siberian sturgeon *Acipenser baeri* Brandt (Kolman *et al.*, 1999a, b). The available literature does not contain any works devoted to the effect of bacterial antigens on immune responses in cultured sturgeon hybrids. This, as well as the need to practically apply the immunoprophylactic methods during sturgeon culture operations, has induced the authors to undertake a study on immune responses in bester to selected bacterial antigens in the recircula-

tion system. For the principle studies an outer membrane antigen of *Aeromonas salmonicida* was chosen, but for the first comparative recognition in the same conditions an appropriate multi-antigen vaccine, containing the whole killed *A. salmonicida* bacteria among others, was used.

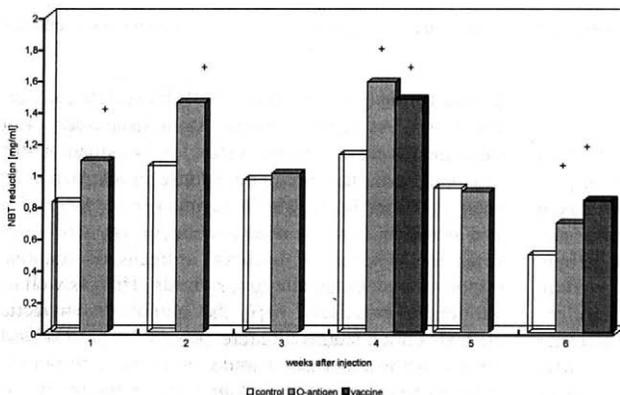
## MATERIAL AND METHODS

Studies were conducted using bester  $F_3$  fry aged 0+, of initial average body weight about 100 g. The fry was divided into three groups, 60 fishes in each group, and placed in separate rearing basins of the same water recirculation system with water purification devices (Kolman, 1992). The experimental fish were given a single peritoneal injection of *A. salmonicida* O-antigen, at the dose 10 mg/fish in 0.2 ml PBS, or Furovac vaccine at the dose 0.2 ml/fish. *A. salmonicida* O-antigen was supplied by the National Fish Health Research Laboratory in Learnsville WV 25430, USA. The vaccine Furovac was of Japanese production; it contained dead strains of *A. salmonicida* and *A. hydrophila* with an addition of *Staphylococcus aureus*. The concentration of microorganisms was about  $1 \times 10^7$  cells in 1 ml of the suspension. Fish in the control group were given an injection of PBS only, at the dose 0.2 ml/fish. Before bleeding Propiscin was used as anaesthetic according to the method applied by Kolman *et al.* (1998). The blood samples were collected by non-lethal heart puncture, manually according to Ivanova (1983) with a heparinized needle (0.45 x 16), intended for insuline injection (Polfa, Lublin). Samples were collected into Eppendorf's test tubes. Blood of the experimental fish given O-antigen and of the control was collected at weekly intervals, for the period of six weeks, from 10 fishes each time, while in the case of fish given Furovac vaccine, blood was collected twice: in four and six weeks after vaccination. Metabolic activity of neutrophilic granulocytes was determined using the Nitro Blue Tetrazolium (NBT) test, by a spectrophotometric method (the assay of optical density - OD) described by Studnicka *et al.*

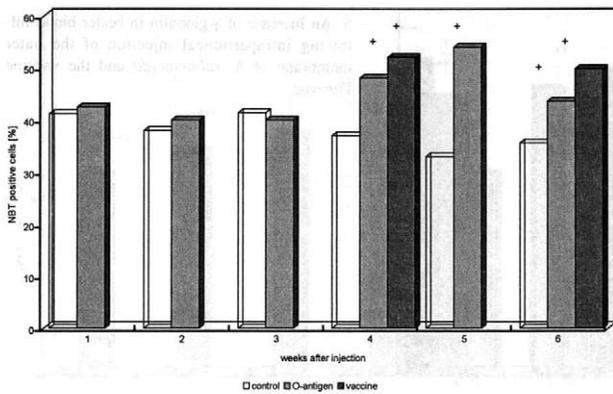
(1985). 2% NBT solution (Sigma) was used. The percentage of PMN (Polymorphonuclear) cells reducing NBT was assayed cytochemically according to Szczylak *et al.* (1979) after staining the smears in safranin solution (Van Oss *et al.*, 1973). Phagocytar activity of these granulocytes was determined with the method described by Avtalion, Shahrabani (1975) and O'Neil (1985), and expressed as phagocytic index (IF). *Staphylococcus aureus* 209 P suspension was used. Lysozyme activity (LZM) in blood plasma was determined by the turbidimetric method described by Studnicka *et al.* (1986). Suspension of bacteria *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) in phosphate buffer was used. Extinction was determined using a spectrophotometer Eskalal - Smith Kline Instruments, USA. Egg lysozyme (Sigma) was used according to Siwicki and Studnicka (1987). Total protein content and  $\gamma$ -globulin fraction level in blood plasma were determined by the micromethods described by Siwicki and Anderson (1993). Statistical analyses were performed using Student's *t*-test.

## RESULTS

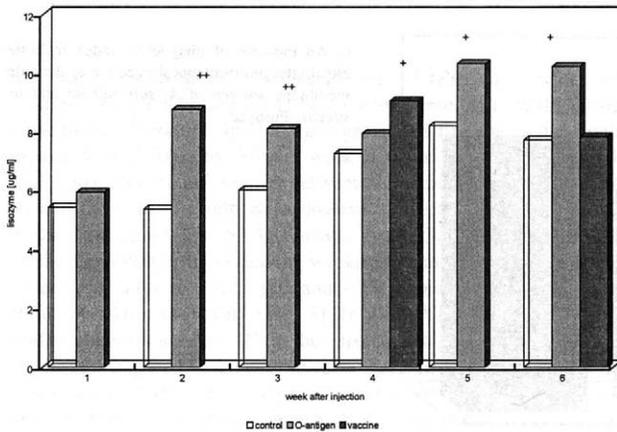
An increase of NBT reduction (Optical Density) in O-antigen group compared with the control was observed already in week I after the injection, and the differences were confirmed in subsequent weeks: II, IV and VI (Fig. 1,  $\alpha \leq 0.05$ ). An increase of NBT reduction was observed in the Furovac group in week IV as well as VI, by 28% and 60%, respectively (from 1 to 1.3 and from 0.5 to 0.8 mg of formazan/ml) (Fig. 1,  $\alpha \leq 0.05$ ). In bester from O-antigen group a statistically significant ( $\alpha \leq 0.05$ ) increase in the percentage of granulocytes reducing NBT was observed only in week IV, and their maximal increase took place in week V, at average values for the control and the experimental group equal to 33 and 54%, respectively (Fig. 2). In the Furovac group this index increased in weeks IV and VI, from about 38 in the control to 52 and 51%, respectively, in the experimental group (Fig. 2).



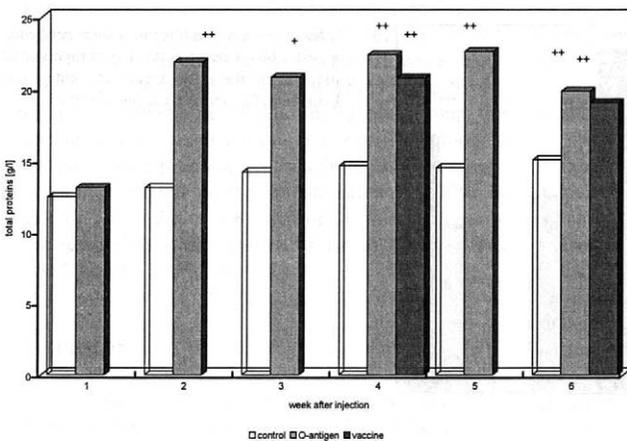
1. An increase of NBT-reduction ability in bester blood after intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and of the vaccine Furovac



2. Per cent of NBT-positive cells in baster (*Huso huso* L. x *Acipenser ruthenus* L.) blood following intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida*



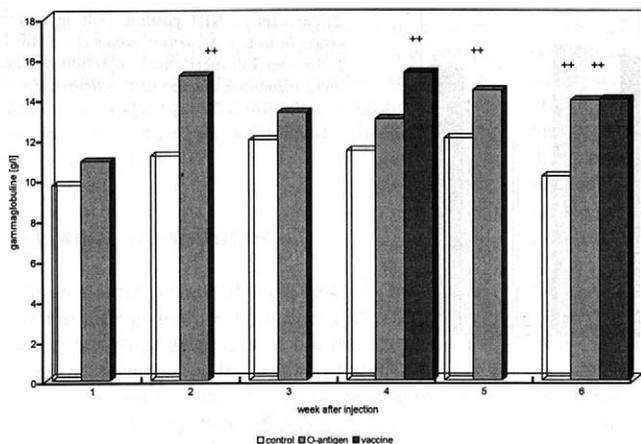
3. An increase of lysozyme activity in baster blood plasma following intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and the vaccine Furovac



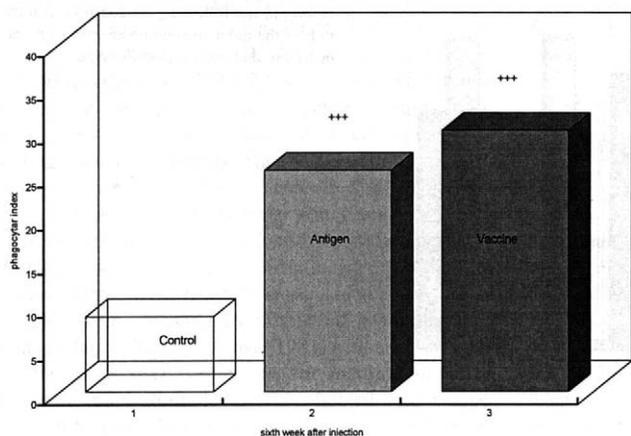
4. An increase of total proteins in baster blood plasma following intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and the vaccine Furovac

An increase of lysozyme activity in blood serum (significant at  $\alpha \leq 0.01$ ) was observed in O-antigen group compared with the control in the period from weeks I to VI after the injection. The highest difference between the groups was observed in week II; it amounted

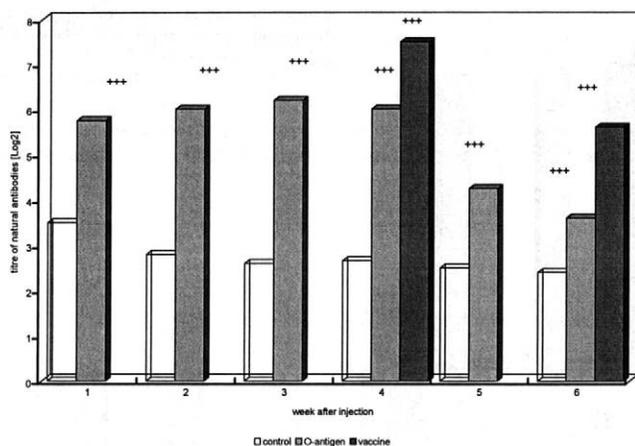
to 55%, while maximal values of LZM activity, exceeding 10  $\mu\text{g/ml}$ , were found in weeks V and VI (Fig. 3). In Furovac group a significant increase of LZM activity (by 25%) was observed in week IV after the injection (from 7.23 to 9.04  $\mu\text{g/ml}$ ) (Fig. 3), and in week VI



5. An increase of  $\gamma$ -globulin in bester blood following intraperitoneal injection of the outer membrane of *A. salmonicida* and the vaccine Furovac



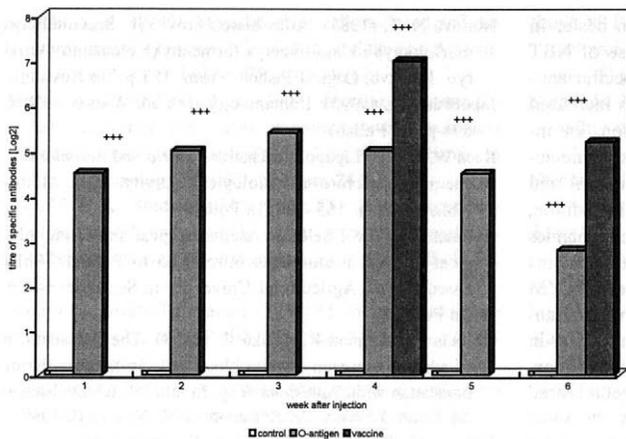
6. An increase of phagocytar index in bester blood after intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and the vaccine Furovac



7. An increase of the titres of natural antibodies in bester blood serum following intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and the vaccine Furovac

LZM activity in the experimental group was close to the control. Two weeks after O-antigen administration there was a statistically significant ( $\alpha \leq 0.01$ ) increase in the average level of total proteins: by some 54 %

(from 13 to about 22 g/l), and large differences between the experimental group and the control persisted until the end of the experiment (Fig. 4). Similarly, high increase of protein levels in blood serum was observed



8. An increase of specific antibodies in bester blood following intraperitoneal injection of the outer membrane antigen of *A. salmonicida* and vaccine Furovac

in Furovac group, both in weeks IV and VI (Fig. 4). Changes of  $\gamma$ -globulin content in blood serum were similar to those of proteins. In O-antigen group this fraction increased ( $\alpha \leq 0.01$ ) by 33% in week II (from 11.4 to 15.12 g/l), and the differences between the experimental and the control group were observed until the end of the experiment (Fig. 5). In Furovac group the levels of these globulins increased in weeks IV and VI by 34% (from 11.4 to 15.27 g/l) and 40% (from 10 to about 14 g/l), respectively (Fig. 5). In week VI of the studies phagocytar index (IF) in the experimental groups increased compared to the control ( $\alpha \leq 0.01$ ): in O-antigen group by 195% (from 8.6 to 25.4) (Fig. 6), and in Furovac group – by 260% (up to 30). O-antigen administration resulted in a statistically highly significant ( $\alpha \leq 0.001$ ) increase of haemagglutinin titre by 85.7% (from 3.5 to 6.5) already in the first week (Fig. 7), and of specific antibodies ( $\alpha \leq 0.001$ ) from zero to 4.5 (Fig. 8). The titres increased until week III, when maximal values of 6.18 and 5.2 were observed respectively, and then gradually decreased. In Furovac group the increase of the titre of natural and specific antibodies was even more pronounced than in O-antigen group, the titre of natural antibodies increased in 200% in week IV (from 2.6 to 7.8), and of the specific ones – from zero to 7.1, while in week VI the respective values were 5.7 and 5.2 (Fig. 8).

## DISCUSSION

It was found that the neutrophile granulocytes of Siberian and Russian sturgeon, as well as of the hybrids (bester  $F_3$ , Russian sturgeon x bester, Sakhalin sturgeon x Siberian sturgeon) contained an oxygenating system (Kolman, 1996; Kolman *et al.*, 1998, 1999b). This system is thought to play a major role in the microorganism-destroying mechanisms (Stosik, Deptuła, 1991, 1995; Kolman, 1996). Neutrophile granulocytes are also a source of lysozyme (Studnicka *et al.*, 1986; Si-

wicki, 1990), which is abundant in phagocytizing cells (Lukyanenko, 1989; Jakóbsiak, 1995). In view of the fact that neutrophile granulocytes outnumber MonoNuclear (MN) phagocytes in sturgeon blood (Kolman, 1996), and of the suggestions that in activated MN cells lysozyme secretion did not change (Jakóbsiak, 1995), it can be concluded that the activity and content of this enzyme in the blood circulation system was mainly determined by the state of neutrophile granulocytes. An increase in the functional activity of these cells (Figs. 1–3, 6) might have been determined, among others, by an activation of intracellular degranulating processes. Although the percentage of PolyMorphoNuclear (PMN) cells reducing NBT in O-antigen group remained at a level close to the control for the first three weeks (Fig. 2), but in the course of phagocytosis (Fig. 6) activated neutrocytes (Fig. 1) could have shown a response to chemattractants, consisting of increased adherence to the endothelium of blood vessels, and of migration to the surrounding tissues and inter-tissue spaces (Jakóbsiak, 1995).

The mechanisms of specific responses observed in bester hybrid  $F_3$  (Fig. 8), similar to those of pure *Acipenseridae* species, have not been clarified as yet. It can be assumed that a specific response results from a direct interaction of the cell exponents at the circumference of the immune system (Stosik, Deptuła, 1995; Staines *et al.*, 1996; Prost, 1997). Taking into account changes in the particular humoral factors (Figs. 7, 8) it seems at the background of the changes in  $\gamma$ -globulins (also described in the literature in other species), that the scheme of specific humoral response in  $F_3$  bester at the level of effector plasmatic cells may be similar to that in other vertebrates; first a synthesis of less specific antibodies takes place and then a modification of their spatial structure, resulting in an increase of their affinity to the concrete antigen have been presented to lymphocytes (Staines *et al.*, 1996).

Comparing the immune responses of bester and Siberian sturgeon following O-antigen administration it

can be noted that three indices increased in bester in the first week after the injection (an increase of NBT reduction, and of the titre of natural and specific antibodies), while in Siberian sturgeon six indices increased in similar conditions (higher NBT reduction, an increase of granulocytes reducing NBT, of lysozyme activity, level of total protein, and titre of natural and specific antibodies) (Kolman *et al.*, 1999a, b). In addition, the bester showed higher IF increase and higher dynamics of lysozyme changes, but lower levels of total proteins (Fig. 4) and  $\gamma$ -globulins. Contrary to this, maximal LZM activities and maximal titre of specific and natural antibodies after O-antigen administration were similar in bester and Siberian sturgeon. Other studies (Kolman, 1996) showed that bester and Siberian sturgeon reared in similar conditions were characterised by the same growth rate, but levels of  $\gamma$ -globulins and phagocytar index were lower in bester than in Siberian sturgeon.

Administration of some species of killed bacteria in vaccine caused a much higher increase in all indices of specific (Fig. 8) and non-specific (Figs. 1–7) immunity in bester fry; IF and the titre of natural and specific antibodies increased most of all. This suggests higher immunogenicity of the vaccine compared to O-antigen, although the method used – like any other serological methods – made it possible to discover only some of the antibodies (Radkowski, Ślusarczyk, 1991a, b). In view of the fact that antibodies in sturgeons are characterized by pentameric spatial structure (Stosik, Deptuła, 1995; Prost, 1997) higher maximum functional valency (Radkowski, Ślusarczyk, 1991a, b) may be expected in these fishes in comparison with teleost ones.

The results showed that bacterial antigens stimulated the non-specific immunophysiological mechanisms in bester, with neutrophile granulocytes taking an active part. This suggests that these granulocytes may play a role of the mediator of non-specific immunity, in the same way as in other vertebrates (Siwicki, 1990; Stosik, Deptuła, 1995; Jakóbsiak, 1995; Falkiewicz, Liberek, 1996). Stimulation of their activity as well as MN and lymphoid cells might have activated the whole immune system and induced specific responses (Jakóbsiak, 1995; Staines *et al.*, 1996). The data showed that administration of bacterins to F<sub>3</sub> bester induced non-specific and specific defence mechanisms, moreover Furovac vaccine application to bester resulted in higher immune response than when O-antigen of *A. salmonicida* was administered.

## REFERENCES

Avtalion R. R., Shahrabani R. (1975): Studies on phagocytosis in fish. I. *In vitro* uptake and killing of living *Staphylococcus aureus* by peripheral leukocytes of carp (*Cyprinus carpio*). *Immunology*, 29: 1181–1187.

Falkiewicz B., Liberek B. (1996): Structure and function of the major histocompatibility complex (MHC) class II antigens. *Post. Bioch.*, 42: 340–349 (in Polish).

Ivanova N. T. (1983): Atlas kletok krovi ryb. *Sravnitel'naya morfologiya i klassifikaciya formennykh elementov krovi ryb*. Moskva, Logk. i Pishch. Prom. 183 p. (in Russian).

Jakóbsiak M. (1995): *Immunology*. 2nd ed. Warsaw, PWN. 694 p. (in Polish).

Kaca W. (1991): Lipopolysaccharides *Vibrio* and *Aeromonas* – chemical structure and biological activity. *Post. Mikrobiol.*, XXX (2): 165–180 (in Polish).

Kolman H. (1996): Selected haematological and immunological indices in sturgeons introduced to Poland. [PhD Dissertation.] Agricultural University in Szczecin. 140 p. (in Polish).

Kolman H., Kolman R., Dzika E. (1998): The displacement of siberian sturgeon's white blood cells in number during infestation with *Diplostomum* sp. In: 5th Int. Ichthyohaematol. Conf., Protivín, Czech Republic, 30. XI–3. XII. 1998.

Kolman H., Kolman R., Siwicki A. K. (1999a): Comparison of some non-specific cell-mediated defence indices of Siberian sturgeon (*A. baeri* Brandt) and hybrid 'Siberian sturgeon x green sturgeon' (*A. medirostris* Ayres). *Ann. Ped. Univ., Biol. Sci.* (in press).

Kolman H., Siwicki A. K., Kolman R. (1999b): Influence of O-antigen *A. salmonicida* on specific and non-specific immune response of Siberian sturgeon (*A. baeri* Brandt) fry. *Arch. Pol. Fish.*, Vol. 7.

Kolman R. (1992): The effectiveness of biological shelf filter for water treatment in recirculation system used for trout rearing. *Arch. Pol. Fish., Publ. Olsztyn – IRS, Vol. 1, Suppl. 1: 1–37*.

Lukyano V. I. (1989): Immune biology of fishes: born immunity. Moskva, Agropromizdat, II. 272 p. (in Russian).

O'Neil J. G. (1985): An *in vitro* study of polymorphonuclear phagocytosis and the effect of temperature. In: Manning M., Tatner M. (eds.): *Fish Immunology*. London, Academic Press: 47–55.

Prost M. (1991): Vaccination of fishes – actual state of researches and practical employment. *Med. Wet.*, 47 (4): 145–149 (in Polish).

Prost M. (1997): Fish antibodies – molecular structure and their differentiation. *Med. Wet.*, 53 (3): 127–129 (in Polish).

Radkowski M., Ślusarczyk J. (1991a): Affinity of antibodies directed towards viral and bacterial antigens. I. Mechanisms of the maturation of the immune response and the influence of the affinity on the biological activity of antibodies. *Post. Mikrobiol.*, XXX: 343–352 (in Polish).

Radkowski M., Ślusarczyk J. (1991b): Affinity of antibodies directed towards viral and bacterial antigens. II. Methods of investigation and the influence of antibodies affinity on the results of serological methods]. *Post. Mikrobiol.*, XXX: 353–362 (in Polish).

Risque R. F., Baudin-Laurencin F. (1987): Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) or agglutination test for monitoring potency of trout vibriosis vaccines. *Aquaculture*, 67: 207–209.

Różalski A. (1991): Polyclonal and monoclonal antibodies against lipopolysaccharides (LPS) of Gram-negative bacteria and their biological activity. *Post. Mikrobiol.*, XXX: 301–318 (in Polish).

- Siwicki A. K. (1990): Stimulation of cell-mediated and humoral immunity in carp (*C. carpio* L.). Edited by Agricultural Academy in Lublin. 75 p. (in Polish).
- Siwicki A. K., Anderson D. P. (1993): Immunostimulation in fish: measuring the effects of stimulants by serological and immunological methods. In: The Nordic Symp. on Fish Immunology, Lysekil, Sweden. 24 p.
- Siwicki A. K., Studnicka M. (1987): The phagocytic ability of neutrophils and serum lysozyme activity in experimentally infected carp (*Cyprinus carpio* L.). *J. Fish Biol.*, 31: 57–60.
- Staines N., Brostoff J., James K. (1996): Introduction to Immunology. 1st ed. in Polish. Wrocław, Szymaniec St., Urban & Partner. 147 p.
- Stosik M. P., Deptuła W. (1991): Neutrophilic granulocytes of fishes]. *Post. Mikrobiol.*, XXX (2): 209–216 (in Polish).
- Stosik M. P., Deptuła W. (1995): Immunology of fishes, selected problems]. University in Szczecin, Scientific Publishing. 60 p. (in Polish).
- Studnicka M., Siwicki A. K., Ryka B. (1985): Phagocytic ability of neutrophils in carp (*C. carpio* L.). *Bamidgeh*, 37: 123–128.
- Studnicka M., Siwicki A. K., Ryka B. (1986): Lysozyme levels in carp (*C. carpio* L.). *Bamidgeh*, 38: 22–25.
- Szczylik C., Gornas P., Carewicz R. (1979): Test redukcji NBT – metoda i praktyczne zastosowanie (NBT reduction test – method and practical application). *Diag. Lab.* (1): 35–40 (in Polish).
- Van Oss C. J., Fuij H., Wicher K., Rabin B., Kite J. (1973): Phagocytosis. In: Rose N. R., Bigazi P. E. (eds.): *Methods in Immunodiagnosis*. New York, John Wiley: 157–159.

Received for publication on September 16, 1998

Accepted for publication on March 9, 1999

---

*Contact Address:*

Dr. Halina K o l m a n, Division of General Biology, Institute of Biology & Environment Protection, Żołnierska 14, 10-561 Olsztyn, Poland, tel./fax: 48 89 535 20 14 (inside 222)

---

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-Suchdol**

# PASSAGE AND RETAINING OF PLASTIC PARTICLES IN DIGESTIVE TRACT OF DRY COWS\*

## PASÁŽ A ZDRŽENÍ PLASTIKOVÝCH ČÁSTIC V TRÁVICÍM TRAKTU ZAPRAHLÝCH DOJNIC

J. Třináctý<sup>1</sup>, L. Schmeiserová<sup>1</sup>, P. Suchý<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Research Institute of Animal Nutrition, s.r.o., Pohořelice, Czech Republic

<sup>2</sup>University of Veterinary and Pharmaceutical Sciences, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** Our work was aimed at the evaluation of the passage of large plastic particles through the digestive tract of dry cows. Three crossbred rumen cannulated dry cows were used for the trial (Czech Pied > 75% x Black Pied Friesian < 25%). The diet consisted of 6 kg alfalfa hay and 2 kg mixture (32% barley meal, 32% maize meal, 32% wheat meal, 2% mineral supplement and 2% sodium chloride). Plastic particles of the cylindrical shape were used. The specific gravity of the particles was  $1.25 \pm 0.05 \text{ g/cm}^3$ . The trial consisted in 50 pieces of 8/8 and 50 pieces of 12/12 mm particles applied manually through cannula into the bottom of ventral sac (rumen), anterior blind sac (rumen) and reticulum. The trial was divided into two periods, 32 days each. Three ways of plastic particles recovery were evaluated: 1) Each day the particles were extracted from the forestomachs, counted and put back. After 8 days the particles were removed from the forestomachs. Also 2) regurgitation of particles and 3) recovery in faeces were evaluated. According to our results both anterior blind sac and reticulum perform a similar role in the plastic particles passage through the reticulo-rumen. The particles passed through both parts in one day, and were retained in majority in the bottom of the ventral sac. Regurgitation of 8/8 particles varied from 0.0% to 2.0%, regurgitation of 12/12 particles was between 8.0 and 11.7%. The particles were retained behind the reticulo-omasal orifice for 9–32 days in between 10.7–21.3%.

**Keywords:** cow; plastic particles; passage; rumen

**ABSTRAKT:** Naším cílem bylo hodnocení pasáže velkých plastických částic trávicím traktem zaprahých dojníc. V pokusu byly použity tři zaprahlé dojnice (kříženky plemen české strakaté > 75 % x fríské černostrakaté < 25 %) vybavené ruminální kanylou. Krmná dávka obsahovala 6 kg vojtěškového sena a 2 kg směsi (32 % ječmene, 32 % kukuřice, 32 % pšenice, 2 % minerálního doplňku a 2 % NaCl). Byly použity plastické částice válečkovitého tvaru. Specifická hmotnost částic byla  $1,25 \pm 0,05 \text{ g/cm}^3$ . V pokusu bylo použito vždy 50 částic 8/8 a 50 částic 12/12 mm aplikovaných na dno ventrálního vaku (bachelor), předního slepého ventrálního vaku (bachelor) a čepce. Aplikace byla provedena ve dvou periodách, přičemž každá trvala 32 dnů. Návratnost byla hodnocena třemi způsoby: 1) Každý den byly částice vybrány z předžaludků, spočítány a vráceny zpět. Po 8 dnech byly částice odstraněny z předžaludků. Dále bylo hodnoceno 2) vyzvrácení a 3) návratnost částic ve výkalech. Podle našich výsledků přední slepý vak i retikulum vykazaly podobnou roli v pasáži plastických částic bachorem. Částice prošly oběma těmito částmi v jednom dni a byly většinou zadrženy na dně ventrálního vaku. Hodnota vyzvrácení 8/8 částic byla 0 až 2,0 %, vyzvrácení částic 12/12 kolísalo mezi 8,0 až 11,7 %. Částice byly zadrženy za čepco-knihovým otvorem ve výši 10,7 až 21,3 % v průběhu 9 až 32 dní.

**Klíčová slova:** dojnice; plastické částice; pasáže; bachelor

### INTRODUCTION

The aim of our work was to evaluate the passage of large plastic particles through the digestive tract of dry cows. The passage depends on the specific gravity and size of particles. The optimum density of plastic particles was reported by King and Moore (1957). Their

trials with steers showed the highest speed of particle passage for the particle density of about  $1.2 \text{ g/cm}^3$ . Campling and Freer (1962) found out that the lowest ruminal mean retention time was shown by particles with the specific gravity of  $1.1\text{--}1.2 \text{ g/cm}^3$  and similar results were achieved by Stetter Neel *et al.* (1995) with the specific gravity of  $1.32 \text{ g/cm}^3$ . That is why plastic

\* Research was supported by the Ministry of Agriculture of CR (Project No. 9600027197-15 of the National Agency for Agricultural Research) and by the Grant Agency of the Czech Republic (Project No. 523/99/1539).

particles with specific gravity 1.2–1.3 g/cm<sup>3</sup> were used in our trial.

Larger particles pass slowly through the digestive tract of cattle. This was confirmed in trials with large and small particles of feed (Moore *et al.*, 1992; Mambri, Peyraud, 1997) and in trials with plastic particles. Campling and Freer (1962) used 3.2, 4.0 and 4.8mm plastic particles in a trial with dry cows, the TMRT (total mean retention time) being 80, 86 and 91 h. Cylindrical nylon particles of 1, 3 and 5mm length were applied into the rumen of steers by Prigge *et al.* (1990), ruminal retention time being 17.4, 20.7 and 61.4 h. The passage of large particles was mentioned by Welch and Smith (1978). They fed steers with 5, 10, 15 and 20mm rubber strips with 0.9% recovery of nonruminated 20 mm particles. Ehle and Stern (1986) applied into the rumen of heifers 3.2, 6.4 and 12.7mm spheres with the recovery of 78.2, 79.5 and 68.8%. Also the critical size of particles escaping from the reticulo-rumen has been discussed in literature. Poppi and Norton (1980) suggested the size of 1.18 mm to be critical for the particles to escape from the reticulo-rumen of sheep. In trials with dry cows Shaver *et al.* (1988) found 4–5% of fecal DM retained on a sieve with the 4.75mm aperture. Deswysen and Ellis (1990) mentioned that the threshold value of particle size cannot be measured in absolute terms because of the biological randomness in the passage of digesta particles. The particles enter through the cardia into a pear-shaped sac (Czerkawski, 1986). The following passage of particles through the rumen is influenced by the stratification of the particles in the rumen. Evans *et al.* (1973) reported that coarse particles occurred at the highest concentration in the dorsal sacs of the rumen and that the density of coarse particles tended to be low and the fine particle density tended to be high. For the purpose of the rumen digesta shifts evaluation various methods have been used. Wyburn (1980) used x-ray filming of 16 sheep dosed with barium sulfate, which allowed direct observation of the digestive tract. McBride *et al.* (1984) attempted endoscopic observations of reticulo-omasal orifice, which proved the orifice to be large enough to allow the passage of particles smaller than 10 mm. According to Welch (1982) the reticulo-omasal orifice in cattle is larger than 20 mm.

In 1995 the new nylon capsule method was presented for the first time (Třináciý *et al.*, 1995). The presented method was based on nylon capsules of 10 mm size, made of nylon cloth, filled with feed samples and orally inserted into the animal. The questions remained what factors can influence the passage of capsules through the digestive tract of cattle. As the model of nylon capsules, the plastic particles were tested in this article.

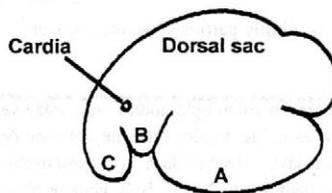
This article tries to find answers to the following questions: 1) Can 8/8 and 12/12mm plastic particles leave the reticulo-rumen of dry cows? 2) What is the role of reticulum and the individual parts of rumen when the plastic particles leave the reticulo-rumen?

3) What is the amount of particles retained in the digestive tract behind the reticulo-omasal orifice after the removal of plastic particles from the reticulo-rumen?

## MATERIAL AND METHODS

Three crossbred rumen cannulated dry cows (Czech Pied > 75% x Black Pied Friesian < 25%) were used for the trial. The liveweight of the cows at the beginning of the trials was 600, 575 and 625 kg. The diet (per day) consisted of 6 kg alfalfa hay and 2 kg mixture (32% barley meal, 32% corn meal, 32% wheat meal, 2% mineral supplement and 2% sodium chloride). No refusals were found with the cows, the mean daily consumption being 6.95 kg of DM, 1.24 kg of crude protein and 1.66 kg of crude fibre. The diet was fed twice daily, at 5.00 a.m. and 3.00 p.m.

Plastic particles of the cylindrical shape were used. They were made of polypropylene with limestone as the filler (Chirana Brno). The specific gravity of the particles was  $1.25 \pm 0.05$  g/cm<sup>3</sup>. The trial consisted in 50 pieces of 8/8 and 50 pieces of 12/12 (diameter/length) mm particles applied manually through cannula into the bottom of the ventral sac (*saccus ventralis ruminis*), anterior blind sac (*saccus caecus ventralis cranialis*)



1. Diagrammatic representation of the reticulo-rumen

Legend: A – ventral sac, B – anterior blind sac, C – reticulum (drawing according to Evans *et al.*, 1973; English terms according to Czerkawski, 1986; Latin terms in the text according to Popesko, 1962)

and reticulum (*reticulum*), a diagramme see Fig. 1. Each site where the particles were applied had its own particle colour. According to our previous experience (unpublished) we have determined that this type of plastic particles was not found out in other departments of rumen. Together 300 particles, 150 of either size, were inserted into a cow at a time.

The trial was divided into two periods, 32 days each. Excrements were collected to pots by 24-hour service. The collection intervals were 24 h. Three ways of plastic particles recovery were evaluated: 1) Each day the particles were extracted from the bottom of forestomachs, counted and put back. After 8 days the particles were removed from forestomachs. 2) Regurgitation of particles found near the forelegs of animals in the course

of the 24-h interval for the 8 days was evaluated. 3) To find out the particle recovery in faeces, excrements were rinsed in running water with the help of a 4mm screen in 24-h intervals.

The results were evaluated by the multifactor analysis of variance with Statgraphic version 5.0, with particle size, period, cow and day as sources of variability. TMRT was calculated according to Thielemans *et al.* (1978) using the following formula:

$$TMRT = \Sigma(Qt \cdot t \cdot dt) / \Sigma(Qt \cdot dt)$$

where: TMRT – total tract mean retention time  
 Qt – quantity of particles in faeces found during the faecal collection interval  
 t – time interval after particles application  
 dt – faecal collection interval

## RESULTS AND DISCUSSION

The three ways of plastic particle recovery were evaluated as follows:

I. Particles 8/8<sup>1)</sup> and 12/12 mm applied to the ventral sac retained in the ventral sac or transferred to the anterior blind sac and the reticulum in the course of 8 days (%)

| Days after application | Particles applied into the ventral sac |                   | Particles transferred to the anterior blind sac from the ventral sac |       | Particles transferred to the reticulum from the ventral sac |       | Total amount in the forestomachs |                   |
|------------------------|--|-------------------|--|-------|---|-------|----------------------------------|-------------------|
|                        | 8/8                                    | 12/12             | 8/8  | 12/12 | 8/8   | 12/12 | 8/8                              | 12/12             |
| 1                      | 72.0                                   | 81.3              | 0.3  | 0.3   | 3.0   | 5.3   | 75.3                             | 86.6              |
| 2                      | 69.0                                   | 83.0              | 0.0  | 0.0   | 0.0   | 0.0   | 69.0a                            | 83.0 <sup>b</sup> |
| 3                      | 61.7                                   | 78.3              | 0.0  | 0.0   | 0.3   | 2.7   | 62.0a                            | 81.0 <sup>b</sup> |
| 4                      | 57.0 <sup>a</sup>                      | 77.7 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 0.0   | 1.3   | 57.0 <sup>a</sup>                | 79.0 <sup>b</sup> |
| 5                      | 52.7 <sup>a</sup>                      | 77.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 0.0   | 0.3   | 52.7 <sup>a</sup>                | 77.3 <sup>b</sup> |
| 6                      | 51.3 <sup>a</sup>                      | 73.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 0.3   | 3.7   | 51.6 <sup>a</sup>                | 76.7 <sup>b</sup> |
| 7                      | 52.7 <sup>a</sup>                      | 74.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.3   | 0.0   | 0.0   | 52.7 <sup>a</sup>                | 74.3 <sup>b</sup> |
| 8                      | 51.0 <sup>a</sup>                      | 71.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 0.0   | 2.3   | 51.0 <sup>a</sup>                | 73.3 <sup>b</sup> |

<sup>1)</sup> length/diameter ratio

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

II. Particles 8/8 and 12/12 mm applied to the anterior blind sac retained in the anterior blind sac or transferred to the ventral sac and the reticulum in the course of 8 days (%)

| Days after application | Particles applied into the anterior blind sac |       | Particles transferred to the ventral sac from the anterior blind sac |                   | Particles transferred to the reticulum from the anterior blind sac |       | Total amount in the forestomachs |                   |
|------------------------|---|-------|--|-------------------|--|-------|----------------------------------|-------------------|
|                        | 8/8   | 12/12 | 8/8  | 12/12             | 8/8  | 12/12 | 8/8                              | 12/12             |
| 1                      | 0.0   | 0.3   | 20.7 <sup>a</sup>  | 38.3 <sup>b</sup> | 0.7  | 2.7   | 21.4 <sup>a</sup>                | 41.3 <sup>b</sup> |
| 2                      | 0.0   | 0.0   | 20.7 <sup>a</sup>  | 38.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.3   | 20.7 <sup>a</sup>                | 38.6 <sup>b</sup> |
| 3                      | 0.0   | 0.0   | 19.7 <sup>a</sup>  | 35.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 2.3   | 19.7 <sup>a</sup>                | 37.6 <sup>b</sup> |
| 4                      | 0.0   | 0.0   | 17.0 <sup>a</sup>  | 35.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.7   | 17.0 <sup>a</sup>                | 35.7 <sup>b</sup> |
| 5                      | 0.0   | 0.0   | 16.0 <sup>a</sup>  | 33.7 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.7   | 16.0 <sup>a</sup>                | 34.4 <sup>b</sup> |
| 6                      | 0.0   | 0.0   | 14.3 <sup>a</sup>  | 31.7 <sup>b</sup> | 0.3  | 1.7   | 14.6 <sup>a</sup>                | 33.4 <sup>b</sup> |
| 7                      | 0.0   | 0.0   | 14.3 <sup>a</sup>  | 31.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.3   | 14.3 <sup>a</sup>                | 31.3 <sup>b</sup> |
| 8                      | 0.0   | 0.3   | 14.7 <sup>a</sup>  | 29.7 <sup>b</sup> | 0.0  | 2.0   | 14.7 <sup>a</sup>                | 32.0 <sup>b</sup> |

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

1) The particles were counted in the rumen and reticulum. The number of particles applied into the ventral sac (Table I) went down rapidly in the course of the first day. After 24 hours 72 % of 8/8 particles and 81.3% of 12/12 particles were found. On the following days the decrease was substantially slower. As shown in Table I, the passage of particles from the ventral sac to other parts of forestomachs was negligible, only a small amount of 12/12 particles was found in the reticulum after some days. This means that the passage of these particles through the reticulum was relatively slower than through the anterior blind sac. Significant differences between 8/8 and 12/12 particles first appeared only after 4 days, while with the total amount of particles in the forestomachs the result was visible as soon as after 2 days. On the 8th day after application 51.0% of 8/8 and 71.0% of 12/12 particles were still found in the ventral sac. Completely different situation was found out with the particles applied into the anterior blind sac (Table II). All particles left this part of the rumen during the first 24 hours. They partly moved to the ventral

III. Particles 8/8 and 12/12 mm applied to the reticulum retained in the reticulum or transferred to the ventral sac and the anterior blind sac in the course of 8 days (%)

| Days after application | Particles applied into the reticulum |       | Particles transferred to the ventral sac from the reticulum |                   | Particles transferred to the anterior blind sac from the reticulum |       | Total amount in the forestomachs |                   |
|------------------------|--------------------------------------|-------|---|-------------------|--|-------|----------------------------------|-------------------|
|                        | 8/8                                  | 12/12 | 8/8   | 12/12             | 8/8  | 12/12 | 8/8                              | 12/12             |
| 1                      | 0.0                                  | 2.0   | 20.0 <sup>a</sup>   | 34.7 <sup>b</sup> | 0.3  | 0.0   | 20.3 <sup>a</sup>                | 36.7 <sup>b</sup> |
| 2                      | 0.0                                  | 0.3   | 19.0 <sup>a</sup>   | 35.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 19.0 <sup>a</sup>                | 35.6 <sup>b</sup> |
| 3                      | 0.0                                  | 1.3   | 18.3 <sup>a</sup>   | 33.7 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 18.3 <sup>a</sup>                | 35.0 <sup>b</sup> |
| 4                      | 0.0                                  | 0.3   | 17.3 <sup>a</sup>   | 34.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 17.3 <sup>a</sup>                | 34.3 <sup>b</sup> |
| 5                      | 0.0                                  | 0.0   | 16.3 <sup>a</sup>   | 34.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 16.3 <sup>a</sup>                | 34.3 <sup>b</sup> |
| 6                      | 0.3                                  | 2.3   | 15.3 <sup>a</sup>   | 31.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 15.6 <sup>a</sup>                | 33.6 <sup>b</sup> |
| 7                      | 0.0                                  | 0.0   | 15.0 <sup>a</sup>   | 31.0 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 15.0 <sup>a</sup>                | 31.0 <sup>b</sup> |
| 8                      | 0.0                                  | 1.3   | 15.3 <sup>a</sup>   | 29.3 <sup>b</sup> | 0.0  | 0.0   | 15.3 <sup>a</sup>                | 30.6 <sup>b</sup> |

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

IV. Regurgitation of 8/8 and 12/12 mm plastic particles applied to the ventral sac, anterior blind sac and reticulum (%)

| Days after application | Particles applied to the ventral sac |                  | Particles applied to the anterior blind sac |                   | Particles applied to the reticulum |       |
|------------------------|--------------------------------------|------------------|---|-------------------|------------------------------------|-------|
|                        | 8/8                                  | 12/12            | 8/8   | 12/12             | 8/8                                | 12/12 |
| 1                      | 0                                    | 0.3              | 1.3   | 4.3               | 0.0                                | 2.7   |
| 2                      | 1.3                                  | 2.7              | 1.3 <sup>a</sup>                            | 6.3 <sup>b</sup>  | 0.0                                | 4.7   |
| 3                      | 1.3                                  | 3.7              | 1.3 <sup>a</sup>                            | 6.7 <sup>b</sup>  | 0.0                                | 5.3   |
| 4                      | 1.3                                  | 4.7              | 1.3 <sup>a</sup>                            | 7.7 <sup>b</sup>  | 0.0                                | 5.7   |
| 8                      | 2.0 <sup>a</sup>                     | 8.0 <sup>b</sup> | 1.7 <sup>a</sup>                            | 11.7 <sup>b</sup> | 0.0                                | 8.3   |

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

sac, the 8/8 particles in 20.7 %, the 12/12 particles in a significantly larger numbers (38.3 %). The total amount of retained particles after the first day was only 21.4% of 8/8 and 41.3% of 12/12 particles, the rest was transferred to the other parts of the digestive tract. Then the number of retained particles decreased slowly in the course of the remaining 8 days, these were practically only the particles which moved to the ventral sac in the course of the first day. The behaviour of the particles applied into the reticulum (Table III) was nearly identical to that of the particles applied to the anterior blind sac. Also here all particles left after application and a similar amount of remaining particles moved to the ventral sac or to the other parts of the digestive tract. After 8 days following the application the number of particles in the ventral sac transferred from the anterior blind sac (Table II) and from the reticulum (Table III) was almost identical. We can see that with 8/8 particles it was 14.7 and 15.3%, and with 12/12 it was 29.7 and 29.3%, respectively. This means that in our case the large particles which were in the reticulum or in the anterior blind sac had similar chances of transfer to the ventral sac.

2) The mean regurgitation (Table IV) of 8/8 particles applied into forestomachs was maximally 2.0% after 8 days. Out of the 8/8 particles applied into reticulum no particles were regurgitated. Regurgitation of

12/12 particles varied between 8.0 and 11.7% without evident dependence on the forestomachs where the particles were applied.

3) Cumulative recovery of particles in faeces is mentioned in Table V. After 32 days particles applied to the ventral sac only showed the recovery of 46.3% of 8/8 particles while particles from the anterior blind sac and the reticulum amounted to 79.0 and 82.3%, respectively. Similar relations were found with 12/12 particles. This finding is in agreement with the fact that the transfer of particles from the ventral sac showed the lowest values (Tables I, II and III). While the 8/8 particles from the ventral sac and the anterior blind sac showed significantly higher values of recovery than the 12/12 ones after 4 days, with the reticulum this appeared already after 2 days. Recovery of particles applied into the anterior blind sac and the reticulum was similar, e.g. on the 32th day it was 79.0 vs. 82.3% for the 8/8 particles and for the 12/12 ones 54.3 vs. 59.7%, respectively.

The particles were removed from the forestomachs after 8 days, the bottom of the forestomachs was checked for remaining particles on the following day, and no particles were found. All columns of Table V show that excrements still contained particles (that particles were still excreted) after 24-32 days, which means that some particles spent 16-24 days in the digestive tract behind

V. Cumulative recovery of 8/8 and 12/12 mm plastic particles applied to the ventral sac, anterior blind sac and reticulum (found in faeces, %)

| Days after application | Particles applied to the ventral sac |                   | Particles applied to the anterior blind sac |                   | Particles applied to the reticulum |                   |
|------------------------|--------------------------------------|-------------------|---|-------------------|------------------------------------|-------------------|
|                        | 8/8                                  | 12/12             | 8/8   | 12/12             | 8/8                                | 12/12             |
| 1                      | 0                                    | 0                 | 0   | 0                 | 0                                  | 0                 |
| 2                      | 0.3                                  | 0.7               | 15.3  | 14.3              | 20.0 <sup>a</sup>                  | 8.7 <sup>b</sup>  |
| 3                      | 11.7                                 | 2.0               | 44.3  | 33.3              | 46.0 <sup>a</sup>                  | 24.7 <sup>b</sup> |
| 4                      | 14.3 <sup>a</sup>                    | 2.0 <sup>a</sup>  | 50.0 <sup>a</sup>                           | 35.0 <sup>b</sup> | 50.7 <sup>a</sup>                  | 25.0 <sup>b</sup> |
| 8                      | 25.0 <sup>a</sup>                    | 7.0 <sup>a</sup>  | 61.0 <sup>a</sup>                           | 42.3 <sup>b</sup> | 64.0 <sup>a</sup>                  | 40.0 <sup>b</sup> |
| 16                     | 38.7 <sup>a</sup>                    | 12.7 <sup>a</sup> | 73.0 <sup>a</sup>                           | 49.7 <sup>b</sup> | 76.3 <sup>a</sup>                  | 49.3 <sup>b</sup> |
| 24                     | 44.3 <sup>a</sup>                    | 16.3 <sup>a</sup> | 78.7 <sup>a</sup>                           | 53.0 <sup>b</sup> | 80.7 <sup>a</sup>                  | 57.3 <sup>b</sup> |
| 32                     | 46.3 <sup>a</sup>                    | 17.7 <sup>a</sup> | 79.0 <sup>a</sup>                           | 54.3 <sup>b</sup> | 82.3 <sup>a</sup>                  | 59.7 <sup>b</sup> |
| TMRT (h)               | 211                                  | 284               | 131   | 133               | 132                                | 182               |

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

VI. Total recovery of 8/8 and 12/12 mm plastic particles applied to the ventral sac, anterior blind sac and reticulum (%)

| Particles were found:                     | Applied to the ventral sac |                   | Applied to the anterior blind sac |                   | Applied to the reticulum |                   |
|---|----------------------------|-------------------|-----------------------------------|-------------------|--------------------------|-------------------|
|   | 8/8                        | 12/12             | 8/8                               | 12/12             | 8/8                      | 12/12             |
| In forestomachs after 8 days <sup>1</sup> | 51.0 <sup>a</sup>          | 73.3 <sup>b</sup> | 14.7 <sup>a</sup>                 | 32.0 <sup>b</sup> | 15.3 <sup>a</sup>        | 30.6 <sup>b</sup> |
| Regurgitated during 8 days                | 2.0 <sup>a</sup>           | 8.0 <sup>b</sup>  | 1.7 <sup>a</sup>                  | 11.7 <sup>b</sup> | 0.0                      | 8.3               |
| In faeces during 8 days                   | 25.0 <sup>a</sup>          | 7.0 <sup>b</sup>  | 61.0 <sup>a</sup>                 | 42.3 <sup>b</sup> | 64.0 <sup>a</sup>        | 40.0 <sup>b</sup> |
| In faeces during following 24 days        | 21.3 <sup>a</sup>          | 10.7 <sup>b</sup> | 18.0                              | 12.0              | 18.3                     | 19.7              |
| Total recovery                            | 99.3                       | 99.0              | 95.4                              | 98.0              | 97.6                     | 98.6              |

<sup>1</sup>Almost all particles were found in the ventral sac

The values marked with different letters in the same row in the individual columns significantly differ ( $P < 0.05$ )

the reticulo-omasal orifice. Particle secretion reached the amount ranging from 0.3 (8/8 particles applied to anterior blind sac) to 2.4% (12/12 particles applied to reticulum). We can estimate that these particles were retained in omasum or in the following parts of the digestive tract. TMRT values of particles applied into the ventral sac were the highest, particles applied to the anterior blind sac and the reticulum showed similar values (131–133 h), except 12/12 particles, which showed 182 h TMRT. This higher value was probably caused by particles which increased recovery from 49.3 to 59.7% between the 16th and the 32th day.

All recovery values obtained in the trial are summarized in Table VI. Particles applied to the ventral sac were mostly found in the reticulo-rumen after 8 days, particles applied to the anterior blind sac and to the reticulum were found mostly in faeces. We can say again that the anterior blind sac and the reticulum showed similar values of recovery from forestomachs after 8 days and from faeces. The values of total recovery ranged between 95.4 and 99.3%.

Some of the articles describe stratification of particles in rumen (Evans *et al.*, 1973) and their movement in rumen (Wyburn, 1980), the transfer of large relatively heavy particles between reticulum and individual parts of rumen has not been described yet. Regarding our results we can agree with McBride *et al.* (1984)

that the reticulo-omasal orifice allows passage of particles about 10 mm large. Our results support the finding of Welch (1982), who reported that the size of reticulo-omasal orifice in cattle was larger than 20 mm, and the opinion of Deswyssen and Ellis (1990) that the threshold value of particle size cannot be measured in absolute terms because of the biological randomness in the passage of digesta particles. Regurgitation of spheres of 12.7 mm size and 1.34 g/cm<sup>3</sup> density in heifers was evaluated by Ehle and Stern (1986) with the resulting value of 15.5%, which is a result similar to our range of values of 8.0–11.7%. Lower recovery and increased TMRT found out in our work with larger particles is in agreement with findings of Campling and Freer (1962), Prigge *et al.* (1990) and Ehle and Stern (1986).

## CONCLUSIONS

The questions posed at the beginning of this article cannot be answered definitely but regarding our results we can conclude: 1) We can estimate that the threshold size of particles which can still escape the rumen is higher than the value presented in literature, in our case it was minimally 12 mm. 2) Our values suggest that the anterior blind sac and the reticulum perform similar roles in large, heavy particle passage regulation through

the reticulo-rumen and the particles pass through both of these parts relatively quickly. Particles were retained mostly in the bottom of the ventral sac. 3) In our case behind the reticulo-omasal orifice 10.7–21.3% particles were retained and these were excreted in the course of 9–32 days after application to the reticulo-rumen.

## REFERENCES

- Campling R. C., Freer M. (1962): The effect of specific gravity and size on the mean time of retention of inert particles in the alimentary tract of the cow. *Brit. J. Nutr.*, 16: 507–518.
- Czerkawski J. V. (1986): An introduction to rumen studies. Oxford, Pergamon Press. 236 p.
- Deswysen A. G., Ellis W. C. (1990): Fragmentation and ruminal escape of particles as related to variations in voluntary intake, chewing behavior and extent of digestion of potentially digestible NDF in heifers. *J. Anim. Sci.*, 68: 3871–3879.
- Ehle F. R., Stern M. D. (1986): Influence of particle size and density on particulate passage through alimentary tract of holstein heifers. *J. Dairy Sci.*, 69: 564–568.
- Evans E. W., Pearce G. R., Burnett J., Pillinger S. L. (1973): Changes in some physical characteristics of the digesta in the reticulo-rumen of cows fed once daily. *J. Brit. Nutr.*, 29: 357–376.
- King K. W., Moore W. E. C. (1957): Density and size as factors affecting passage rate of ingesta in the bovine and human digestive tracts. *J. Dairy Sci.*, 40: 528–536.
- Mambrini M., Peyraud J. L. (1997): Retention time of feed particles and liquids in the stomachs and intestines of dairy cows. Direct measurement and calculations based on faecal collection. *Rep. Nutr. Develop.*, 37: 427–442.
- McBride B. W., Milligan L. P., Turner B. V. (1984): Endoscopic observations of digesta transfer from the reticulo-rumen to omasum of cattle. *Can. J. Anim. Sci.*, 64, Supplement: 84–85.
- Moore J. A., Pond K. R., Poore M. H., Goodwin T. G. (1992): Influence of model and marker on digesta kinetic estimates for sheep. *J. Anim. Sci.*, 70: 3528–3540.
- Popesko P. (1962): Atlas topografickej anatomie hospodárskych zvierat. Diel II. Trup. Bratislava, SVPL. 205 p.
- Poppi D. P., Norton B. W. (1980): The validity of the critical size theory for particles leaving the rumen. *J. Agr. Sci.*, 94, 1980: 275–280.
- Prigge E. C., Stuthers B. A., Jacquemet N. A. (1990): Influence of forage diets on ruminal particle size, passage of digesta, feed intake and digestibility by steers. *J. Anim. Sci.*, 68: 4352–4360.
- Shaver R. D., Nytes A. J., Satter L. D., Jorgensen N. A. (1988): Influence of feed intake, forage physical form, and forage fiber content on particle size of masticated forage, ruminal digesta, and faeces of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 71: 1566.
- Stetter Neel, J. P., Prigge E. C., Townsend E. C. (1995): Influence of moisture content of forage on ruminal functional specific gravity and passage of digesta. *J. Anim. Sci.*, 73: 3094–3102.
- Thielemans M. F., Francois E., Bodart C., Thewis A. (1978): Mesure du transit gastro-intestinal chez le porc à l'aide des radiolanthanides. Comparaison avec le mouton. *Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys.*, 18 (2A): 237–243.
- Třináctý J., Svozil B., Šimek M. (1995): Digestibility evaluation of neutral sugars from hemicellulose of alfalfa hay by nylon capsule method. In: IVth Int. Symp. Nutrition of Herbivores, Clermont-Ferrand. *Ann. Zootech., Suppl.* 44: 189.
- Welch J. G. (1982): Rumination, particle size and passage from the rumen. *J. Anim. Sci.*, 54: 885–894.
- Wyburn R. S. (1980): The mixing and propulsion of the stomach contents of ruminants. In: Ruckebush Y., Thivend, P. (eds.): *Digestive Physiology and Metabolism in Ruminants*. Westport, CT, AVI: 35–51.

Received for publication on November 4, 1998

Accepted for publication on March 9, 1999

---

### Contact Address:

Dr. Ing. Jiří Třináctý, Výzkumný ústav výživy zvířat, s. r. o., 691 23 Pohořelice, Česká republika, tel.: 0626/42 45 41, fax: 0626/42 43 66

---

# EFFECTS OF SEX AND AGE UPON UTILIZATION OF ZINC IN CHICKENS\*

## VLIV POHLAVÍ A VĚKU NA VYUŽITÍ ZINKU U KUŘAT

J. Zelenka

Mendel University of Agriculture and Forestry, Faculty of Agronomy, Brno, Czech Republic

**ABSTRACT:** Effects of sex and age of chickens upon zinc utilization were investigated in an experiment with 128 chickens divided into 16 groups. Eight groups of chickens received in a practical type of feed mixture and drinking water 96 mg of Zn per 1 kg of consumed dry matter and eight groups received only 83 mg of Zn including 25 mg of zinc added as ZnO. During the growing period from Day 12 to Day 56, the experiment was divided into 15 three-day balance periods. For diets containing 96 and 83 mg of Zn, the average coefficients of retention, as determined in 120 balance experiments, were  $0.207 \pm 0.0137$  and  $0.206 \pm 0.0095$ , resp. Utilization of zinc from both diets decreased highly significantly ( $P < 0.01$ ) with the increasing age. In chickens fed a diet higher in Zn, the content of this element per 1 g of live body gain decreased with age and was in average  $38.6 \pm 2.59$   $\mu\text{g}$ . In the case of lower Zn diet, its content per unit of weight gain increased up to Day 36 and, thereafter, a gradual decrease could be observed; the average content was  $32.2 \pm 1.38$   $\mu\text{g}$ . The growth rate of the total amount of Zn in the organism was slightly lower than that of body weight. Allometric coefficients were  $0.95 \pm 0.033$  and  $0.97 \pm 0.008$  for chickens fed diets with 96 and 83 mg of Zn, respectively. The effect of sex on values under study was not significant.

**Keywords:** chickens; effect of sex; effect of age; utilization of zinc; allometry of growth

**ABSTRAKT:** Vliv pohlaví a věku kuřat na využití zinku jsme sledovali v pokusu se 128 kuřaty rozdělenými do 16 skupin. Kuřata v 8 skupinách přijímala v krmné směsi praktického typu a v pitné vodě 96 mg Zn na 1 kg spotřebované sušiny a v dalších 8 skupinách pouze 83 mg Zn, včetně 25 mg zinku přidávaného v ZnO. Experiment byl rozdělen do 15 třídních bilančních období od 12. do 56. dne života. Při obsahu 96 mg Zn byl průměrný koeficient retence, stanovený ve 120 bilancích,  $0,207 \pm 0,0137$  a při obsahu 83 mg  $0,206 \pm 0,0095$ . S přibývajícím věkem se využití zinku z obou diet vysoce průkazně ( $P < 0,01$ ) snižovalo. Obsah zinku v 1 g přírůstku živé hmotnosti se u kuřat krmných dietou s vyšším obsahem sledovaného prvku s věkem snižoval a byl v průměru  $38,6 \pm 2,59$   $\mu\text{g}$ . Při nižším obsahu zinku v dietě se jeho koncentrace v přírůstcích zvyšovala až do 36. dne a pak pozvolna klesala; průměrný obsah byl  $32,2 \pm 1,38$   $\mu\text{g}$ . Relativní rychlost růstu celkového množství Zn v organismu byla o něco nižší než rychlost růstu tělesné hmotnosti. Alometrické koeficienty pro kuřata krmná dietou s 96 mg Zn byly  $0,95 \pm 0,033$  a pro kuřata s příjmem 83 mg Zn  $0,97 \pm 0,008$ . Vliv pohlaví na sledované ukazatele byl neprůkazný.

**Klíčová slova:** kuřata; vliv pohlaví; vliv věku; retence zinku; alometrie růstu

### INTRODUCTION

The first conclusive evidence that zinc is an essential micronutrient for growth and development of higher animals was obtained in experiments with mouse by Bertrand and Bhattacharjee (1934 – cit. Luecke, 1965) and Todd *et al.* (1934). Essentiality of zinc in the nutrition of chickens was confirmed by O'Dell *et al.* (1958). Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins (O'Dell, 1992). Zinc-containing proteins are present in more than 160 enzymes among different species (Siegel, 1983 – cit. Kidd *et al.*, 1996).

The utilization of zinc of feedstuffs is not always constant when fed to the same type of animals and may be dependent on a number of factors.

Until now, relatively little attention has been paid to sexual dimorphism. In experiments by Sebastian *et al.* (1996) the differences in relative retention of zinc estimated in females and males were not significant. In experiments by Mohanna and Nys (1997) the concentrations of zinc in the whole broiler carcasses were not affected by sex of chickens but decreased from 11 to 40 days of age. Utilization of received Zn in the same time interval decreased, similarly like in experiment by Roberson and Edwards (1994) from 12 to 16 days.

In an experiment by Thiel and Weigand (1992) Zn retention, as percentage of intake, markedly decreased ( $P < 0.05$ ) with increment in zinc intake but final Zn content of the chicks increased. Yi *et al.* (1996) did not find any significant differences in percentage of Zn

\* This study was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Grant No. 6186/96).

retention by adding Zn to the diet. The amount of Zn retained in chicks significantly ( $P < 0.001$ ) increased.

The objective of our experiment was to determine if there is a sexual dimorphism in the utilization of this element and how the utilization of zinc from the feed mixture changes in the course of fattening of chicks. To evaluate the effect of age as exactly as possible, it is necessary to carry out a great number of estimations in very short time intervals during a longer period of life.

## MATERIAL AND METHODS

Effects of sex and age on utilization of zinc were investigated within 15 subsequent, three-day balance periods using Ross hybrid chickens during the growth period from the 12th to the 56th day of age.

At the age of 7 days, the sexed chicks were divided according to their body weight into 16 groups of 8 birds each. Eight groups of females and eight groups of males were kept in balance cages. Four groups of female and four groups of male chickens were fed a commercial broiler starter diet (BR 1) during the whole experimental period, while the remaining ones received BR 2, a practical type of finisher diet (Table I). Chromic oxide was added to the diet as an indicator. The mixture BR 1 contained 228 g crude protein per kg dry matter and the average content of AME<sub>n</sub>, estimated in 120 balance experiments, was 12.64 MJ/kg. The contents of crude protein and AME<sub>n</sub> per kg dry matter of BR 2 were 211 g

and 13.88 MJ, respectively. Both mixtures contained 25 mg of zinc added as zinc oxide. Drinking water contained 0.6–0.8 mg of zinc per litre. The pelleted feed was supplied *ad libitum*. Chickens fed BR 1 received in feed mixture and drinking water in average 96 mg of Zn per kg of consumed dry matter while birds fed BR 2 only 83 mg of Zn. The body weight of chickens was estimated at the end of each balance period.

Excreta were collected daily for each three-day balance period. The coefficients of utilization of zinc were estimated using the chromic oxide indicator method. When using this method, individual balance periods can follow sequentially without periods of starvation. The content of chromic oxide in feed and freeze-dried excreta was estimated iodometrically (Mandel *et al.*, 1960), and that of zinc spectrophotometrically.

The analysis of variance and regression of determined values were performed according to Snedecor and Cochran (1967).

For the expression of relation between zinc retained in the body and live body weight of chicken a power function was used (Brody, 1945)

$$Y = aX^b$$

where:  $Y$  – content of Zn in the body in  $\mu\text{g}$   
 $X$  – live body weight of chicken in g  
 $a$  – extrapolation of  $Y$  for  $X = 1$   
 $b$  – allometric coefficient, ratio of the percentage change in  $Y$  to the corresponding percentage change in  $X$

## RESULTS AND DISCUSSION

### I. Composition of the diets (g/kg)

| Ingredient                        | BR 1 | BR 2 |
|-----------------------------------|------|------|
| Maize meal                        | 400  | 560  |
| Wheat meal                        | 186  | 78   |
| Soybean meal                      | 256  | 200  |
| Fishmeal                          | 30   | 10   |
| Meat-and-bone meal                | 0    | 50   |
| Alfalfa meal                      | 30   | 30   |
| Dried skimmed milk                | 20   | 20   |
| Torula yeast                      | 20   | 10   |
| Blood flakes                      | 20   | 0    |
| Cereal germs                      | 15   | 0    |
| Added fat                         | 0    | 20   |
| Supplementary premix <sup>a</sup> | 10   | 10   |
| Mineral premix <sup>b</sup>       | 10   | 10   |
| Sodium chloride                   | 3    | 2    |

<sup>a</sup> The premix supplied the following (mg/kg diet): retinyl acetate, 3.44; cholecalciferol, 0.025; DL- $\alpha$ -tocopherol acetate, 10; menadione, 2; riboflavin, 3; hydroxycobalamin, 0.02; niacin, 10; pantothenic acid, 4; DL-methionine, 1000; ethoxyquin, 125; coccidiostat (Amprol Plus).

<sup>b</sup> The premix supplied the following per kg diet: ground limestone 6.7 g; calcium phosphate 1.7 g; steamed bone meal 1.5 g; copper 4 mg; iron 12 mg; zinc 25 mg; manganese 28 mg; iodine 0.4 mg

The average coefficients of utilization of zinc of mixture BR 1 estimated in females and males were  $0.232 \pm 0.0149$  (mean  $\pm$  standard error of the mean) and  $0.181 \pm 0.0219$ , respectively, and those of mixture BR 2 were  $0.202 \pm 0.0130$  and  $0.209 \pm 0.0141$  in females and males, resp. Analysis of variance showed that the effect of sex was insignificant ( $P > 0.05$ ), as in experiments by Sebastian *et al.* (1996). For diets containing 96 and 83 mg of zinc, the average coefficients of retention, when involving values measured in both sexes into the mean, were practically the same,  $0.207 \pm 0.0137$  and  $0.206 \pm 0.0095$ , respectively. Similar results were obtained by Yi *et al.* (1996). It means that  $19.9 \pm 1.32 \mu\text{g}$  (BR 1) and  $17.1 \pm 0.79 \mu\text{g}$  (BR 2) of zinc per each gram of consumed dry matter were retained in the organism. The difference was insignificant ( $P > 0.05$ ).

The effect of age was highly significant ( $P < 0.01$ ). The dependence of Zn utilization coefficients upon age of chickens in days was expressed by linear regression equations

$$Y = 0.360 - 0.00320 X; r = 0.362, P < 0.01 \text{ for females}$$

$$Y = 0.378 - 0.00608 X; r = 0.468, P < 0.01 \text{ for males}$$

$Y = 0.369 - 0.00464 X$ ;  $r = 0.401$ ,  $P < 0.01$  for both sexes  
and

$Y = 0.295 - 0.00266 X$ ;  $r = 0.346$ ,  $P < 0.01$  for females

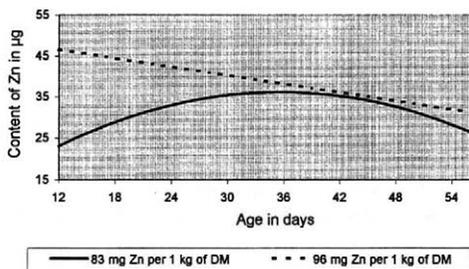
$Y = 0.283 - 0.00210 X$ ;  $r = 0.252$ ,  $P < 0.05$  for males

$Y = 0.289 - 0.00238 X$ ;  $r = 0.297$ ,  $P < 0.01$  for both sexes

for mixtures BR 1 and BR 2, respectively. Similarly like in experiments by Mohanna, Nys (1997) and Roberson, Hardy (1994), utilization of Zn decreased with the increasing age in all cases. Regression coefficients were significant ( $P < 0.05$ ) or highly significant ( $P < 0.01$ ). The deviation from linearity was not significant ( $P > 0.05$ ).

In chickens fed BR 1 and BR 2, the average contents of Zn per 1 g of live weight gain were  $38.6 \pm 2.59 \mu\text{g}$  and  $32.2 \pm 1.38 \mu\text{g}$ , respectively. The difference was significant ( $P < 0.05$ ). As in experiments by Thiel, Weigand (1992) and Yi *et al.* (1996), Zn content in chickens increased with the increasing intake of this element.

The influence of age manifested itself differently in these two diets (Fig. 1). The relationship between Zn



1. Content of Zn per 1 g of live weight gain

content ( $\mu\text{g}$ ) in weight gain and age (d) of chickens receiving a diet higher in this element, estimated in 120 balance experiments, was expressed by the straight line equation

$$Y = 50.7 - 0.347 X$$

The regression coefficient was significant ( $P < 0.05$ ), the deviation from linearity was not significant ( $P > 0.05$ ). Mohanna and Nys (1997) observed a similar decrease in chickens fed a mixture with high level of zinc. In the case of lower Zn diet, the regression was markedly non-linear. The reduction in the sum of squares of deviations tested against the mean square remaining after curvilinear regression by *F*-test (Snedecor, Cochran, 1967) was significant ( $P < 0.05$ ). The content per unit of weight gain changed according to the equation

$$Y = 6.3 + 1.676 X - 0.02350 X^2$$

The index of correlation ( $I_{YX}$ ) was 0.234 ( $P < 0.05$ ). The parabolic equation reached its maximum at the 36th day of age. This suggests that the organism adapted itself gradually to the utilization of Zn in dependence on a different supply of this element to satisfy Zn requirement.

Relations of total amount of zinc in the body ( $\mu\text{g}$ ) and body weight of chicken (g) were expressed by the equation for all chickens fed the mixture

$$\text{BR 1: } Y = 60.3 X^{0.937}; I_{YX} = 0.835, P < 0.01$$

$$\text{BR 2: } Y = 40.7 X^{0.963}; I_{YX} = 0.959, P < 0.01$$

The growth rate of the total amount of Zn in the organism was lower than that of body weight. The average allometric coefficients were  $0.95 \pm 0.033$  and  $0.97 \pm 0.008$  for eight groups of chickens fed diets with 96 and 83 mg of Zn, respectively.

## REFERENCES

- Brody S. (1945): Bioenergetics and Growth. 1st ed. New York, Reinhold Publishing Corporation. 1023 p.
- Kidd M. T., Ferket P. R., Qureshi M. A. (1996): Zinc metabolism with special reference to its role in immunity. *World Poultry Sci. J.*, 52: 309-324.
- Luecke R. W. (1965): The significance of zinc in nutrition. *Borden's Rev. Nutr. Res.*, 26 (4): 45-53.
- Mandel L., Turynek V., Trávníček J. (1960): Jodometrická metoda stanovení kysličníku chromitého, použitého jako indikátoru při pokusech stravitelnosti (An iodometric method of determination of chromic oxide, used as an indicator in digestibility trials). *Živoč. Vyr.*, 5: 645-652.
- Mohanna C., Nys Y. (1997): Excess zinc in manure of broiler chicks: decrease in zinc supplementation and use of phytase improve its retention in the carcasses. In: *Proc. the 11th European Symp. on Poultry Nutrition, Faaborg*: 459-461.
- O'Dell B. L. (1992): Zinc plays both structural and catalytic roles in metalloproteins. *Nutr. Rev.*, 50: 48-50.
- O'Dell B. L., Newberne P. M., Savage J. E. (1958): Significance of dietary zinc for the growing chicken. *J. Nutr.*, 65: 503.
- Roberson K. D., Edwards H. M. (1994): Effects of 1,25-dihydroxycholecalciferol and phytase on zinc utilization in broiler chicks. *Poult. Sci.*, 73: 1312-1326.
- Sebastian S., Touchburn S. P., Chavez E. R., Lague P. C. (1996): The effects of supplemental microbial phytase on the performance and utilization of dietary calcium, phosphorus, copper, and zinc in broiler chickens fed corn-soybean diets. *Poult. Sci.*, 75: 729-736.
- Snedecor G. W., Cochran W. G. (1967): *Statistical Methods*. 6th ed. Ames, The Iowa State University Press. 593 p.
- Thiel U., Weigand E. (1992): Influence of dietary zinc and microbial phytase supplementation on Zn retention and Zn

- excretion in broiler chicks. In: Proc. the 19th Worlds Poultry Congr., Amsterdam, Vol. 3: 460.
- Todd W. R., Elvehjem C. A., Hart E. B. (1934): Zinc in the nutrition of the mouse. *Am. J. Physiol.*, 107: 146-156.
- Yi Z., Kornegay E. T., Denbow D. M. (1996): Supplemental microbial phytase improves zinc utilization in broilers. *Poult. Sci.*, 75: 540-546.

Received for publication on September 21, 1998

Accepted for publication on March 9, 1999

---

*Contact Address:*

Prof. Ing. Jiří Z e l e n k a, CSc., Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, Ústav výživy a krmení hospodářských zvířat, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika, tel.: 05/45 13 31 59, fax: 05/45 13 31 99, e-mail: zelenka@mendelu.cz

---

# SHORT COMMUNICATION

## COLD-SHORTENING IN DIFFERENT OSTRICH MUSCLES

### CHLADOVÉ ZKRACOVÁNÍ JEDNOTLIVÝCH SVALŮ U PŠTROSÁ

J. Sales<sup>1</sup>, J. Horbanczuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *University of Stellenbosch, Faculty of Agricultural Sciences, Department of Animal Sciences, Matieland, South Africa*

<sup>2</sup> *Polish Academy of Sciences, Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzebiec, Mroków, Poland*

**ABSTRACT:** The state of contraction of ostrich muscles that were excised from the carcass within 30 minutes after bleeding and subjected to cooling temperatures of 0–4 °C for 12 hours was evaluated by measuring sarcomere lengths. It was found that only two muscles (*M. iliotibialis lateralis* and *M. iliofemoralis*) showed a high frequency of shortened (20–40%) sarcomeres. However, these muscles presented Warner-Bratzler shear-force values that were similar to other muscles. These results indicate the absence of cold-shortening in ostrich muscles despite removal of legs shortly after bleeding from the carcass.

**Keywords:** ostrich muscles; cold-shortening; sarcomere lengths

**ABSTRAKT:** Měřením délky sarkomer jsme hodnotili kontrakci svalů u pštrosa, které byly do 30 minut po vykvrvení vyříznuty z jatečného trupu a vystaveny chladicím teplotám 0–4 °C po dobu 12 hodin. Zjistili jsme, že pouze dva svaly (*M. iliotibialis lateralis* a *M. iliofemoralis*) vykazovaly vysokou frekvenci zkrácených sarkomer (20–40 %). Hodnoty Warner-Bratzlerovy střížné síly těchto svalů byly však obdobné jako u ostatních svalů. Tyto výsledky naznačují, že v pštrosích svalech nedochází ke zkracování vlivem chladu, a to i přesto, že končetiny byly od trupu odděleny v krátké době po vykvrvení.

**Klíčová slova:** pštrosí svaly; zkracování vlivem chladu; délka sarkomer

## INTRODUCTION

Muscles that are cooled below 15 °C while the pH is above 6.2 are still physiologically active. Temperatures below 15 °C activate the release of Ca<sup>2+</sup>-ions from the sarcotubular system. This activates contractile actomyosin ATP-ase that causes contraction. Ca<sup>2+</sup>-ions cannot be reabsorbed at low temperatures by the sarcoplasmic reticulum, thus the muscle goes into *rigor mortis* in a contracted state. This can cause a two- to three-fold increase in toughness of meat (Lawrie, 1991). Several researchers have determined the state of contraction of muscles by the measurement of sarcomere lengths. The sarcomere can be described as the functional ultrastructural unit of the myofibril. According to Dutson and Pearson (1985) 40% contraction occurs if sarcomeres are below 1.5 µm, 20–40% when 1.5–2.0 and less than 20% contraction if sarcomeres are longer than 2.0 µm. The relationship between cold-shortening and tenderness is non-linear. Toughness of cooked meat decreases as shortening increases from 40–60%, because

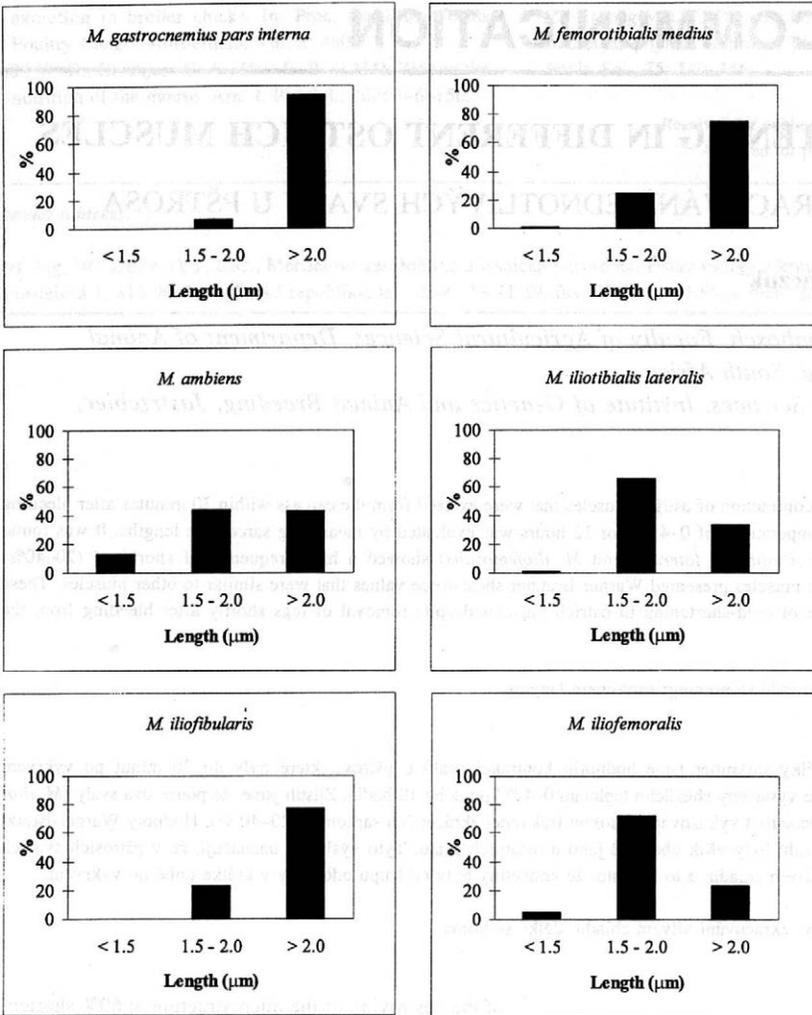
of the destroying of the microstructure at 60% shortening (Marsh, Leet, 1966).

Presently the slaughtering process of ostriches in South Africa comprises the removal of legs from the carcass within 30 minutes after slaughter and cooling of these legs at 0–4 °C for 12 hours (Sales, Oliver-Lyons, 1996). The present study was conducted to investigate the possibility of cold-shortening of muscles due to this practice.

## MATERIAL AND METHODS

Six different muscles from 39 ostriches slaughtered in the Oudtshoorn abattoir were used for the measurement of sarcomere length. Ostriches were in the age range of 8–14 months. Legs were removed in 30 minutes after killing and chilled for 12 hours at 0–4 °C before muscles were excised. Five gram samples from each muscle were cut into small pieces and homogenised at low speed in 30 ml of chilled 0.25 M sucrose

1. Frequency of contraction in sarcomeres of different ostrich muscles



solution for 60 seconds. The suspension was examined directly in a phase contrast microscope (10x ocular, 100x objective) and the mean sarcomere length of each muscle was determined as the average length of 100 sarcomeres. Warner-Bratzler shear force was determined after cooking of two steaks (2.5 cm thick) from each muscle, wrapped in a polyethylene bag for 50 minutes in a water bath maintained at 75 °C. Three cores from each steak were removed parallelly to the muscle fibres from the center portion of each steak, as reported by Sales (1996).

I. Warner-Bratzler (WB) shear force values (kg) of different ostrich muscles (means  $\pm$  standard errors; Sales, 1996)

| Muscle                               | WB shear-force (kg)           |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| <i>M. gastrocnemius pars interna</i> | 2.97 <sup>c</sup> $\pm$ 0.529 |
| <i>M. femorotibialis medius</i>      | 2.94 <sup>c</sup> $\pm$ 0.623 |
| <i>M. ambiens</i>                    | 3.67 <sup>b</sup> $\pm$ 1.195 |
| <i>M. iliotibialis lateralis</i>     | 3.46 <sup>b</sup> $\pm$ 0.936 |
| <i>M. iliofibularis</i>              | 4.44 <sup>a</sup> $\pm$ 0.988 |
| <i>M. iliofemoralis</i>              | 2.64 <sup>c</sup> $\pm$ 0.988 |

<sup>a,b,c</sup> Values in column with different superscripts differ ( $P < 0.05$ )

## RESULTS AND DISCUSSION

The frequencies (% of total) of sarcomeres in each contraction state in the different muscles are presented in Figure 1.

A high frequency of shortened (20–40%) sarcomeres was found in only the *M. iliotibialis lateralis* and *M. iliofemoralis*. This can be explained by the position of hanging of the carcass. Initially it is hung by

the feet and these muscles are not under stress. Thereafter the carcass is hung by the wings, thus still no stress on these muscles. Shortening is thus possible. However, Warner-Bratzler shear-force values (Table I) showed that these muscles were tender relatively to other muscles. The lowest Warner-Bratzler shear-force value (most tender) was presented by the *M. iliofemoralis*. Furthermore, no correlation, either linear or quadratic, was found between Warner-Bratzler shear-force and sarcomere length in any muscle, presenting further evidence that cold-shortening is absent in these muscles (Sales, 1994).

The conclusion is, in spite of semi-hot boning by removal of legs within 30 minutes after killing of ostriches, cold-shortening is absent.

## REFERENCES

Dutson T. R., Pearson A. M. (1985): Postmortem conditioning of meat. In: Pearson A. M., Dutson T. R. (eds.): Ad-

vances in Meat Research – Vol. 1. Electrical Stimulation. Connecticut, USA, AVI Publishing Company: 45–72.

Lawrie R. A. (1985): Meat Science. 5th ed. Oxford, UK, Pergamon Press.

Marsh B. B., Leet N. G. (1966): Studies in meat tenderness. III. The effects of cold-shortening on tenderness. *J. Food Sci.*, 31: 450–456.

Sales J. (1994): Identification and improvement of quality characteristics of ostrich meat. [PhD Dissertation.] University of Stellenbosch, South Africa (Afrikaans).

Sales J. (1996): Histological, biophysical, physical and chemical characteristics of different ostrich muscles. *J. Sci. Food Agric.*, 70: 109–114.

Sales J., Oliver-Lyons B. (1996): Ostrich meat: A review. *Food Austr.*, 48: 504–511.

Received for publication on September 29, 1998

Accepted for publication on March 9, 1999

---

### Contact Address:

Dr. James Sales, Department of Animal Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Stellenbosch, Private Bag X1, Matieland, 7602 South Africa, tel.: +27 21 808 4766, fax: +27 21 808 4750, e-mail: jsalez@hotmail.com

---

# 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

## VYUŽITÍ KAPILÁRNÍ ELEKTROFORÉZY V ANALÝZE KRMIV

### USE OF CAPILLARY ELECTROPHORESIS FOR FEED ANALYSIS

P. Blatný<sup>1</sup>, F. Kvasnička<sup>2</sup>

<sup>1</sup> *Spolana a.s., Qualified Chemistry Plant, Neratovice, Czech Republic*

<sup>2</sup> *Institute of Chemical Technology, Prague, Institute of Food Preservation and Meat Technology, Prague, Czech Republic*

**ABSTRACT:** Papers dealing with the methods of capillary electrophoresis (CE) used to determine substances important in farm animal nutrition are summarized in this review article. The substances are divided into three groups (natural ones, additives and extraneous matters). Papers presenting analyses of real samples of feed raw materials, intermediate products and end products are exclusively cited in the article. The principle of CE method is briefly described in an introductory section. The article draws from 100 literary sources.

**Keywords:** analysis; feed; electrophoresis; isotachopheresis; capillary, review

**ABSTRAKT:** Tento přehledový článek shrnuje práce týkající se použití metod kapilární elektroforézy (CE) pro stanovení látek významných ve výživě hospodářských zvířat. Látky jsou rozděleny do tří skupin (přirozené, aditivní a cizorodé). Výhradně jsou citovány práce týkající se analýz reálných vzorků krmivářských surovin, meziproductů a finálních výrobků. V úvodu je stručně popsán princip metod CE. Práce čerpá ze 100 literárních zdrojů.

**Klíčová slova:** analýza; krmivo; elektroforéza; izotachoforéza; kapilární; review

#### Úvod

Kapilární elektroforéza (Foret *et al.*, 1993) je dynamicky se rozvíjející oblastí analytické chemie. Je to analytická metoda, umožňující separace ionogenních látek i látek neionogenních. Mezi metody kapilární elektroforézy patří:

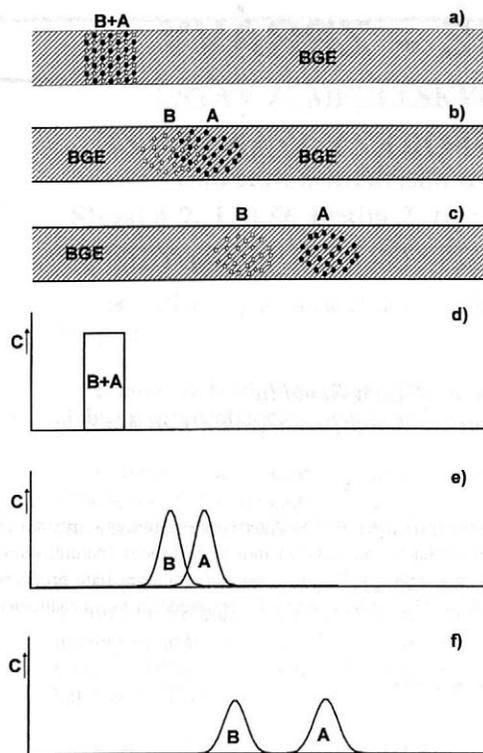
- kapilární zónová elektroforéza (CZE)
- kapilární izotachoforéza (CITP)
- kapilární gelová elektroforéza (CGE)
- kapilární izoelektrická fokusace CIEF)
- micelární elektrokinetická kapilární elektrochromatografie (MEKC)
- kapilární elektrochromatografie (CEC).

**Kapilární zónová elektroforéza** je principiálně nejjednodušší metodou (módem) kapilární elektroforézy. Separální kapilára je naplněna roztokem základního vzorku. Po nadávkování vzorku do kapiláry se na kapiláru vloží napětí. Jednotlivé složky roztoku, migrující různou rychlostí (úměrnou své efektivní pohyblivosti), se vydělí do zón, které jsou detegovány. Schéma separace a vývoje koncentračních profilů zón je na obr. 1.

Kapilární zónová elektroforéza umožňuje současnou separaci aniontů i kationtů. Neionogenní látky jsou unášeny elektroosmotickým tokem v zóně nástřiku, a tudíž se neseperují. Každá zóna obsahuje kromě složky ještě ionty základního elektrolytu (protion a koion), jejichž koncentrace je zpravidla o několik řádů vyšší než koncentrace vlastního iontu. Základní elektrolyt vede v podstatě všude elektrický proud procházející kapilárou. Měl by mít dostatečnou pufrální kapacitu, nízkou absorpci světla (při použití přímé UV detekce) a nízkou vodivost (z čehož pramení nízký vývoj Joulova tepla). Vodivost roztoku v kapiláře zůstává prakticky během celého separačního děje konstantní a tudíž i potenciálový spád se během separace nemění. Kritériem separovatelnosti dvou iontů je jejich relativní rozdíl efektivních pohyblivostí  $\bar{u}$ , definovaný jako

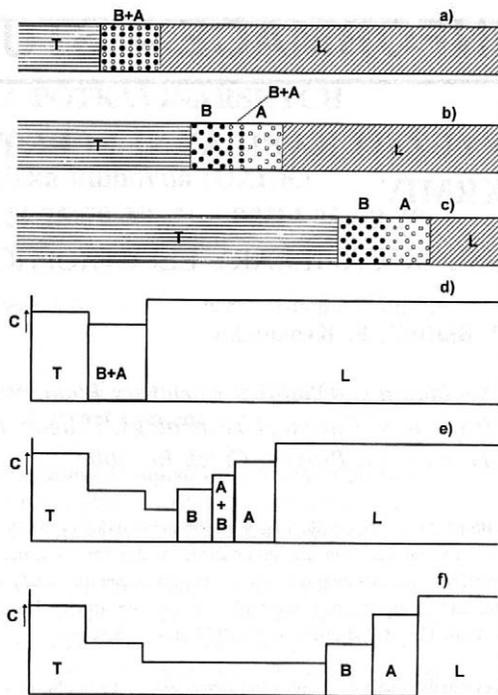
$$\Delta \bar{u}_r = \frac{\bar{u}_A - \bar{u}_B}{\bar{u}_A} = \frac{\Delta \bar{u}_{A,B}}{\bar{u}_A}$$

V **izotachoforéze** (Boček *et al.*, 1987) se používá systému dvou elektrolytů, tzv. vedoucí a koncový elek-



1. Schéma separace látek při zónové elektroforéze. (a)–(c) situace uvnitř kapiláry naplněné základním elektrolytem (BGE) a nadávkovanou směsí látek A a B. (d)–(f) koncentrační profily podél kapiláry (d) na začátku separace, (e) a (f) v průběhu separace. Převzato z literatury (Blatný, 1996) – Diagram of separation of substances by zone electrophoresis. (a)–(c) state inside a capillary filled with background electrolyte (BGE) and dosed mixture of substances A and B. (d)–(f) concentration profiles along the capillary (d) at the beginning of separation, (e) and (f) during separation. Taken over from literary sources (Blatný, 1996)

trolyt. Vedoucí elektrolyt obsahuje vedoucí ion (v aniontové analýze anion, v kationtové kation) a proton (v aniontové analýze kation, v kationtové anion). Vedoucí elektrolyt je zvolen tak, že efektivní pohyblivost vedoucího iontu je větší, než jsou efektivní pohyblivosti stanovených látek. Proton bývá zpravidla slabá báze (aniontový mód) nebo slabá kyselina (kationtový mód) a je zvolen tak, aby s vedoucím iontem tvořil tlumící směs (pufr) o daném pH. Koncový elektrolyt je zvolen tak, aby v ustáleném stavu platilo, že efektivní pohyblivost látek, které se budou separovat, leží mezi efektivními pohyblivostmi vedoucího a koncového iontu. Schéma principu separace látek v izotachoforéze je na obr. 2. Na začátku izotachoforetického experimentu se kapilára naplní vedoucím elektrolytem. Vzorek se nadávkuje do rozhraní mezi vedoucím a koncovým elektrolytem. Po vložení elektrického pole se všechny ionty v roztoku začnou pohybovat k příslušným elektrodám. Ze zóny vzorku (dále směšné zóny) se vyděluje rychlejší složka



2. Schéma izotachoforetické separace. (a)–(c) situace uvnitř kapiláry naplněné vedoucím elektrolytem L, koncovým elektrolytem T a vzorkem A+B nadávkovaným do rozhraní L–T. (d)–(f) koncentrační profily podél kapiláry, (d) na začátku separace, (e) před dosažením ustáleného stavu, (f) po dosažení ustáleného stavu. Převzato z literatury (Blatný, 1996) – Diagram of isotachopheric separation. (a)–(c) situation inside a capillary filled with leading electrolyte L, terminating electrolyte T and sample A+B dosed onto the boundary L–T. (d)–(f) concentration profiles along the capillary (d) at the beginning of separation, (e) before the steady state is reached, (f) after the steady state has been reached. Taken over from literary sources (Blatný, 1996)

(A) a za zadním rozhraním zóny vzorku se opožďuje pomalejší složka (B). V dalším průběhu separace se čisté zóny složek A i B prodlužují a zkracuje se směšná zóna. Po určité době dojde k úplnému rozdělení složek A i B a směšná zóna zcela zmizí. Tento stav, kdy mezi vedoucím a koncovým elektrolytem se nacházejí jen zóny čistých složek, se nazývá ustáleným stavem. V ustáleném stavu jsou zóny seřazeny podle svých klesajících efektivních pohyblivostí a pohybují se kapilárou stejnou rychlostí  $v$  (odtud název izotachoforéza). Matematicky se tato skutečnost dá vyjádřit jako

$$v = \bar{u}_L E_L = \bar{u}_A E_A = \bar{u}_B E_B = \bar{u}_T E_T$$

kde  $\bar{u}_x$  je efektivní pohyblivost látky  $x$ ,  $E_x$  potenciálový spád v zóně  $x$ . Rovnice je vyjádřením tzv. obecné izotachoforetické podmínky. Izotachoforetické zóny obsahují kromě protonu pouze ionty jediné látky. Koncentrace iontů ve svých zónách jsou určeny složením

vedoucího elektrolytu a jsou zcela nezávislé na původní koncentraci ve vzorku. Znamená to tedy, že koncentrované složky se naředí a zředěné se zakonzcentrují. Následující rovnice je nejčastěji používaným tvarem tzv. Kohlrauschovy regulační funkce pro ustálený stav:

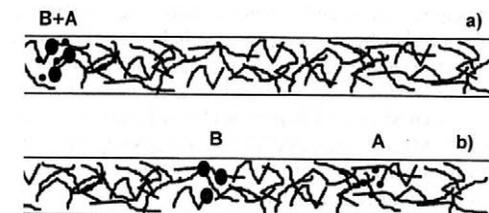
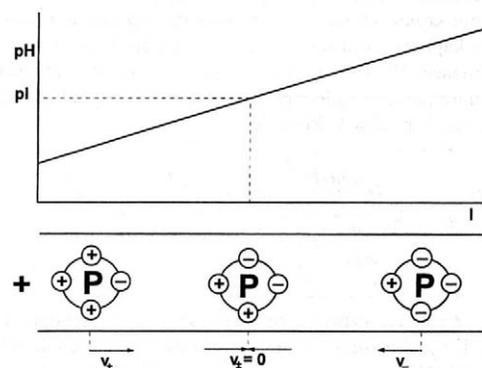
$$c_A = c_L \frac{u_L + u_R}{u_L} \frac{u_a}{u_A + u_L} \frac{|z_L|}{|z_A|}$$

kde  $c_x$  je koncentrace iontu  $x$  v ustáleném stavu,  $u_x$  aktuální pohyblivost iontu  $x$  a  $z_x$  nábojové číslo iontu  $x$ . Symboly  $A$ ,  $L$  a  $R$  se vztahují k analytu, vedoucímu iontu a protiiontu. Zóny jsou od sebe rozděleny ostrými rozhraními, na kterých dochází k tzv. samoazstručujícímu efektu. Na rozhraní mezi zónami dochází ke skokovým změnám koncentrací, což vede k difuzním tokům iontů ze své zóny do zóny sousední: Např. ion  $A$  (viz obr. 2) se ve své zóně pohybuje rychlostí  $v = E_A \bar{u}_A$ . Vnikne-li tento ion difuzí do zóny vedoucího elektrolytu ( $L$ ), sníží se jeho rychlost na  $v = E_L \bar{u}_A$  ( $E_L < E_A$ ) a ion se okamžitě vrátí do své zóny. Vnikne-li naopak ion  $A$  do následující zóny  $B$ , zvýší se jeho rychlost na  $v = E_B \bar{u}_A$  ( $E_A < E_B$ ) a ion se opět vrátí do své zóny. Od zóny k zóně se také mění skokem řada fyzikálně chemických vlastností (specifická vodivost, potenciálový spád, teplota, pH, efektivní pohyblivost iontu, součin celkové koncentrace iontu a jeho efektivního náboje, koncentrace protiiontu).

**Kapilární gelová elektroforéza** je vlastně kapilární zónovou elektroforézou ve vhodné gelové matici. Separacním principem této techniky kapilární elektroforézy je tedy migrace nabitých částic v prostřední molekularního síta vlivem vloženého potenciálového spádu. Princip metody je zřejmý z obr. 3. První práce publikované o kapilární gelové elektroforéze byly inspirovány klasickou gelovou elektroforézou, ve které probíhá separace ve struktuře v přírodě se vyskytujícího nebo uměle vyrobeného polymeru, který tvoří trojrozměrnou síť. Tyto systémy aplikované v kapilárním měřítku (Hjertén, 1983; Cohen, Karger, 1987) vykazovaly pro separace DNA enormně vysokou účinnost, přesahující v mnohých případech milion teoretických pater. Aplikace takovýchto 3D gelů (nejčastěji zesítený PAA) má

však několik závažných nevýhod. Především je to malá reprodukovatelnost přípravy gelem plněných kapilár a jejich poměrně krátká životnost. Použitá gelová matrice však nemusí mít strukturu rigidního gelu, nýbrž může mít i povahu roztoku lineárního polymeru. Pokud totiž koncentrace lineárních polymerů překročí určitou hranici (tzv. overlap threshold), dochází k vzájemné interakci řetězců lineárních polymerů a výsledná struktura umožňuje separovat molekuly podle velikosti, podobně jako zesítená rigidní struktura gelu (Kendler, Poppe, 1994). Výhodou těchto tzv. „entangled polymerů“ je především fakt, že s roztoky lineárních polymerů se manipuluje podobně jako s běžnými elektrolyty používanými v CZE, od kterých se liší pouze viskozitou. Jako lineární polymery se v CGE používají především lineární PAA a modifikované celulózy. Tento mód kapilární elektroforézy sluší k separaci makromolekul (proteinů, fragmentů nukleových kyselin). Makromolekuly od určité velikosti nelze totiž separovat pomocí volné zónové elektroforézy vzhledem ke konstantnosti poměru náboje a hmotnosti makromolekuly. Pro separace proteinů se většinou nepoužívají nativní proteiny, nýbrž jejich komplexy s SDS. Tyto komplexy eliminují rozdíly v efektivních nábojích závislých na pH a udílí proteinům konstantní poměr náboje ku hmotnosti. Separace takových komplexů je pak založena pouze na rozdílech ve velikosti molekul.

Principem kapilární **izoelektrické fokusace** (CIEF) (Ridgheiti, Gelfi, 1994) je separace amfolytů v pH gradientu na základě rozdílných hodnot jejich izoelektrických bodů (pI). Princip je schematicky vysvětlen na obr. 4. Vzorek (většinou protein) se aplikuje ve směsi se základním amfolytem, který obsahuje směs pokrývající spojitě kyselé, neutrální až zásadité amfolyty, jinými slovy pI hodnoty těchto amfolytů definují vytvořený



3. Schéma průběhu separace částic lišících se velikostí v CGE. (a) stav na počátku separace, (b) stav během separace. Převzato z literatury (Heiger, 1992) – Diagram of separation of particles of different size by CGE. (a) state at the beginning of separation, (b) state during separation. Taken over from literary sources (Heiger, 1992)

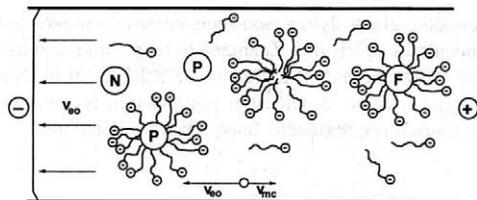
4. Schéma separace při izoelektrické fokusaci. Molekula proteinu (P) migruje v lineárním gradientu pH, až dosáhne polohy s nulovým celkovým nábojem, kde se zastaví. Převzato z literatury (Heiger, 1992) – Diagram of separation by isoelectric focusing. Protein molecule (P) migrates in linear gradient pH until it reaches the position with zero total charge where it stops. Taken over from literary sources (Heiger, 1992)

gradient pH v kapiláře. Touto směsí se naplní celá separační kapilára. V některých případech se vzorkem plní pouze část kapiláry. V elektrodoých nádobkách je na anodické straně kyselý roztok (nejčastěji kyselina fosforečná), zatímco na straně katodické roztok bazický (nejčastěji hydroxid sodný). Po aplikaci potenciálového spádu na kapiláru začnou kapilárou putující oxoniové a hydroxidové ionty reagovat s molekulami amfolytů a způsobí jejich migraci. Během migrace se snižuje efektivní pohyblivost (a tím i rychlost) amfolytů, protože neustále klesá celkový náboj amfolytu vlivem utvářejícího se gradientu pH, až amfolyt dosáhne v kapiláře místa, kde je jeho celkový náboj nulový, a dále se už nepohybuje. Po určité době dojde k ustavení ustáleného stavu, ve kterém všechny amfolyty dosáhnou polohy v kapiláře odpovídající jejich izoelektrickému bodu ( $pH = pI$ ). Ustálený stav se projeví poklesem proudu procházejícího kapilárou k nulové hodnotě. V tomto stavu není ovšem možné provést detekci – ta se provádí až po tzv. mobilizaci. Cílem mobilizace je průchod fokusovaných amfolytů detektorem. Lze toho dosáhnout např. aplikací tlaku, který vytlačí amfolyty ven z kapiláry přes detektor. Pokud to použít instrumentace dovolují, provádí se tato mobilizace za současné aplikace napětí na kapiláru, což zaručuje, že amfolyty zůstanou fokusovány a nedojde k případnému difuznímu rozmytí fokusovaných zón. Jiným způsobem je tzv. chemická mobilizace, která se může provádět dvěma způsoby. Záměnou báze v elektrodoých nádobkách za kyselinu nebo záměnou kyseliny v elektrolytové nádobce anody za bázi. Druhým způsobem chemické mobilizace je pak záměna jedné z elektrolytových nádobek za roztok soli (např. NaCl). Pokud se roztokem soli nahradí anolyt, probíhá mobilizace směrem k anodě a naopak. Celá metoda kapilární izoelektrické fokusace má tedy dvě fáze, a sice fázi vlastní fokusace a fázi detekce, která je v tomto případě vlastně synonymem mobilizace. Existují i postupy, kdy se celý proces provádí v jednom kroku. Jedná se o současné vložení napětí a tlaku na kapiláru, případně se využívá elektroosmotické mobilizace. Vzájemná separovatelnost dvou látek je dána minimálním rozdílem  $pI$  hodnot dvou amfolytů vedoucí k rozlišení  $R = 1$ . Platí, že

$$\Delta pI = 4 \left( \frac{D_i \frac{d(pH)}{dx}}{\left( \frac{du_i}{d(pH)} \right) E} \right)^{1/2}$$

Z rovnice vyplývá, že vysoké rozlišovací schopnosti CIEF je dosaženo minimalizací směrnice pH gradientu v kapiláře, aplikací vysokých potenciálových spádů na kapiláru, fokusací látek s nízkým difuzním koeficientem a velkou změnou pohyblivosti v okolí izoelektrického bodu ( $du_i/d(pH)$ ). Ve špičkových případech je možné rozlišit proteiny lišící se o 0,005  $pI$  jednotek.

**Micelární elektrokinetická kapilární chromatografie (MEKC)** je technika kombinující princip kapilární



5. Schéma separace neutrálních látek v micelární elektrokinetické kapilární chromatografii. N = neutrální látka neinteragující s micelou, P = neutrální látka distribuující se mezi micelární pseudostacionární fázi a základní elektrolyt, F = neutrální látka vyskytující se pouze v micelární fázi. Převzato z literatury (Heiger, 1992) – Diagram of separation of neutral substances by micellar electrokinetic capillary chromatography. N = neutral substance not interacting with micelle, P = neutral substance distributed between micellar pseudostationary phase and basic electrolyte, F = neutral substance occurring in micellar phase only. Taken over from literary sources (Heiger, 1992)

zónové elektroforézy a micelární kapalinové chromatografie. Ve své podstatě je to chromatografie s pohybující se pseudostacionární micelární fází a s elektroosmoticky pumpovanou mobilní fází. Schematicky je princip separace vysvětlen na obr. 5. MEKC používá základní elektrolyt s vhodnou povrchově aktivní látkou v koncentraci vyšší, než je tzv. kritická micelotvorná koncentrace (CMC). Povrchově aktivní látka se v koncentracích nižších než CMC chová jako normální elektrolyt. Po překročení určité mezní koncentrace (CMC) dojde však k prudké změně několika fyzikálních vlastností, jako jsou osmotický tlak, elektrická vodivost a povrchové napětí. Tyto změny jsou způsobeny tvorbou agregátů – micel. V hydrofilním (vodném) prostředí základního elektrolytu se orientují hydrofobní řetězce povrchově aktivních látek dovnitř micely, zatímco hydrofilní skupiny jsou orientovány vně do vodného prostředí. Micela určité povrchově aktivní látky je charakteristická počtem asociovaných molekul, kterému se říká agregační číslo. V takto vytvořené hydrofobní kavitě micely se mohou rozpouštět hydrofobní částice z analytu. Povrchově aktivní látka může být kationaktivní, anionaktivní nebo neionogenní. Aplikací potenciálového spádu na kapiláru dojde k migračnímu toku micel a k elektroosmotickému toku prostředí, který má zpravidla opačný směr a větší velikost. Výsledný separační princip je tedy složen z migrace částice ve volném roztoku a z distribuce částice mezi vlným roztokem a micelární pseudofází. Tento mód kapilární elektroforézy tedy umožňuje separovat i částice, které nenesou náboj, a zároveň je to mód kapilární elektroforézy, pro který je relevantní pojem retenční čas. Tak jako v chromatografii i v MEKC je definován pro analyzovanou složku její kapacitní faktor  $k'$  jako

$$k' = \frac{n_{mc}}{n_{aq}}$$

kde indexy látkových množství odpovídají micelární pseudofázi a vodné fázi základního elektrolytu. Kapacitní faktor tedy může nabývat hodnot od nuly do ne-

konečna. Nulová hodnota přísluší neutrálnímu analytu, který s micelární pseudofází neinteraguje, zatímco hodnota kapacitního faktoru nekonečno vyjadřuje skutečnost, že neutrální analyt je přítomen prakticky pouze v micelární pseudofázi. Retenční čas  $t_0$  látek s nulovým kapacitním faktorem je potom

$$t_0 = t_{e0} = \frac{L}{u_{e0} E}$$

zatímco retenční čas látky s kapacitním faktorem nekonečno je

$$t_{mc} = \frac{L}{(u_{e0} + u_{mc}) E}$$

přičemž v obou případech je  $L$  efektivní délkou kapiláry (déška od dávkovacího konce k detektoru),  $u_{e0}$  je elektroosmotická pohyblivost a  $u_{mc}$  je pohyblivost micel.

Retenční čas neutrální látky, která se distribuuje mezi obě fáze, je potom dán jako

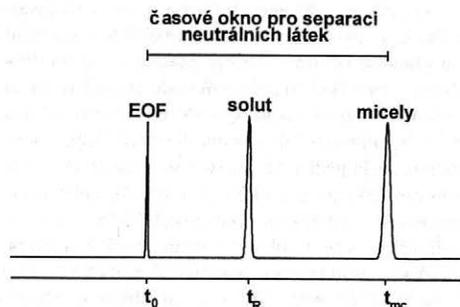
$$t_R = \frac{1 + k'}{1 + (t_0/t_{mc}) k'} t_0$$

Nadávkováním hydrofilního EOF markeru, který nebudou interagovat s micelou spolu s markerem, který bude totálně retardován, je tedy možné experimentálně zjistit časové okno (viz obr. 6), ve kterém se eluují neutrální látky.

Rozišení v MEKC je definováno vztahem

$$R_s = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left( \frac{a-1}{a} \right) \left( \frac{k_2'}{1+k_2'} \right) \left( \frac{1-t_0/t_{mc}}{1+(t_0/t_{mc})k_1'} \right)$$

kde symbol  $a$  je tzv. separační faktor daný poměrem kapacitních faktorů obou separandů. MEKC byla vyvinuta pro stanovení neutrálních látek kapilární elektroforezou. Pro iontové částice přináší MEKC další separační rozměr. Částice, které se pohybují samy



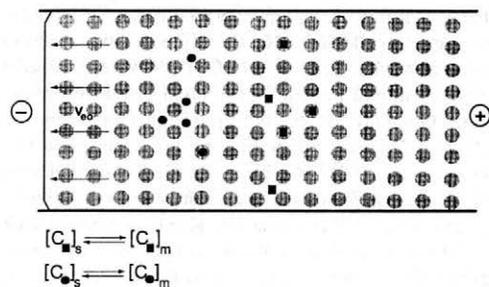
6. Schéma časového okna na elektroforegramu pro migraci neutrálních látek v MEKC. Převzato z literatury (Heiger, 1992) – Diagram of time blank in electrophoregram for migration of neutral substances in MEKC. Taken over from literary sources (Heiger, 1992)

v elektrickém poli, se mohou navíc ještě distribuovat mezi roztok základního elektrolytu a micely, čímž může být v řadě případů řešena separace látek, které se pouhou zónovou elektroforezou neseperují. Pokud tedy např. v MEKC s elektroosmotickým tokem ke katodě migrují i ionogenní látky, pak kationty mají migrační časy menší než  $t_0$  jako v klasické CZE, zatímco anionty s efektivní pohyblivostí menší než je pohyblivost micel migrují v separačním okně pro neutrální látky ( $t_0 < t_{an} < t_{mc}$ ). Anionty s efektivní pohyblivostí větší mají migrační časy větší než  $t_{mc}$ .

**Kapilární elektrochromatografie** (Knox, Grant, 1987, 1991) (CEC) je módem kapilární elektroforezy, který je svým principem nejbližší kapalinové chromatografii. Separační princip CEC je názorně vysvětlen na obr. 7. Jediný rozdíl ve srovnání s kapalinovou chromatografií spočívá ve způsobu, jakým se přes kolonu nechává protékat mobilní fáze. Zatímco v kapalinové chromatografii způsobuje tok mobilní fáze tlakový rozdíl (vyvolaný většinou chromatografickou pumpou), u kapilární elektrochromatografie je tok mobilní fáze vyvolán aplikací vysokého napětí na kapiláru a je tedy totožný s elektroosmotickým tokem. Separace látek je dána jejich rozdílnou distribucí mezi stacionární fází, kterou je naplněna kapilára, a fází mobilní. Elektrochromatografie má proti klasické kapalinové chromatografii tu výhodu, že elektroosmotický tok mobilní fáze má lineární rychlostní profil, což umožňuje dosahovat při separacích několikanásobně vyšších účinností. Použitím rozdílných náplní kapiláry je možné měnit selektivitu analyzovaných látek.

## APLIKACE METOD CE V ANALÝZE KRMIV

Aplikace CE nacházejí uplatnění především v biochemii, farmacii, v analýze životního prostředí a částečně i v analýze potravin. Analýza krmiv ještě donedávna nebyla typickou aplikační oblastí CE, nicméně v poslední době lze i v této oblasti sledovat nárůst publikací.



7. Schéma principu separace v kapilární elektrochromatografii. Látky se distribuují mezi stacionární fází (s), kterou je naplněna kapilára, a fází mobilní (m). Převzato z literatury (Blatný, 1996) – Diagram of the principle of separation by capillary electrochromatography. The substances are distributed between the stationary phase (s) the capillary is filled with and the mobile phase (m). Taken over from literary sources (Blatný, 1996)

Krmivem se nazývají látky rostlinného, živočišného nebo minerálního původu nebo jejich směsi, které v obvyklých dávkách nepůsobí škodlivě na zdraví hospodářských zvířat ani na kvalitu jejich produktů (maso, mléko, vejce apod.). Jsou to např. suroviny, kompletní a doplňkové krmné směsi, minerální nebo minerálně-vitaminové směsi, premixy anorganických a organických látek nebo látek se specifickými biologickými účinky. Z analytického hlediska představuje krmivo komplexní a značně heterogenní matici, což výrazně komplikuje analytické stanovení látek v něm obsažených. Pro přehlednost budou látky stanovené metodami kapilární elektroforézy rozděleny do třech hlavních skupin:

- přirozené látky v krmivech
- krmivářská aditiva
- cizorodé látky.

Na tomto místě je nutné připomenout, že citovány jsou výhradně práce, které popisují stanovení látek v reálné matici. Separace modelových směsí nejsou v této práci zmiňovány.

### Stanovení přirozených látek v krmivech

Za přirozenou látku v krmivech lze označit takovou látku, která je přirozenou součástí krmiva nebo jeho složky a jejíž přítomnost nezpůsobil nahodilý kontakt s prostředím, případně záměrné přidání do krmné směsi.

### Nutriční látky

Jako látky nutriční lze označit takové látky, jejichž obsah v krmivu je žádoucí z hlediska nutriční hodnoty krmiva. Kapilární izotachoforéza a kapilární zónová elektroforéza jsou metody založené na migraci nabitých částic vlivem vloženého stejnosměrného elektrického pole na kapiláru. Tento separační princip přímo předurčuje využití těchto metod pro stanovení kationických (K, Na, Ca, Mg) i anionických (chlorid, síran, fosforečnan) minerálních látek v extraktech či mineralizátech krmiv. Kapilární izotachoforéza byla použita ke stanovení alkálií (K, Na, Ca, Mg) v extraktech rostlinných materiálů. Zelenský *et al.* (1989) vyřešili separaci těchto kationtů použitím polyetylen glykolové pseudofáze. Obdobný systém byl aplikován i pro stanovení těchto kationtů v mineralizátech krmných směsí (Zelenská *et al.*, 1991). Kapilární izotachoforézou byl vedle zmíněných kationtů stanoven i amonný ion v silážích (Blatný *et al.*, 1997) a senážích. Kapilární zónovou elektroforézou s nepřímou UV detekcí byly stanoveny minerální látky v různých extraktech rostlin a potravin (Yang *et al.*, 1995; Harms, Schwedt, 1994).

Stanovení organických kyselin je považováno za hlavní aplikační oblast kapilární izotachoforézy. V analýze krmiv je tato metoda spjata zejména s analýzami kyselin v silážích. První publikovanou prací zabývající se touto problematikou byla práce autorů Boček *et al.* (1978). Jímí aplikovaný vedoucí elektrolyt s urotropinem jako

protiiontem se ovšem neukázal jako příliš vhodný pro tento účel. Pravděpodobně nejužívanějším elektrolytovým systémem pro tento účel je systém autorů Stránský a Dostál (1986), který umožňuje stanovovat s minimální předúpravou vzorku siláže jak těkavé mastné kyseliny, tak i některé další organické a anorganické kyseliny. Lutonská (1990) srovnáním s klasickou destilační metodou zjistila výrazně vyšší přesnost kapilární izotachoforézy pro stanovení kyseliny mléčné, octové a máselné v silážích. Kapilární zónovou elektroforézou byly stanoveny kyselina hippurová a orotová v syrovátku (Tienstra *et al.*, 1992).

Metodu stanovení dansylderivatů aminokyselin micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií v hydrolyzátech krmiv a kůži publikovali Michaelsen *et al.* (1994). Některé aminokyseliny se přidávají do krmiv za účelem zvýšení jejich nutriční hodnoty. Tyto metody budou zmíněny v části věnované stanovení krmivářských aditiv.

Poměrně významný počet prací je věnován separacím bílkovin kapilární elektroforézou. Bílkoviny syrovátky byly separovány ve fosfátovém pufru za nízkého pH (2,5) pomocí CZE (Otte *et al.*, 1994), případně jako SDS (dodecyl sulfát sodný) komplexu pomocí CGE v lineárním polymeru polyetylen glykolu (Cifuentes *et al.*, 1993). Byly publikovány i metody separace bílkovin syrovátky i kazeinu. Separace byly provedeny ve fosfátových (pH 6,0–9,0) (Chen Fu-Tai, Zang Ji-Hong, 1992) a borátových (pH 10,0) (Chen Fu-Tai, Tusak, 1994) pufrech. Za nízkého pH v kapilárách s hydrofilně upravenou stěnou kapiláry a aditivem (modifikované celulózy, PVA – polyvinylalkohol) v základním elektrolytu byly separovány mléčné (Jong *et al.*, 1993) i sójové bílkoviny (Kanning *et al.*, 1993). Ve třech posledně citovaných metodách obsahoval základní elektrolyt močovinu, která zabraňovala tvorbě micel u bílkovin kazeinu a umožňovala tím vzájemnou separaci bílkovin kazeinu. Metodu charakterizace sójových bílkovin a jejich enzymových hydrolyzátů vyvinuli Wong *et al.* (1994). Metoda byla navržena i pro monitorování průběhu enzymových hydrolyzátů sójových bílkovin. Kapilární elektroforéza byla také použita jako metoda k identifikaci a klasifikaci významných plodin. Byly publikovány metody, kdy srovnáním elektroforetických spekter bílkovin gliadinů lze určit odrůdy pšenice. Nierle (1988) publikoval izotachoforetickou metodu pro určování odrůd pšenice. Vzhledem ke špatné reprodukovatelnosti dané adsorpcí proteinů na stěnu teflonových kapilár však metoda nenašla přílišnou odezvu. Werner *et al.* (1994) použili pro separaci gliadinů jejich SDS komplexu, které separovali v laktátovém pufru (pH 2,3) v matici lineárního polymeru. Lookhart a Bean (1995) použili pro identifikaci odrůd pšenice separaci gliadinů ve fosfátovém pufru s blíže nespecifikovaným aditivem. Metodu pro identifikaci odrůd *Phaseolus vulgaris* publikovali Dinelli a Bonetti (1992).

Kapilární elektroforéze sacharidů byla věnována poměrně velká pozornost. Drtivá většina publikovaných prací (Oefner *et al.*, 1994) se ovšem věnuje spíše sepa-

rácím modelových směsí, derivatizací za účelem vnesení náboje, chromoforu nebo fluoroforu do molekuly sacharidů, případně aplikací amperometrické detekce (Colón *et al.*, 1993). Stanovení sacharidů kapilární elektroforézou totiž naráží na několik závažných problémů, z nichž asi nejzávažnější je velmi nízká koncentrační citlivost ve srovnání s kapalinovou chromatografií. Nicméně v případě komerční dostupnosti aparatur s amperometrickou detekcí lze očekávat i nárůst praktických aplikací. Metodou stanovení oligosacharidů v extraktech luštěnin vyvinula Soerensenova skupina (Arentoft *et al.*, 1993). Brewster a Fishman (1995) publikovali kapilárně elektroforetickou metodu stanovení škrobů jako komplexů s jodem a navrhli tuto metodu k charakterizaci rostlinných škrobů.

Stanovení lipidů není právě typickou oblastí aplikace kapilárně elektroforézy. V práci autorů Ingvarsen *et al.* (1994) jsou stanoveny fosfolipidy v sójových bobech a semenech řepky.

Stejně jako v předešlém případě, i u separací vitaminů kapilární elektroforézou se Nishi *et al.* (1989) a Jegle (1993) zabývali spíše modelovými separacemi než jejich stanovením v reálných vzorcích. Celková L-askorbová kyselina v zelenině (Thompson, Trenerry, 1995) byla stanovena micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií. Estery cholinu s aromatickými kyselinami byly stanoveny v semenech (Bjergegaard *et al.*, 1993) rostlin *Hesperis matronalis* a *Sinapis alba* micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií.

#### Antinutriční látky

Antinutričními látkami rozumíme složky krmiva, které jsou z hlediska výživy nežádoucí. Tyto látky mohou být samy o sobě toxické, případně svojí přítomností snižují využití nutričních látek v krmivech obsažených. Byly publikovány izotachoforetické metody stanovení šťavelové kyseliny v zelenině (Kikunaga, Takahashi, 1985) a fytové kyseliny v cereáliích (Kikunaga *et al.*, 1985) a krmivech (Blatný *et al.*, 1995). Posledně jmenovaná práce umožňuje na rozdíl od předchozí separovat fytovou (myo-inositol hexaafosforečnou) kyselinu od kyseliny myo-inositol pentaafosforečné.

Stanovení glukosinolátů tvoří poměrně rozsáhlou skupinu aplikací kapilární elektroforézy. První práci publikoval Klein (1981), který kapilární izotachoforézou stanovil glukosinoláty sinalbin a sinigrin v semenech *Sinapis alba*, *Brassica juncea* a *Brassica nigra*. Studium glukosinolátů se systematicky zabývala skupina prof. Soerense-na. Výsledkem tohoto výzkumu byly publikace týkající se optimalizací separačních podmínek micelární elektrokinetické kapilární chromatografie pro stanovení glukosinolátů v reálných vzorcích (Michaelsen *et al.*, 1992; Feldl *et al.*, 1994) i práce popisující absorpci a degradaci glukosinolátů v zažívacím traktu hlodavců, zjišťovanou pomocí HPLC a HPCE (Michaelsen *et al.*, 1994).

Micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií byly stanoveny Kunitzův inhibitor trypsinu a Bowmanův-Birkův inhibitor trypsinu a chymotrypsinu v sóji.

Metoda autorů Arentoft *et al.* (1993) umožňuje i studium komplexů proteáz s inhibitory.

V literatuře je možné nalézt poměrně významné množství kapilárně elektroforetických metod stanovení flavonoidních látek. Tyto látky jsou zde zařazeny mezi antinutričními látkami v důsledku své schopnosti inhibovat některé enzymy, případně vazbou na bílkoviny střevní stěny zhoršovat podmínky pro vstřebávání živin (Kalač, Míka, 1988). Nicméně u této skupiny látek nelze provést jejich jednoznačné zařazení mezi antinutriční látky, neboť existují i jejich prokazatelně pozitivní funkce. Jsou přirozenými antioxidanty a jejich vliv na pružnost a permeabilitu krevních kapilár opodstatňuje i jejich zařazení mezi vitaminy (Davídek *et al.*, 1983). Kapilární izotachoforéza (Seitz *et al.*, 1991) a kapilární zónová elektroforéza (Seitz *et al.*, 1992) byly použity pro stanovení některých flavonoidů a fenolických karboxylových kyselin v metanolických extraktech rostliny *Sambuci flos*. Záměrem těchto metod bylo stanovit tyto fenolické látky spíše s ohledem na využití ve farmaceutickém průmyslu. McGhie (1993) vypracoval metodu stanovení flavonoidů v cukrové třtině kapilární zónovou elektroforézou. Bjergegaard *et al.* (1993) publikovali metodu (MEKC) souběžného stanovení volných i glykosidicky vázaných derivátů flavonolu v extraktech vegetativních částí rostlin. Tito autoři publikovali i stanovení fenolických karboxylových kyselin micelární elektrokinetickou kapilární chromatografií v různých rostlinných materiálech (Bjergegaard *et al.*, 1992). Pietta *et al.* (1993) srovnávali HPLC a MEKC metodu stanovení glykosidů flavonolů v listech a květech lípy.

V rostlinách se vyskytují látky, které po přijetí do těla zvířete mohou vykazovat účinky podobné některým pohlavním hormonům (Kalač, Míka, 1988). Pomocí kapilární zónové elektroforézy byly stanoveny některé izoflavony a kumestrol (Shihabi *et al.*, 1994) v rostlinných extraktech. Izotachoforetickou metodu stanovení glykoalkaloidů brambor vypracovali Kvasnička *et al.* (1994). Metoda byla srovnána s HPLC.

Stanovení nebilkovinné aminokyseliny 3-(N-oxalyl)-L-2,3diaminopropionové v semenech hrachoru (*Lathyrus sativus*) kapilární zónovou elektroforézou publikovali Arentoft a Greirson (1995). Metoda umožňuje rozlišit neurotoxický  $\alpha$ -izomer od netoxického  $\beta$ -izomeru.

Kapilární izotachoforézou byly stanoveny některé biogenní aminy v siláži a v rybě a masokostní moučce (Kaňovská, 1991). Kapilární izotachoforéza byla použita i pro stanovení histaminu (Rubach *et al.*, 1981; Voldřich *et al.*, 1988) v rybách a v některých výrobcích z ryb.

#### Stanovení krmivářských aditiv

Krmiva jsou obohacována celou řadou specificky účinných látek, které ovlivňují užitkovost zvířat, využití krmiv, kvalitu živočišných produktů a celkovou odolnost zvířat. Mezi účinné látky řadíme stopové prvky, esenciální aminokyseliny, vitaminy a antivitaminy, an-

tioxidanty, emulgátory, enzymové přípravky, zchutňující látky, syntetické stimulatory růstu, hormonální přípravky, žloutková barviva, antibiotika, antikoagulanty, trankvilizační látky a probiotika.

Izotachoforetickou metodu stanovení metioninu v doplnčích biofaktorů, minerálních a vitamínových koncentracích a krmných směsích vyvinuli Kvasnička *et al.* (1990). Tito autoři publikovali i metodu stanovení volného a vázaného lyzinu v krmných směsích (Kvasnička *et al.*, 1986). Metodiku pro stanovení lyzinu v koncentráte vypracovali Madajová *et al.* (1985). Izotachoforetickou metodu stanovení 2-hydroxy-4-(methylthio)-butanové kyseliny v krmivech pro drůbež vyvinuli Vinjamoori a Schisla (1986). Křivánková a Boček (1985) publikovali metodu stanovení antikoagulantu amprolia v krmných směsích pomocí kapilární izotachoforézy a Křivánková *et al.* (1991) metodu stanovení antikoagulantu halofuginonu kombinací kapilární izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy. Stránský (1988) vyvinul izotachoforetickou metodu stanovení esenciálních složek cholinu, lyzinu, antioxidantu kurasanu v doplnčích biofaktorů. Metodou lze semikvantitativně stanovit i vitaminy B<sub>1</sub> a B<sub>6</sub>.

Dvojdímenzionální izotachoforézou byly stanoveny některé kyseliny, používané jako ochucovadla v krmivářských aditivách (Blatný *et al.*, 1996). Metoda umožňuje souběžné stanovení kyselin jablečné, fosforečné, mravenčí, citronové, mléčné, vinné, fumarové a benzoové.

### Stanovení cizorodých látek

Pod pojmem cizorodé látky se rozumí nežádoucí složky krmiva, které se do něho dostaly během jeho výroby, např. kontaktem krmiva nebo krmivářské suroviny se znečištěným prostředím.

Pomocí CITP byl stanoven fluorid v krmných směsích (Blatný, Kvasnička, 1994). Dále byla publikována metoda stanovení dusičnanů (Karovičová *et al.*, 1990), případně dusičnanů i dusitanů v zelenině kapilární izotachoforézou (Királyová *et al.*, 1992) a kapilární zónovou elektroforézou s nepřímou UV detekcí (Jimidar *et al.*, 1995).

Kapilárně izotachoforetickou metodu stanovení kationických herbicidů ve vodě publikoval Stránský (1985). Kapilární zónovou elektroforézou byly stanoveny rezidua herbicidů paraquat a diquat v bramborách (Wigfield *et al.*, 1993). Zatímco v posledně jmenované práci bylo nutné vzorek zakonzentrovat a přechistit extrakcí tuhou fází, pro stanovení těchto herbicidů ve vodě (Kaniansky *et al.*, 1994) byla použita kapilární zónová elektroforéza, kde jako předkoncentrační techniky byla použita kapilární izotachoforézy. Izotachoforetickou metodu stanovení některých triazinových herbicidů v mléku publikovali Křivánková *et al.* (1989). Kapilární zónová elektroforéza byla aplikována pro stanovení herbicidů metsulfuronu a chlorsulfuronu v pitné vodě (Dinelli *et al.*, 1993). Kapilární izotachoforéza umožňuje pouze separace ionogenních látek. Pro stanovení neionogen-

ních pyrethroidních insekticidů byly vyvinuty metody založené na izotachoforetických analýzách jejich ionogenních hydrolytických produktů (Dombek, 1991; Dombek, Stránský, 1991).

Maragos (1995) vyvinul metodu stanovení mykotoxinu fumonizinu B<sub>1</sub> kapilární zónovou elektroforézou. Pro detekci ultrastropových množství mykotoxinu derivatizovaného fluoresceinisothiokyanátem byla použita instrumentace s laserem indukovaným fluorescenčním detektorem. Jako krmivo se používá i odpadní produkt při výrobě cukru – melasa. Izotachoforetickou metodu stanovení organických kyselin, které jsou produktem mikrobiální činnosti v melase a cukerných šťávách, vypracovali Kvasnička *et al.* (1993). Pro stanovení reziduí chloramfenikolu v mléce byla vyvinuta metoda imunofluorescenční kapilární elektroforézy s laserem indukovanou fluorescenční detekcí (Blais *et al.*, 1994).

Stanovení iontů ve vodách je poměrně širokou aplikací oblastí metod kapilární elektroforézy. Na tomto místě budou citovány nejen práce zabývající se stanovením prokazatelně škodlivých kationtů a aniontů v pitných vodách, ale i metody stanovení aniontů a kationtů, které jsou obecně v potravinách a krmivech považovány za nutriční. Jejich zařazení mezi cizorodé látky je zvoleno spíše z toho důvodu, že obsah těchto iontů v pitných vodách je limitován normami a navíc řada metod je vypracována pro souběžná stanovení několika iontů, které z hlediska výživy mají rozdílné zařazení. Pro stanovení těžkých kovů ve vodách byla publikována izotachoforetická metoda (Everaerts *et al.*, 1985), umožňující stanovit vedle sebe několik těžkých kovů. Vzorek je před analýzou zakonzentrován extrakcí na tuhou fázi. Stopová množství železa ve vodě byla stanovena kombinací CITP-CZE (Blatný *et al.*, 1997) s UV detekcí při 254 nm. V práci bylo využito kineticky stabilního komplexu železa (III) s EDTA. Pro stanovení stopových koncentrací chromanu ve vodách byla vyvinuta izotachoforetická metoda (Zelenský *et al.*, 1987). Pro detekci izotachoforeticky zakonzentrovaného chromanu bylo použito poměrně selektivní spektrofotometrické detekce při 405 nm. Obdobný přístup byl zvolen i pro stanovení nitrofenolů v pitné vodě kapilární izotachoforézou (Kaniansky *et al.*, 1987).

Pro stanovení nižších mastných kyselin (C<sub>4</sub> až C<sub>10</sub>) v pitné vodě (Hutta *et al.*, 1989) byla vypracována metoda kapilární izotachoforézy. Mastné kyseliny z pitné vody byly zakonzentrovány na tuhou fázi a analyzovány v prostředí voda–metanol. Pro stanovení aniontů ve vodách byla vyvinuta metoda kapilární izotachoforézy (Zelenský *et al.*, 1984), využívající analyzátor v konfiguraci spojených kolon a umožňující stanovit v předseparační kapiláře makrosložky (chlorid, síran, dusičnan) a v analytické kapiláře mikrosložky (dusitan, fluorid, fosforečnan). Kapilární izotachoforéza je na Slovensku normovanou metodou pro stanovení aniontů a kationtů v pitných a povrchových vodách. Metody kapilární izotachoforézy pro stanovení aniontů jsou většinou založeny na chloridu jako vedoucím aniontu. To ovšem znamená, že pro stanovení koncentrace chloridu ve vo-

dě není tento systém příliš vhodný. Boček *et al.* (1977) publikovali metodu, ve které je jako vedoucí elektrolyt navržen dusičnan kademnatý. Při použití tohoto vedoucího elektrolytu je efektivní pohyblivost chloridu nižší než efektivní pohyblivost dusičnanu, a systém je tedy vhodný pro stanovení chloridu, síranu i fluoridu ve vodě. Pro souběžné stanovení chloridu, dusičnanu a síranu ve vodě navrhli Vacík a Muselasová (1985) vedoucí elektrolyt na bázi hydroxidu vápenatého. V práci je navržen i elektrolytový systém pro stanovení kationtů ve vodách. Anorganické anionty ve vodě byly stanoveny i kapilární zónovou elektroforézou (Gebauer *et al.*, 1983) v přístroji pro kapilární izotachofórezu s potenciálově gradientovou detekcí. Kaniánský *et al.* (1994) publikovali metodu stanovení aniontů ve vodách pomocí kombinace kapilární izotachofórezu a kapilární zónové elektroforézy. V izotachoforetickém kroku jsou stanoveny makrokomponenty (chlorid, dusičnan, síran), zatímco ve druhém stupni – kapilární zónové elektroforéze – jsou stanoveny mikrosložky vzorku (dusitan, fluorid, fosforečnan). Práce sama o sobě nemá jen praktický aplikační význam, ale ukazuje i možnost použití vodivostní detekce pro stanovení složek s relativně velkou efektivní pohyblivostí v prostředí základního elektrolytu s velmi nízkou efektivní pohyblivostí. Právě spojením CIP-CZE lze dosáhnout v těchto případech detekčních limitů mikrosložek řádu desetin  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  i za přítomnosti makrosložek v koncentracích o pět až šest řádů vyšších. Byla publikována i metoda stanovení aniontů ve vodách kapilární zónovou elektroforézou s nepřímou UV detekcí (Li, Li, 1994). Pro stanovení alkalických kovů a kovů alkalických zemin ve vodách byly publikovány jak izotachoforetické metody (Valášková *et al.*, 1988; Kaniánský *et al.*, 1990), tak i metody kapilární zónové elektroforézy (Morin *et al.*, 1994; Šimuničová *et al.*, 1994). Jelikož alkalické kovy a kovy alkalických zemin nemají chromofor, je nutné v metodách založených na kapilární zónové elektroforéze použít nepřímou UV detekci.

### Studium homogenity krmných směsí

Kapilární elektroforéza byla aplikována i pro studium homogenity krmných směsí. V tomto případě se provádí studium distribuce složky (většinou látky, která se do krmiva přidává) v celém souboru krmné směsi. Homogenita krmné směsi tak byla studována pomocí izotachoforetických stanovení specificky účinných látek (Lohninský, Prášil, 1990) lyzinu, metioninu a cholinu.

### LITERATURA

Arentoft A. M., Greirson B. N. (1995): Analysis of 3-(N-Oxalyl)-L-2,3-diaminopropanoic acid and its  $\alpha$ -isomer in grass pea (*Thauryrus sativus*) by capillary zone electrophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, **43**: 942–945.

Arentoft A. M., Michaelsen S., Soerensen H. (1993): Determination of oligosaccharides by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **652**: 517–524.

Arentoft A. M., Froekiaer H., Michaelsen S., Soerensen H., Soerensen S. (1993): High-performance capillary electrophoresis for the determination of trypsin and chymotrypsin inhibitors and their association with trypsin, chymotrypsin and monoclonal antibodies. *J. Chromatogr. A*, **652**: 189–198.

Bjergegaard C., Ingvarsden L., Soerensen H. (1993): Determination of aromatic choline esters by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. A*, **653**: 99–108.

Bjergegaard Ch., Michaelsen S., Soerensen H. (1992): Determination of phenolic carboxylic acids by micellar electrokinetic capillary chromatography and evaluation of factors affecting the method. *J. Chromatogr.*, **608**: 403–411.

Bjergegaard Ch., Michaelsen S., Mortensen K., Soerensen H. (1993): Determination of flavonoids by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. A*, **652**: 477–485.

Blais B. W., Cunningham A., Yamazaki H. (1994): A novel immunofluorescence capillary electrophoresis assay system for the determination of chloramfenicol in milk. *Food Agric. Immunol.*, **6**: 409–417.

Blatný P. (1996): Využití kapilární elektroforezy v analýze krmiv. [Disertační práce.] Praha. – Vysoká škola chemicko-technologická.

Blatný P., Kvasnička F. (1994): Determination of fluoride in feed mixtures by capillary isotachophoresis. *J. Chromatogr.*, **670**: 223–228.

Blatný P., Kvasnička F., Kenndler E. (1995): Determination of phytic acid in cereal grains, legumes and feeds by capillary isotachophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, **43**: 129–133.

Blatný P., Kvasnička F., Kenndler E. (1996): Determination of anionic feed additives by two-dimensional capillary isotachophoresis. *J. Chromatogr. A*, **737**: 255–262.

Blatný P., Kvasnička F., Kenndler E. (1997): Trace determination of iron in water on the ppb level by UV detection of the Fe(III)-EDTA complex with on-line coupling of capillary isotachophoresis and capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, **757**: 297–302.

Blatný P., Kvasnička F., Loučka R., Šafařová H. (1997): Determination of ammonium, calcium, magnesium and potassium in silage by capillary isotachophoresis. *J. Agric. Food Chem.*, **45**: 3554–3558.

Boček P., Deml M., Gebauer P., Dolník V. (1987): Analytická kapilární izotachofórezu. Pokroky chemie. Praha, Academia.

Boček P., Medziak I., Deml M., Janák J. (1977): Use of complex formation equilibria in the analytical isotachophoresis of strong electrolyte ions-separation of halides and sulphates. *J. Chromatogr.*, **137**: 83–91.

Boček P., Pavelka S., Grigelová K., Deml M., Janák J. (1978): Determination of lactic and acetic acids in silage extracts by analytical isotachophoresis. *J. Chromatogr.*, **154**: 356–359.

Brewster J. D., Fishman M. L. (1995): Capillary electrophoresis of plant starches as the iodine complexes. *J. Chromatogr. A*, **693**: 382–387.

Cifuentes A., Frutos M., Diez-Masa J. C. (1993): Analysis of whey proteins by capillary electrophoresis using buffer-containing polymeric additives. *J. Dairy Sci.*, **76**: 1870–1875.

- Cohen A., Karger B. L. (1987): High performance sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel capillary electrophoresis of peptides and proteins., *J Chromatogr.*, 397: 409–417.
- Colón L. A., Dadoo R., Zare R. N. (1993): Determination of carbohydrates by capillary zone electrophoresis with amperometric detection at a copper microelectrode. *Anal. Chem.*, 65: 476–481.
- Davídek J., Janíček G., Pokorný J. (1983): *Chemie potravin*. Praha, SNTL. 170 s.
- Dinelli G., Bonetti A. (1992): Capillary electrophoresis as an identification tool for *Phaseolus vulgaris* L. cultivars. *Seed Sci. Technol.*, 20: 241–248.
- Dinelli G., Vicari A., Catizone P. (1993): Use of capillary electrophoresis for detection of metsulfuron and chlor-sulfuron in tap water. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 742–746.
- Dombek V. (1991): Determination of permethrin and tetra-methrin by isotachophoretic analysis of hydrolytic products. *J. Chromatogr.*, 545: 427–435.
- Dombek V., Stránský Z. (1992): Determination of alphame-thrin and cypermethrin in water and soil by capillary isotachophoresis. *Anal. Chim. Acta*, 256: 69–73.
- Everaerts F. M., Verheggen Th. P. E. M., Reijenga J. C., Aben G. V. A., Gebauer P., Boček P. (1985): Determination of heavy metals by isotachophoresis. *J. Chromatogr.*, 320: 263–268.
- Feldl Ch., Moeller P., Otte J., Soerensen H. (1994): Micellar electrokinetic capillary chromatography for determination of indolyl glucosinolates and transformation product thereof. *Anal. Biochem.*, 217: 62–69.
- Foret F., Křivánková L., Boček P. (1993): Capillary zone electrophoresis (editor Radola B. J.). VCH, Weinheim, Spolková republika Německo.
- Gebauer P., Deml M., Boček P., Janák J. (1983): Determination of nitrate, chloride and sulphate in drinking water by capillary free-zone electrophoresis. *J. Chromatogr.*, 267: 455–457.
- Harms J., Schwedt G. (1994): Application of capillary electrophoresis in element speciation analysis of plant and food extracts. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 350: 93–97.
- Heiger D. N. (1992): High performance capillary electrophoresis – an introduction. *Firemní literatura Hewlett-Packard*.
- Hjertén S. (1983): High-performance electrophoresis: the electrophoretic counterpart of high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.*, 270: 1–6.
- Hutta M., Šimuničová E., Kaniansky D., Tkáčová J., Brtko J. (1989): Isotachophoretic determination of short-chain fatty acids in drinking water after solid-phase extraction with a carbonaceous sorbent. *J. Chromatogr.*, 470: 223–233.
- Chen Fu-Tai, Tusak A. (1994): Characterization of food proteins by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 685: 331–337.
- Chen Fu-Tai, Zang Ji-Hong (1992): Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *J. AOAC Int.*, 75: 905–909.
- Ingvarsdén L., Michaelsen S., Soerensen H. (1994): Analysis of individual phospholipids by high-performance capillary electrophoresis. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 71: 183–188.
- Jegle U. (1993): Separation of water-soluble vitamins via high-performance capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 652: 495–501.
- Jimidar M., Hartmann C., Cousement N., Massart D. L. (1995): Determination of nitrate and nitrite in vegetables by capillary electrophoresis with indirect detection. *J. Chromatogr. A*, 706: 479–492.
- Jong N., Visser S., Olieman C. (1993): Determination of milk proteins by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 652: 207–213.
- Kalač P., Míka V. (1988): Přírodní škodlivé látky v rostlinných krmivech a jejich vliv na zdraví a užitkovost hospodářských zvířat. České Budějovice, Výstavnictví zemědělství a výživy.
- Kaniansky D., Iványi F., Onuska I. (1994): On-line isotachophoretic sample pretreatment in ultratrace determination of paraquat and diquat in water by capillary zone electrophoresis. *Anal. Chem.*, 66: 1817–1824.
- Kaniansky D., Zelenský I., Hybenová A., Onuska F. I. (1994): Determination of chloride, nitrate, sulfate, nitrite, fluoride, and phosphate by on-line coupled capillary isotachophoresis-capillary zone electrophoresis with conductivity detection. *Anal. Chem.*, 66: 4258–4264.
- Kaniansky D., Zelenský I., Valášková I., Marák J., Zelenská V. (1990): Isotachophoretic separation of alkali and alkaline-earth metal cations in water-polyethylen glycol mixtures. *J. Chromatogr.*, 502: 143–153.
- Kaniansky D., Madajová V., Marák J., Šimuničová E., Zelenský I., Zelenská V. (1987): Photometric detection at 405 nm in trace analysis by capillary isotachophoresis. *J. Chromatogr.*, 390: 51–60.
- Kanning M., Casella M., Olieman C. (1993): Milk and soy proteins analysis using capillary zone electrophoresis. *LC GC Int.*, 6: 701–705.
- Kaňovská J. (1991): Použití ITP pro stanovení biogenních aminů a AMK. In: Sbor. 3. celostát. Konf. Izotachoforetické dni, Spišská Nová Ves: 11–13.
- Karovičová J., Polonský J., Drdák M., Příbela A. (1990): Determination of nitrates in vegetables by capillary isotachophoresis. *Nahrung*, 34: 765–767.
- Kendler E., Poppe H. (1994): Entangled, noncross-linked polymer solutions used as physical network in capillary zone electrophoresis. *J. Cap. Elec.*, 1 (2): 144–157.
- Kikunaga S., Takahashi M. (1985): Determination of oxalic acid in vegetables by isotachophoresis. *J. Jpn. Soc. Food Sci.*, 38: 123–128.
- Kikunaga S., Takahashi M., Huzisige H. (1985): Accurate and simple measurement of phytic acid contents in cereal grains. *Plant Cell Physiol.*, 26: 1323–1330.
- Királyová Z., Rajniaková A., Czocher T. (1992): Stanovenie dusičnanov a dusitanov v zelenině. *Aplikačný list č. 12*. Firemná literatura Villa-Labeco, Spišská Nová Ves.
- Klein H. (1981): Quantitative Bestimmung von p G-Hydroxybenzylglucosinolat (Sinalbin) und Allylglucosinolat (Sinigrin) in Samen von *Sinapis alba*, *Brassica juncea* und *Brassica nigra* mittels Isotachophorese. *Z. Acker Pflanzenbau*, 150: 249–355.
- Knox J. H., Grant I. H. (1987): Miniaturization in pressure and electroendosmotically driven liquid chromatography: some

- theoretical considerations. *Chromatographia*, 24: 135–143.
- Knox J. H., Grant I. H. (1991): Electrochromatography in packed tubes using 1.5 to 50  $\mu\text{m}$  gels and ODS bonded silica gels. *Chromatographia*, 32: 317–328.
- Křivánková L., Boček P. (1985): Stanovení amprolia v krmných směších kapilární izotachoforézou. *Biol. Chem. Vet.*, XXI: 143–151.
- Křivánková L., Foret F., Boček P. (1991): Determination of halofuginone in feedstuffs by the combination of capillary isotachopheresis and capillary zone electrophoresis in a column-switching system. *J. Chromatogr.*, 545: 307–313.
- Křivánková L., Boček P., Tekel J., Kovačičová J. (1989): Isotachopheretic determination of herbicides prometryne, desmetryne, terbutryne and hydroxyderivates of atrazine and simazine in extracts of milk. *Electrophoresis*, 10: 731–734.
- Kvasnička F., Šváchová-Tittelbachová E. (1990): Isotachoforetické stanovení volného methioninu v krmivech. *Biol. Chem. Vet.*, XXVI: 443–449.
- Kvasnička F., Parkin G., Harvey C. (1993): Capillary isotachopheresis as a new tool in sugar factory analysis. *Int. Sugar Jnl.*, 95: 451–456.
- Kvasnička F., Prášil T., Zbudilová D. (1986): Stanovení obsahu lysinu v krmných směších metodou kapilární izotachoforezy. *Biol. Chem. Vet.*, XXII: 471–478.
- Kvasnička F., Price K. R., Ng K., Fenwick G. R. (1994): Determination of potato glykoalkaloids using isotachopheresis and comparison with a HPLC method. *J. Liq. Chromatogr.*, 17: 1941–1951.
- Li K., Li S. F. Y. (1994): Determination of anions in water samples by capillary zone electrophoresis with indirect UV detection. *J. Liq. Chromatogr.*, 17: 3889–3910.
- Lohninský J., Prášil T. (1990): Ověření homogenity krmných směsí na obsah specificky účinných látek. [Etapová zpráva VÚ 0-061-03.] Pečky, VÚKPS.
- Lookhart G., Bean S. (1995): A fast method for wheat cultivar differentiation using capillary zone electrophoresis. *Cereal Chem.*, 72: 42–47.
- Lutonská P. (1990): Stanovenie obsahu karboxylových kyselín v silážach metódou kapilárnej izotachoforézy. *Agrochémia*, 30 (7): 218–221.
- Madajová V., Kaniansky D., Čižmarová E., Hudec M. (1985): Isotachopheretic determination of lysine in fermentation broth. *J. Chromatogr.* 320: 131–138.
- Maragos C. M. (1995): Capillary zone electrophoresis and HPLC for the analysis of fluorescein isothiocyanate-labeled fumonisin B<sub>1</sub>. *J. Agric. Food Chem.*, 43: 309–394.
- McGhie T. K. (1993): Analysis of sugarcane flavonoids by capillary zone electrophoresis. *J. Chromatogr.*, 634: 107–112.
- Michaelsen S., Moeller P., Soerensen H. (1992): Factors influencing the separation and quantitation of intact glucosinolates and desulphoglucosinolates by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr.*, 608: 363–374.
- Michaelsen S., Moeller P., Soerensen H. (1994): Analysis of dansyl amino acids in feedstuffs and skin by micellar electrokinetic capillary chromatography. *J. Chromatogr. A*, 680: 299–310.
- Michaelsen S., Otte J., Simonsen L. Q., Soerensen H. (1994): Absorption and degradation of individual glucosinolates in the digestive tract of rodents. *Acta Agric. Scand.*, 44: 25–37.
- Morin P., Francois C., Dreux M. (1994): Capillary electrophoresis of alkali and alkaline-earth cations with imidazole or benzylamine buffers. *J. Liq. Chromatogr.*, 17: 3869–3888.
- Nierle W. (1988): Möglichkeiten der isotachopherese in der Getreideanalytik. *Getreide Mehl Brot*, 42: 138–141.
- Nishi H., Tsumagari N., Kakimoto T. (1989): Separation of water-soluble vitamins by micellar electrokinetic chromatography. *J. Chromatogr.*, 465: 331–343.
- Oefner P., Chiesa C., Bonn G., Horváth C. (1994): Developments in capillary electrophoresis of carbohydrates. *J. Cap. Elec.*, 1: 5–26.
- Otte J., Kristiansen K. R., Zakora M., Qvist K. B. (1994): Separation of individual whey proteins and measurement of alpha-lactalbumin and beta-lactoglobulin by capillary zone electrophoresis. *Neth. Milk Dairy J.*, 48: 81–97.
- Pietta P., Mauri P., Bruno A., Zini L. (1993): High-performance liquid chromatography and micellar electrokinetic chromatography of flavonol glycosides from *Tilia*. *J. Chromatogr.*, 638: 357–361.
- Righetti P. G., Gelfi C. (1994): Isoelectric focusing in capillaries and slab gels: a comparison. *J. Cap. Elec.*, 1 (1): 27–35.
- Rubach K., Offizor P., Breyer Ch. (1981): Bestimmung von Histamin in Fisch und Fischkonserven mittels Capillar-Isotachopherese. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 172: 351–354.
- Seitz U., Bonn G., Oefner P., Popp M. (1991): Isotachopheretic analysis of flavonoids and phenolcarboxylic acids of relevance to phytopharmaceutical industry. *J. Chromatogr.*, 559: 499–504.
- Seitz U., Oefner P., Nathakarnkitkool S., Popp M., Bonn G. (1992): Capillary electrophoretic analysis of flavonoids. *Electrophoresis*, 13: 35–38.
- Shihabi Z. K., Kute T., Garcia L. L., Hinsdale M. (1994): Analysis of isoflavones by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 680: 181–185.
- Stránský Z. (1985): Isotachopheresis of cationic herbicides in waters and soils. *J. Chromatogr.*, 320: 219–231.
- Stránský Z. (1988): Soubor vybraných pracovních návodů k přístroji Agrofor. Firemní literatura JZD Odra Krmelin.
- Stránský Z., Dostál V. (1986): Analytická izotachoforéza v zemědělských laboratořích. [Skriptum.] Olomouc, Univerzita Palackého.
- Šimuničová E., Kaniansky D., Lokšíková K. (1986): Separation of alkali and alkaline earth metal and ammonium cations by capillary zone electrophoresis with indirect UV absorbance detection. *J. Chromatogr. A*, 665: 203–209.
- Thompson C. O., Trenerry V. C. (1995): A rapid method for the determination of total L-ascorbic acid in fruits and vegetables by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Chem.*, 53: 43–50.
- Tienstra P. A., van Riel J. A. M., Mingorance M. D., Olieman C. (1992): Assessment of the capabilities of capillary zone electrophoresis for the determination of hippuric and orotic acid in whey. *J. Chromatogr.*, 608: 357–361.

- Vacík J., Muselasová I. (1985): Isotachophoretic determination of anionic and cationic species in well and surface waters. *J. Chromatogr.*, 320: 199–203.
- Valášková I., Zelenský I., Zelenská V., Komarnicki A., Kaniansky D. (1988): (Hydroxyethyl)iminodiacetic acid in the isotachophoretic separation of alkali cations. *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.*, 53: 515–524.
- Vinjamoori D. V., Schisla R. M. (1986): Rapid method for the determination of 2-hydroxy-4-(methylthio)butanoic acid in poultry feeds by capillary isotachophoresis. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 69: 474–477.
- Voldřich M., Hrdlička J., Opatová H. (1988): Stanovení histaminu v rybách metodou kapilární izotachofórey. *Potr. Vědy*, 6: 99–103.
- Werner W. E., Wictorowicz J. E., Kasarda D. D. (1994): Wheat varietal identification by capillary electrophoresis of gliadin and high molecular weight glutenin subunits. *Cereal Chem.*, 71: 397–402.
- Wigfield Y. Y., McCormack K. A., Grant R. (1993): Simultaneous determination of residues of paraquat and diquat in potatoes using high - performance capillary electrophoresis with ultraviolet detection. *J. Agric. Food Chem.*, 41: 2315–2318.
- Wong T. M., Carey C. M., Lin S. H. C. (1994): Rapid characterization of soy protein hydrolysates by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 680: 413–417.
- Yang Q., Hartmann C., Smeyers-Verbeke J., Massart D. L. (1995): Method development and validation for the determination of mineral elements in food and botanical materials by capillary electrophoresis. *J. Chromatogr. A*, 717: 415–425.
- Zelenská V., Kaniansky D., Zelenský I., Polák M. (1991): Stanovenie alkalických kovov a kovov alkalických zemin v kŕmnych zmesiach metódou kapilárnej izotachofórey. In: *Sbor. 3. celostát. Konf. Izotachoforetické dni*, 38–39, Spišská Nová Ves.
- Zelenský I., Pešlová H., Kaniansky D. (1989): Možnosti stanovenia alkálií v rastlinnom materiáli metódou kapilárnej izotachofórey. *Agrochémia*, 29 (6): 160–163.
- Zelenský I., Zelenská V., Kaniansky D. (1987): Isotachophoretic determination of chromium(VI) at low parts per billion concentrations. *J. Chromatogr.*, 390: 111–120.
- Zelenský I., Zelenská V., Kaniansky D., Havaši P., Lednárová V. (1984): Determination of inorganic anions in river water by column-coupling isotachophoresis. *J. Chromatogr.*, 294: 317–327.

Došlo 18. 12. 1998

Přijato k publikování 9. 3. 1999

---

*Kontaktní adresa:*

Ing. František Kvasnička, Vysoká škola chemicko-technologická, Ústav konzervace potravin a technologie masa, Technická 1903, 166 28 Praha 6, Česká republika, tel.: 02/24 35 51 17, fax: 02/311 62 84, e-mail: kvasnicf@vscht.cz

---

## 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), his 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. Rukopis musí být doplněn 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 dvojitě 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 vědecký souhrn.

**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 nálezy.

**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 lektorovaných periodik. Citace se řadí abecedně podle jména prvních 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 PSC, číslo telefonu a faxu, popř. e-mail.

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

## CONTENTS

**Physiology and Reproduction**

- Nová V., Louda F.: Variations of body measurements as growth indicators in bullocks and heifers of Czech Pied and Limousin breeds and their crossbreds (in Czech)..... 241
- Janik K., Patkowska-Sokola B., Kiec W.: A histological study of greying of Wrzosówka lambs (in English) ..... 249
- Kolman H., Kolman R., Siwicki A. K.: Influence of bacterial antigens on specific and non-specific immune response in bester (*Huso huso* L. x *Acipenser ruthenus* L.) fry F<sub>3</sub> (in English) ..... 255

**Nutrition and Feeding**

- Třináctý J., Schmeiserová L., Suchý P.: Passage and retaining of plastic particles in digestive tract of dry cows (in English)..... 263
- Zelenka J.: Effects of sex and age upon utilization of zinc in chickens (in English) ..... 269

## SHORT COMMUNICATION

- Sales J., Horbanczuk J.: Cold-shortening in different ostrich muscles (in English)..... 273

## INFORMATION – STUDIES – REPORTS

- Blatný P., Kvasnička F.: Use of capillary electrophoresis for feed analysis (in Czech)..... 277

## OBSAH

**Fyziologie a reprodukce**

- Nová V., Louda F.: Změny hodnot tělesných rozměrů jako ukazatelů růstu býčků a jalovic plemen české strakaté a limousin a jejich kříženců ..... 241
- Janik K., Patkowska-Sokola B., Kiec V.: Histologická studie šednutí srsti u jehňat plemene Wrzosówka ..... 249
- Kolman H., Kolman R., Siwicki A. K.: Vliv bakteriálních antigenů na specifickou a nespecifickou reakci u plůdku bestěra, hybrida F<sub>3</sub> generace *Huso huso* L. x *Acipenser ruthenus* L. .... 255

**Výživa a krmení**

- Třináctý J., Schmeiserová L., Suchý P.: Pasáž a zdržení plastických částic v trávicím traktu zaprahých dojnic ..... 263
- Zelenka J.: Vliv pohlaví a věku na využití zinku u kuřat ..... 269

## KRÁTKÉ SDĚLENÍ

- Sales J., Horbanczuk J.: Chladové zkracování jednotlivých svalů u pštrosa ..... 273

## INFORMACE – STUDIE – ZPRÁVY

- Blatný P., Kvasnička F.: Využití kapilární elektroforézy v analýze krmiv ..... 277